

KVALITA SÚČASNÉHO A HISTORICKÉHO SLADOVNÍCKEHO JAČMEŇA THE QUALITY OLD AND NEW MALTING BARLEY

Michaela BENKOVÁ – Mária ŽÁKOVÁ

The objective was to assess and evaluate diversity of selected traits in the set of malting barley gene pool of Slovak, Czech and former Czechoslovak origin.. Evaluation was conducted in 26 genotypes grown or registered from the year 1900 up to now with a view to detect the variability the traits. The obtained data were analysed statistically using basic statistic characteristics, the analysis of variance (ANOVA) were provided for weight of 1000 grains, starch and content of protein.

Key words: malting barley, variation, ANOVA, škrob, bielkoviny

Úvod

Vývoj sladovníckeho jačmeňa na našom území prebiehal spôsobom zošľacht'ovania hanáckeho jačmeňa, ktorý patril k najlepším vôbec. Ako štandardy sladovníckej kvality v časovej postupnosti slúžili odrody, ktorých genealogickým predkom boli hanácke krajové populácie. Boli to najmä Prozkowetzův Haná pedigrée, Valtický, Slovenský kvalitný, Sladár a Rubín. Hanácky jačmeň teda ovplyvnil rozhodujúcim spôsobom šľachtenie a vývoj pestovania sladovníckeho jačmeňa v celej strednej Európe a zošľachtený domáci hanácky jačmeň sa zaraďoval k najlepším vôbec (LEKEŠ, 1997). Kvalita zrna jačmeňa je komplexná vlastnosť, geneticky podmienená, značne ovplyvnená agroekologickými podmienkami pestovania. O kvalite zrna rozhodujú hlavne znaky ako veľkosť a vyrovnanosť zrna a jeho chemické zloženie, to obsah proteínu a škrobu (Holková, 2003). Cieľom práce bolo porovnať vybrané znaky a vlastnosti sladovníckej kvality, a to hmotnosť 1000 semien, obsah bielkovín a škrobu na vzorke historického a súčasného genofondu sladovníckeho jačmeňa.

Materiál a metódy

Hodnotený materiál predstavuje 26 genotypov sladovníckeho jačmeňa jarnej formy československého, slovenského a českého pôvodu. Súbor genotypov predstavuje genotypy pestované, resp. povolené na našom území (bývalé Československo) od roku 1919 až po rok 2003. Sledované genotypy boli vysiate na experimentálnej báze Borovce v rokoch 2004 a 2005 v troch opakovaniach v znáhodnených blokoch od parceliek so zberovou plochou 2,5m².

Súbor sa hodnotil z hľadiska kvality, na základe agronomického znaku hmotnosť 1000 zŕn a na základe obsahových látok v zrne, a to obsah dusíka v % a obsah celkového škrobu v %. Obsah dusíkatých látok sa stanovoval Dumasovou metódou na prístroji CNS-2000 (LECO Corp.USA), následným prepočítaním koeficientom 6,25 a obsah celkového škrobu sa stanovoval polarimetricky podľa Ewersa (STN 461011-37).

Výsledky a diskusia

Pre analýzu súboru starších [1919–1967] a novších [1968–2003] genotypov, (tab. 1) sladovníckeho jačmeňa bol vybraný agronomický znak hmotnosť 1000 zŕn (HTZ), ako znak, ktorý ovplyvňuje kvalitu sladovníckeho jačmeňa. Je to znak stály, s vysokou heritabilitou, prejavuje sa tu aditívny charakter dedičnosti s úplnou, ale aj s neúplnou dominanciou (HRAŠKA, 1989). Tento znak je charakterizovaný ako najstabilnejší úrodotvorný prvok s najnižšou variabilitou v závislosti od vplyvu prostredia (HOLKOVÁ, 2003), čo potvrdzuje aj analýza rozptylu (tab. 2). Priemerná hmotnosť 1000 zŕn starších genotypov bola 38,51g a v novších 39,59 g. Zaujímavé je, ako vidieť na obrázku č. 1, že suchý ročník 2004 v porovnaní s rokom 2005 mal opačný nepreukazný vplyv na výšku HTZ pri starších a novších genotypoch. V suchom roku 2004 bola HTZ znížená pri starších sladovníckych genotypoch a zvýšená HTZ pri novších genotypoch. Niektoré novšie odrody ako Karat [1981], Rubín [1982], Sladko [1992] mali trend ako skupina starších odrôd a na druhej strane, staršie odrody ako Pudmerický pivovar [1948] a Branišovický výnosný [1959] reagovali ako novšie odrody. Okrem toho odrody Pudmerický pivovar [1948] a Branišovický výnosný [1959] mali hmotnosť 1000 zŕn porovnateľnú so súčasnými sladovníckymi jačmeňmi. Hoci celkový trend vývoja hmotnosti 1000 zŕn preukazuje mierny nerovnomerný nárast, niektoré staršie odrody dosahovali vyššiu HTZ v obidvoch ročníkoch, v porovnaní so súčasnými odrodami a dokonca odroda Slovenský kvalitný [1946] so svojou vysokou HTZ prevýšila všetky genotypy (obr. 1).

Obsah celkového škrobu je rozhodujúci pre tvorbu extraktu a je preto významným meradlom akosti jačmeňa. V sladovníckom jačmeni sa obsah škrobu v sušine zrna pohybuje okolo 63 - 65 % a nemal by byť nižší ako 60 % (PRUGAR, HRAŠKA 1989). Na obsah celkového škrobu nemal vplyv ročník, dokonca sa neprejavil ani vplyv genotypu. Historické odrody ako Hanácky Kargyn [1919] a Prozkowetzův Haná pedigrée [1919] mali v súčasných podmienkach a v sledovaných rokoch obsah škrobu nad 60 %.

Priemer obsahu celkového škrobu v starších (61,37%) a v novších (61,1%) genotypoch bol takmer identický, čo poukazuje na vysokú kvalitu starších sladovníckych odrôd, napriek tomu, že šľachtiteľské ciele za posledných 10 rokov sa zamerali na zlepšenie sladovníckej kvality. Medzi staršie odrody s najvyšším

obsahom celkového škrobu patrili Slovenský kvalitný [1946] – 63,79%, Hanácky Jubilejný [1938] – 63,01%, Valtický [1938] – 62,55% a Branišovický výnosný [1959] – 62,29 % (obr. 2) .

Obsah bielkovín je všeobecne uznávaný ako najdôležitejší ukazovateľ spracovateľskej hodnoty sladovníckeho jačmeňa (PRUGAR, HRAŠKA, 1989). Môže kolísať vo veľmi širokom rozpätí (7 až 18 % v sušine). Kvalitné sladovnícke jačmene by mali mať obsah bielkovín 9,5 – 10,8 % (SLEZIAK, 2000). V našom sledovanom súbore sa obsah bielkovín preukazne ($P < 0,05$) líšil v jednotlivých genotypoch. Vplyv ročníka bol štatisticky nepreukazný, aj keď obsah bielkovín v roku 2005 v porovnaní s rokom 2004 bol vyšší a poznamenal dokonca aj špičkové sladovnícke jačmene, napr. Denar, Diabas a Expres, v ktorých obsah bielkovín prevyšoval prípustnú hodnotu (obr. 3).

Tabuľka 1: Zoznam genotypov

Genotypy	Rok vzniku	Genotypy	Rok vzniku
Hanacky Kargyn	1919	Branisovicky vynosny	1959
Proskovcuv	1919	Sladar	1967
Zborovicky Kargyn	1919	Denar	1969
Stupicy Hanacky	1926	Diabas	1977
Pisarecky	1930	Karat	1981
Hanacky exportny	1935	Rubin	1982
Hanacky Moravan.	1936	Jubilant	1991
Hanacky jubilejny	1938	Akcent	1992
Valticky	1938	Sladko	1992
Zidlochovicky	1940	Kompakt	1995
Nitriansky Exportny	1946	Atribut	1996
Slovensky Kvalitny	1946	Expres	1999
Pudmericky pivovar	1948	Nitran	2003

Tabuľka 2: Analýza variancie sledovaných znakov

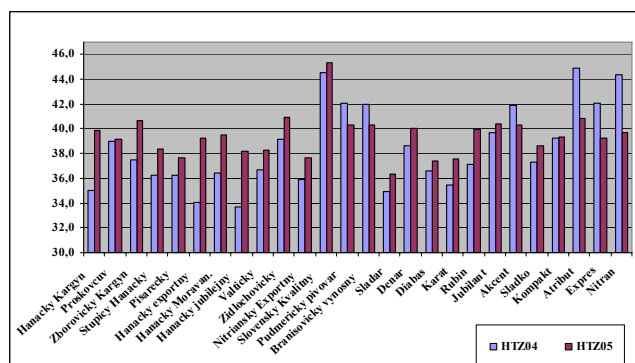
Zdroj premenlivosti	df ^a	HTZ		Škrob		Bielkoviny	
		MS	F	MS	F	MS	F
Genotyp	25	10,731	3,421**	6,057	1,935	3,298	2,035*
Rok	1	11,421	3,644	0,642	0,205	2,369	1,462
Reziduál	25	3,133		3,130		1,621	

* $P < 0,05$, ^a stupne voľnosti

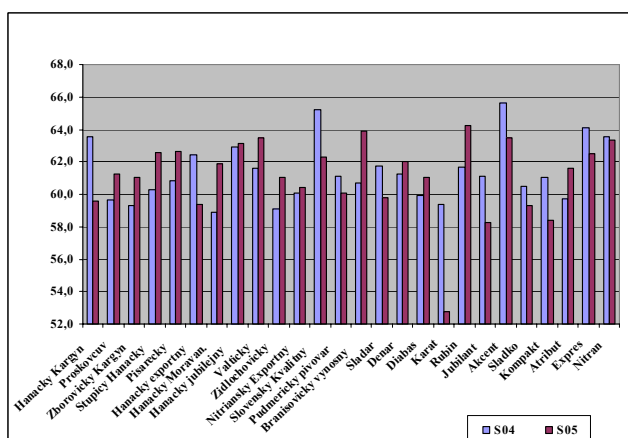
Je známe, že obsah bielkovín počas vývoja sladovníckeho jačmeňa mal klesajúcu tendenciu. Obsah bielkovín v zrne starších genotypov bol v priemere vyšší (12,45 %) ako v novších (11,48%) genotypov, tento rozdiel je štatisticky vysokopreukazný. Podobne ako pri obsahu škrobu aj pri obsahu bielkovín sa podpísal šľachtiteľský proces na znižovaní obsahu bielkovín pri sladovníckych jačmeňoch (GRAUSGRUBER, 2002).

Záver

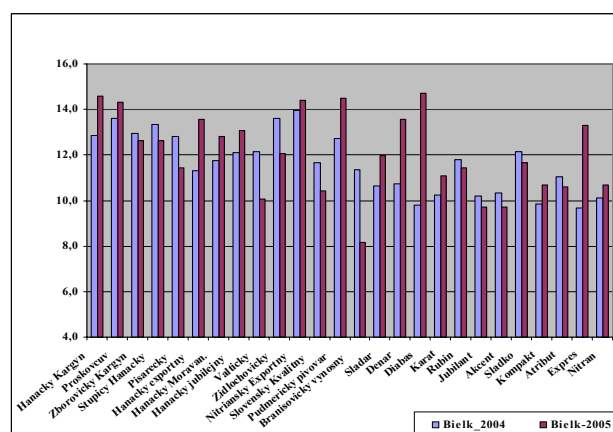
Analýzou súboru, ktorý zahŕňa historické a súčasné sladovnícke odrody sa potvrdzuje vysoký obsah škrobu v genotypoch sladovníckeho jačmeňa vzniknutého v minulosti pred viac ako 80 rokmi. Hoci celkový trend vývoja hmotnosti 1000 zŕn preukazuje mierny nerovnomerný nárast, niektoré staršie odrody dosahovali vyššiu HTZ v obidvoch ročníkoch v porovnaní so súčasnými odrodami. Analýza celkového škrobu poukázala na vysokú kvalitu starších sladovníckych odrôd. Záverom môžeme konštatovať že historický sortiment sladovníckeho jačmeňa aj po viac ako 80 rokoch nestratil svoju vynikajúcu sladovnícku kvalitu a môže byť naďalej významným zdrojom kvality aj v súčasnom šľachtiteľskom procese.



Obrázok 1: HTZ jednotlivých odrôd v rokoch 2004 a 2005



Obrázok 2: Celkový škrob jednotlivých odrôd v rokoch 2004 a 2005



Obrázok 3: Obsah bielkovín jednotlivých odrôd v rokoch 2004 a 2005

Literatúra

1. GRAUSGRUBER, H. – BOINTNER, H. – TUMPOLD, R. – RUCKENBAUER, P.: Genetic improvement of agronomic and qualitative traits of spring barley. In: *Plant Breeding*, 2002, vol.121, p. 411-416.
2. HOLKOVÁ, S.: Šľachtenie a semenárstvo jačmeňa. In: *Jačmeň, biológia, pestovanie, využívanie*. Nitra, 2003, s.51 – 71, ISBN 80-969068-2-8
3. HRAŠKA, Š. – BARTOŠ, P. – MARŠÁLEK, L.: Jačmeň (*Hordeum L.*). In: *Špeciálna genetika poľnohospodárskych rastlín*. Bratislava : Príroda, 1989, s. 34 – 40, ISBN – 80-07-00022-4
4. LEKEŠ, J.: Šlechtění obilovin na území Československa. *Plant Select*, Brázda 1997, Praha, s. 80. ISBN 80-209-0271-6.
5. SLEZIAK, L.: Súčasný stav a perspektívy šľachtenia jačmeňa na Slovensku. In: *Jačmeň výroba a zhodnotenie : Zborník z odborného seminára so zahraničnou účasťou*. Nitra : SPU, 2000, s. 16-18

Pod'akovanie

Táto práca bola podporovaná Agentúrou vedy a techniky prostredníctvom finančnej podpory č. APVT-27-028704 a projektom 2005 ÚO 27/050 0206/050 0206, získaným z MP SR.

Adresa autorov :

Ing. Michaela Benková, PhD, RNDr. Mária Žáková, CSc., SCPV – Výskumný ústav rastlinnej výroby, Piešťany, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, benkova@vurv.sk, zakova@vurv.sk

ODOLNOSŤ NOVOŠĽACHTENÝCH KMEŇOV PŠENICE LETNEJ VOČI VYBRANÝM OBLIGÁTNYM PATOGÉNOM RESISTANCE OF WHEAT BREEDING LINES TO SELECTED OBLIGATE PATHOGENS

Katarína BOJNANSKÁ – Štefan MASÁR – Jozef GUBIŠ

Resistance of 81 wheat breeding lines to powdery mildew and to leaf rust was observed in 2007. The evaluation was done at the field conditions. For each wheat breeding line the range of the attack of two selected obligate pathogens was observed by means of AUDPC values. Breeding lines were found that were significantly resistant in resistance only to powdery mildew or only to leaf rust when compared with the controls (Selected Slovak registered cultivars were chosen as controls.) But there were found breeding lines that were sufficiently resistance to both of the pathogens when compared with the controls too. These were V2 - 3/07, V2 - 4/07, V2 - 15/07, V2 - 16/07, V2 - 17/07, V2 - 36/07, V2 - 37/07, V2 - 38/07, PY 11-98-34-61-69, MS 1854-1, SK 129, SK 133, SK 135 and SK 136. Wide variability in resistance to powdery mildew and less variability in resistance to leaf rust was detected among individual genotypes.

Key words: wheat, powdery mildew, leaf rust, Blumeria graminis, Puccinia recondita, resistance

Úvod

Odolnosť hospodársky významných plodín voči abiotickým a biotickým stresom patrí medzi nevyhnutné vlastnosti pestovaných rastlín. Súbežne so šľachtením na kvalitu ruka v ruke ide šľachtenie na odolnosť voči patogénom, ktoré spôsobujú ochorenia rastlín. V procese tvorby nových genotypov je šľachtenie na odolnosť zamerané hlavne na tvorbu genotypov so špecifickou rezistenciou podmienenou jednotlivými génmi silného účinku. Nešpecifická rezistencia, ktorá je podmienená väčším počtom génov malého účinku je trvácnejšia a pre patogéna ťažšie prekonateľná. Detekcia tohto typu rezistencia je obtiažnejšia. Nešpecifická odolnosť sa najčastejšie vyhodnocuje v poľných podmienkach, kde jej prítomnosť v testovaných genotypoch signalizujú hodnoty nameraných epidemiologických parametrov (BROERS *et al.*, 1996; MASÁR *et al.*, 2003). V poľných podmienkach bola sledovaná odolnosť novošľachtených kmeňov voči obligátnym patogénom *Blumeria graminis* (DC) Speer f. sp. *tritici* Marchal (pôvodca múčnatky trávovej na pšenici) a *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici* (Ericks., & E. Henn) (pôvodca hrdze pšenicevej).

Materiál a metódy

V poľných podmienkach SCPV – VÚRV v Piešťanoch bolo v roku 2007 hodnotených 81 novošľachtených kmeňov (ďalej len kmene) pšenice letnej formy ozimnej (*Triticum aestivum* L.) pochádzajúcich z VŠS Vígľaš – Pstruša, z VŠS Malý Šariš a zo spoločnosti HORDEUM s.r.o. zo Sládkovičova. Odolnosť kmeňov bola porovnávaná voči kontrolným odrodám. V prirodzených poľných podmienkach bolo hodnotené napadnutie patogénmi percentom napadnutej plochy v dvoch opakovaníach v pravidelných časových intervaloch. Tieto hodnoty boli použité na stanovenie AUDPC (plochy napadnutia pod krivkou vývoja choroby) podľa SHANERA a FINNEYA (1977). Na analýzu variancie a následné štatistické spracovanie bol použitý štatistický program SPSS® (13.0).

Výsledky a diskusia

Vo vnútri všetkých troch súborov boli zistené veľké rozdiely v znaku odolnosť proti múčnatke trávovej a menšia variabilita bola zistená v znaku odolnosť voči hrdzi pšenicevej. Najširšia variabilita bola nájdená v znaku odolnosť voči múčnatke trávovej medzi kmeňmi z VŠS Vígľaš – Pstruša. Hodnoty napadnutia AUDPC múčnatky trávovej 38 kmeňov sa pohybovali v rozmedzí od 0 (V2 - 16/07) do 1889 (V2 - 22/07) a pre hrdzu pšenicevoj od 4 (V2 - 14/07) do 352 (V2 - 30/07). Kmene V2 - 13/07, V2 - 16/07, V2 - 18/07, V2 - 27/07 boli v porovnaní s kontrolnými odrodami (PS K1Bardotky, PS K2 Ilias, PS K3 Ilona, PS K4 Torysa, PS K5 Venistar) signifikantne odolnejšie voči múčnatke. Signifikantne odolnejšie voči kontrolným odrodám okrem PS K1 boli ešte kmene V2 - 3/07, V2 - 4/07, V2 - 10/07, V2 - 12/07, V2 - 14/07, V2 - 15/07, V2 - 16/07, V2 - 17/07, V2 - 18/07, V2 - 23/07, V2 - 27/07, V2 - 28/07, V2 - 36/07, V2 - 37/07. V znaku odolnosť voči hrdzi pšenicevej bola len veľmi malá variabilita. Nebol nájdený žiadny kmeň, ktorý by bol preukazne odolnejší, boli nájdené len preukazne náchylnejšie kmene (V2 - 29/07, V2 - 30/07, V2 - 31/07). Priama korelácia, ktorá bola zistená medzi sledovanými znakmi, bola signifikantne mierne významná ($r = 0,463^{**}$).

Medzi 31 kmeňmi z VŠS Malý Šariš bola veľká variabilita v oboch sledovaných znakoch. Kmeň K 1756-237-63 (AUDPC = 15) v porovnaní odolnosti voči múčnatke trávovej bol ku všetkým kontrolám (MS K1 Ilias, PS K2 Ilona, PS K3 Torysa, PS K4 Venistar) signifikantne najodolnejší. Medzi signifikantne odolnejšie kmene v porovnaní ku kontrolným odrodám okrem MS K1 patrili ešte K 1458-279-1, K 1860-120, K 1750-184-107, K 1750-184-115, K 1756-237-63, K 1756-237-79 a PY 11-98-34-61-69. Najnáchylnejšia zo súboru bola kontrolná odroda MS K4 Venistar (AUDPC = 1169) a z kmeňov to bol K 1458-6-108 (AUDPC = 672). Napriek pomerne širokej variabilite v znaku odolnosti voči hrdzi pšenicevej žiadny kmeň neprekonal odolnosť kontrolných odrôd MS K1 a MS K4. Signifikantne najodolnejší bol jedine kmeň K 1927-123 (odolnejší než MS K2 Ilona a MS K3 Torysa). Hodnoty AUDPC v znaku odolnosť voči hrdze

pšenicovej sa pohybovali v rozmedzí od 2 (K 1927-123) do 114 (K 1458-6-108). V tomto súbore kmeňov nebola zistená korelácia ($r = 0,060$) medzi znakmi odolnosť voči múčnatke trávovej a odolnosť voči hrdzi pšenicovej.

Medzi 12 kmeňmi zo spoločnosti HORDEUM s.r.o. bola v rovnakom rozsahu nájdená variabilita v rámci oboch sledovaných znakov. V odolnosti voči múčnatke trávovej ani jeden kmeň neprekonal kontrolné odrody (K1 Brea, K2 Ilona, K3 Torysa). Najodolnejšie kmene SK 131 (AUDPC = 284) a SK 133 boli signifikantne odolnejšie oproti kontrolám K1 a K2. Najnáchylnejší bol kmeň SK128 (AUDPC = 986). V znaku odolnosť voči hrdzi pšenicovej boli signifikantne najodolnejšie kmene SK 136 (AUDPC = 18) a SK 135 voči všetkým kontrolným odrodám. Kmene SK 126, SK 129, SK 130, SK 133 a SK 134 boli odolnejšie ako kontroly K1 a K2. Genotypy SK 129, SK 133, SK 135 a SK 136 boli signifikantne odolnejšie v oboch znakoch. Preukazne najnáchylnejší v porovnaní so všetkými kmeňmi a kontrolnými odrodami bol SK 127 (AUDPC = 350). Mierne významná korelácia ($r = 0,302$) medzi znakmi odolnosť voči múčnatke trávovej a odolnosť voči hrdze pšenicovej nebola signifikantná.

Široká variabilita v znakoch odolnosti voči múčnatke trávovej a hrdze pšenicovej poskytla základňu pre výber odolných genotypov. Boli nájdené kmene vysoko odolné až rezistentné k jednotlivým chorobám, ale aj kmene s vyhovujúcou odolnosťou voči obojom ochoreniam súčasne. Okrem už uvedených kmeňov zo spoločnosti HORDEUM s.r.o., z VŠS Vígľaš - Pstruša to boli V2 - 3/07, V2 - 4/07, V2 - 15/07, V2 - 16/07, V2 - 17/07, V2 - 36/07, V2 - 37/07 a V2 - 38/07. Z VŠS Malý Šariš to boli PY 11-98-34-61-69 a MS 1854-1. Tieto kmene boli signifikantne odolnejšie aspoň voči dvom - trom kontrolným odrodám.

Na základe výskumu PAILLARDA *et al.* (2000) je potrebné tvoriť odrody v podmienkach, pre ktoré budú novovzniknuté odrody určené, nakoľko prostredie v dlhšom časovom období ovplyvňuje vývin populácií rastlín. Ako môže dôjsť k prekonaniu špecifickej rezistencie rastlín, tak dochádza k zmenám aj v prejave nešpecifickej rezistencie. PAILLARD *et al.* (2000) zistili, že rovnaké východiskové populácie pšenice pestované na rôznych miestach v podmienkach rozličného infekčného tlaku patogéna počas desiatich rokov sa v konečnom dôsledku líšili v úrovni nešpecifickej rezistencie. Za podmienok vyššieho infekčného tlaku mala aj nešpecifická rezistencia vyššiu úroveň. Preto v procese tvorby nových odrôd je nevyhnutné hodnotiť a testovať nový materiál v našich podmienkach. Podobne JØRGENSEN *et al.* (2000) považujú skrining a testovanie nových materiálov a komerčných odrôd za dôležitý vstup pre tvorbu európskych rezistentných odrôd.

Záver

Medzi sledovanými novošľachtencami vo všetkých súborech boli nájdené genotypy veľmi odolné až rezistentné voči samostatným chorobám, ale boli nájdené aj genotypy s dostatočnou odolnosťou voči obojom sledovaným patogénom súčasne. Genotypy s vyhovujúcou odolnosťou voči obojom sledovaným znakom sú vhodné do kontinuálneho procesu tvorby nových odrôd dobre adaptovaných pre pestovateľské podmienky Slovenska.

Práca bola financovaná finančnými prostriedkami štátnej úlohy výskumu a vývoja 2006 UO 27/091 05 01/091 05 11 "Biologické faktory podmieňujúce efektívnu a konkurencieschopnú rastlinnú výrobu".

Literatúra

1. JØRGENSEN, J.H. - BECH, C. - JENSEN J. : Reaction of European spring barley varieties to a population of the net blotch fungus. *Plant Breeding*, 119, 2000, 43-46 s.
2. BROERS, L.H.M. - SUBIAS, C.X. - ATILANO, L.R.M. :Field assessment of quantitative resistance to yellow rust in ten spring bread wheat cultivars. *Euphytica* 90, 1996, 9-16 s.
3. MASÁR, Š. : Integrácia biochemických postupov so šľachtením rastlín. Správa za riešenie účelovej činnosti MPSR v roku 2002, Piešťany, 2003.
4. PAILLARD, S. - GOLDRINGER, I. - ENJALBERT, J. - DOUSSILNAULT, G. - DE VALLAVIEILLE-POPE, C. - BRABANT, P. : Evolution of resistance against powdery mildew in winter wheat populations conducted under dynamic management. II. Adult plant resistance. *TAG*, 101, 2002, 457-462.
5. SHANER, G. - FINNEY, R.E. : The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology*, 97, 1977, 1051-1056 s.

Adresa autorov:

Ing. Katarína Bojnanská; Ing. Štefan Masár, CSc.; Ing. Jozef Gubiš; SCPV – Výskumný ústav rastlinnej výroby, Oddelenie aplikovanej genetiky, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, e-mail: bojnanska@vurv.sk, masar@vurv.sk; gubis@vurv.sk

VYUŽITIE GENETICKÉHO POTENCIÁLU VYBRANÝCH ODRÔD JAČMEŇA JARNÉHO

UTILIZATION OF GENETICAL POTENTIAL OF SELECTED SPRING BARLEY VARIETIES

Eva CANDRÁKOVÁ

The experiment was established with 4 varieties of spring barley (Ebson, Malz, Nitran, Ezer) in beet growing region in 2005-2007. We studied the influence of Nitrogen fertilization (LAV, DAM 390) during vegetation season on formation of yield components, yield and selected parameters of grain technological quality.

The year, variety and fertilization have influenced significantly yield of grain. All varieties have achieved the highest yields in 2005. We also detected statistically significant interactions of year with variety and fertilization. Variety Nitran have reached the highest values of TGW, the lowest values of TGW was achieved by variety Ebson. Variety Ebson reached the highest number of grains per primary ear. Varieties Ebson and Maltz achieved more favourable values of volume weight than varieties Nitran and Ezer. The highest proportion of grain over sieve 2,5 mm was reached by variety Ezer in 2005 and 2006; by varieties Ebson and Malz in 2007.

Key words: spring barley, variety, fertilization, yield, quality

Úvod

Jačmeň jarný si udržiava druhé miesto v pestovaní obilnín na Slovensku. Produkcia v roku 2006 sa znížila o 97,5 tis. ton v porovnaní s predchádzajúcim pestovateľským obdobím a priemerná hektárová úroda poklesla o 0,14 t.ha⁻¹. V roku 2007 sa jačmeň zberal z výmery 198,6 tis. ha a odhadovaná úroda je 3,30 t.ha⁻¹, čo by bolo približne o 0,18 t.ha⁻¹ menej, ako v roku 2006 (MASAR, 2007).

Jačmeň siaty jarný sa využíva predovšetkým na výrobu sladu ale nezanedbateľná spotreba je aj na kŕmne účely pre potreby živočíšnej výroby. Časť sa spotrebuje v potravinárstve, osivárstve prípadne na iné účely. Pre jeho využitie je veľmi dôležitý výber odrôd, ktoré by mali byť pre pestovanie vybrané podľa plánovaného účelu využitia, aby bol naplno využitý ich genetický potenciál. Každá odroda má svoje špecifické vlastnosti, ktoré sa plne využijú ak je pestovaná vo vhodných podmienkach. Ako uvádza PSOTA (2000), odroda je nositeľom agronomických a technologických vlastností.

Okrem správneho výberu odrody, dôležitú úlohu zohrávajú intenzifikačné faktory, ktoré musia byť správne pri pestovaní jačmeňa siateho aplikované a využité. Citlivou oblasťou je najmä hnojenie z hľadiska termínu a dávok živín tak, aby sa dosiahla dobrá kvalita zrna jačmeňa. Jačmeň jarný reaguje veľmi citlivo na nedostatok živín počas vegetačného obdobia. Citlivosť na výživu a hnojenie spočíva v tom, že jačmeň jarný má menej vyvinutý a plytšie sa nachádzajúci koreňový systém a krátke obdobie výživy, počas ktorého musí prijať pomerne veľké množstvo živín (KUBINEC, KOVÁČ, 1998; LOŽEK, 2001). Ich nedostatok pôsobí na formovanie prvkov úrodnosti čo sa prejavuje na úrode zrna a jeho kvalite.

Najvýznamnejšou živinou pre jačmeň siaty jarný, využívaný na sladovnícke účely je dusík. FECENKO, LOŽEK (2000) odporúčajú použiť celú dávku dusíka pred sejbou a v prípade hnojenia počas vegetácie vo fáze 3 – 4 listov. V pokuse sme sa zamerali na aplikáciu dusíka počas vegetácie do konca odnožovania.

Materiál a metódy

Pokus bol založený v repárskej výrobní oblasti, na Vysokoškolskom poľnohospodárskom podniku závod Oponice, v rokoch 2005 a 2007. Nadmorská výška lokality je 168 m n. m., s úhrnom zrážok za rok 607 mm, priemernou ročnou teplotou vzduchu 9,5 °C. Pôdny typ je hnedozem na spraši, pôdny druh stredne ťažká, hlinitá pôda.

Maloparcelkové polyfaktorové pokusy boli založené blokovou metódou s náhodným usporiadaním pokusných členov v 3 opakovaníach po predplodine repe cukrovej hnojenej maštalným hnojom v dávke 35 t.ha⁻¹ bez zaorania pozberových zvyškov. Orba bola urobená do hĺbky 220 až 250 mm. Na jarnú prípravu pôdy bol použitý smyk a kompaktor. Veľkosť parceliek bola 14 m². Vysiate boli odrody Ebson, Malz, Nitran a Ezer s výsevom 4,5 mil. klíčivých zŕn na ha sejačkou Pnusej do hĺbky 40 mm pri medziradkovej vzdialenosti 125 mm. Z vyláteného zrna boli odobraté vzorky na zisťovanie technologických a kvalitatívnych ukazovateľov.

Varianty hnojenia:

1. nehnojená kontrola,
2. dávka dusíka 20 kg.ha⁻¹ (liadok amónny s vápencom) na začiatku odnožovania (BBCH 21),
3. dávka dusíka na hektár vypočítaná na predpokladanú úrodu 5 t (liadok amónny s vápencom) na začiatku odnožovania (BBCH 21),
4. dávka dusíka 20 kg.ha⁻¹ (DAM 390) na konci odnožovania (BBCH 29).

Pri hnojení variantov sme vychádzali z agrochemického rozboru pôdy, ktorý bol robený zo vzoriek pôdy odobraných pred sejbou a na začiatku odnožovania z hĺbky 0,30 a 0,60 m. Nakoľko zásoba fosforu a draslíka bola dostatočná, hnojenie týmito živinami sme nerobili.

Na 1 tonu úrody zrna a príslušného množstva slamy jačmeňa jarného sme počítali s potrebou dusíka 24 kg.ha⁻¹.

Odrody Ebson a Malz sú zo zahraničia. Odrody Nitran a Ezer pochádzajú z domáceho šľachtienia (Sládkovičovo). Sú zaradené medzi odrody so sladovníckou kvalitou. Môžu sa pestovať vo všetkých výrobných oblastiach.

Termín sejby: 2. 4. 2005, 7. 4. 2006, 16. 3. 2007
 Termín zberu: 24. 7. 2005, 27. 7. 2006, 17. 7. 2007

Výsledky a diskusia

Neoddeliteľnou súčasťou pestovania poľných plodín je pôsobenie klimatických, resp. poveternostných podmienok na produkčný proces, výsledkom ktorého je úroda biomasy a kvalita hlavného produktu. KRAUSKO a i. (1980) uvádza, že jačmeň je plastickou a skromnou plodinou, ktorá sa dobre prispôsobuje rozličným ekologickým podmienkam. Na základe našich skúseností patrí jačmeň jarný medzi plodiny, ktoré citlivo reagujú na agrotechnické opatrenia a poveternostné podmienky. Dôležitú úlohu má aj genetický základ jednotlivých odrôd, ktoré sa lepšie alebo horšie prispôsobujú konkrétnym podmienkam.

Z výsledkov získaných v pokusných rokoch 2005 až 2007 je viditeľná reakcia pestovaných odrôd na priebeh pestovateľských podmienok. Podmienky pre jačmeň boli v každom roku iné. Rok 2005 a 2006 bol charakterizovaný ako teplotne aj zrážkovo normálny (tab. 1 a 2).

Tabuľka 1: Priemerné teploty vzduchu (°C) a charakteristika rokov 2005 a 2006

Mesiac	Normál 1951- 1980	2005			2006		
		Teploty (°C)	Odchýlka	Charakteristika mesiaca	Teploty (°C)	Odchýlka	Charakteristika mesiaca
I.	-1,7	-0,1	1,6	normálny	-4,1	-2,4	studený
II.	0,5	-2,7	-3,2	studený	-1,6	-2,1	studený
III.	4,7	2,7	-2	studený	3,5	-1,2	normálny
IV.	10,1	11	0,9	normálny	11,4	1,3	teplý
V.	14,8	15,2	0,4	normálny	14,0	-0,8	normálny
VI.	18,3	18	-0,3	normálny	19,2	0,9	normálny
VII.	19,7	20,7	1	normálny	22,6	2,9	veľmi teplý
VIII.	19,2	19,1	-0,1	normálny	16,7	-2,5	studený
IX.	15,4	16,3	0,9	normálny	16,6	1,2	normálny
X.	10,1	10,5	0,4	normálny	12,2	2,1	veľmi teplý
XI.	4,9	4,1	-0,8	normálny	7,5	2,6	veľmi teplý
XII.	0,5	0,4	-0,1	normálny	3,2	2,7	veľmi teplý
Rok	9,7	9,6	-0,1	normálny	10,1	0,4	normálny

V roku 2006 však boli veľké disproporcie v množstve vlhky medzi mesiacmi počas vegetačného obdobia a z hľadiska teploty došlo k odchýlkam oproti normálu v mesiaci apríl a jún. To ovplyvnilo formovanie prvkov úrodnosti a v konečnom dôsledku aj úrodu hlavného produktu – zrna a jeho technologické parametre.

Rok 2007 sa vyznačoval nedostatkom vlhky v jarnom období. V pokuse po sejbě jačmeňa nastalo obdobie sucha, ktoré trvalo tri týždne. To sa prejavilo na nízkom počte odnoží pri všetkých skúmaných odrodách (tab. 5). Najväčší počet odnoží bol dosiahnutý v roku 2006 (tab. 4). ZIMOLKA et al. (2006) považuje za optimálny počet 2 – 3 odnože na jednej rastline a uvádza, že veľký podiel pri tvorbe odnoží má aj predplodina. V našom pokuse bola predplodinou repa cukrová, ktorá je považovaná za dobrú predplodinu.

Základom pre využitie úrodového potenciálu odrôd je zabezpečenie dostatočného počtu klasov na jednotku plochy, pretože úroda jačmeňa jarného sa odvíja predovšetkým od počtu klasov. Tie môžu byť ovplyvnené nekvalitným obrábaním pôdy a nedostatočnou zásobou živín v začiatočnom období rastu. Výsledky z rôznych pokusov poukazujú na skutočnosť, že na úrodu 8 – 9 t.ha⁻¹ je možné dosiahnuť pri počte klasov 800 – 1100 m². Pri vyššom počte klasov (nad 1000) je riziko, že dôjde k zníženiu podielu zrna nad sitom 2,5 mm a počet klasov nad 1100 môže spôsobiť aj zníženie úrody zrna (ZIMOLKA et al., 2006).

Najväčší počet klasov (1082), v priemere za všetky odrody, bol dosiahnutý v roku 2006, pričom najvyššia úroda bola zaznamenaná v roku 2005, čo potvrdilo skúsenosť autorov ZIMOLKA et al. (2006). Pri nižšom počte klasov v roku 2005 došlo k zvýšeniu počtu zŕn v hlavnom klase. V roku 2006 a 2007 bol počet zŕn v klase vyrovnaný.

Medzi prvky úrodnosti patrí aj hmotnosť tisíc zŕn (HTZ), ktorá je aj ukazovateľom technologickej kvality zrna. V priemere za všetky odrody bola najvyššia v roku 2007 (47,45 g), ale veľké rozdiely vo všetkých ročníkoch boli zistené medzi odrodami. Za skúmané obdobie dosiahla najvyššiu HTZ odroda Nitran a Ezer a v roku 2007 aj odroda Malz. Pivovary pri nákupe preferujú odrodu Ebson, ktorá mala vo všetkých rokoch najnižšiu HTZ. Odrody Ebson a Malz si vo všetkých rokoch udržali priaznivé hodnoty objemovej hmotnosti a podielu zrna nad sitom 2,4 mm. Najnižšia objemová hmotnosť zrna ako aj podiel zrna nad sitom 2,5 mm bola vo všetkých rokoch pri odrode Nitran. Odroda Ezer sa vyznačovala vysokým podielom zrna nad sitom 2,5 mm v roku 2005 a 2006.

Tabuľka 2: Úhrn zrážok (mm) a charakteristika rokov 2005 a 2006

Mesiac	Normál 1951- 1980	2005			2006		
		Zrážky (mm)	% n	Charakteristika mesiaca	Zrážky (mm)	% n	Charakteristika mesiaca
I.	31	36,4	117,4	normálny	57,4	185,16	veľmi vlhký
II.	32	58,3	182,2	veľmi vlhký	39,0	121,88	normálny
III.	33	3,4	10,3	mimoriadne suchý	35,2	106,67	normálny
IV.	43	78,7	183	veľmi vlhký	48,1	111,86	normálny
V.	55	60,9	110,7	normálny	95,6	173,82	veľmi vlhký
VI.	70	31,5	45	veľmi suchý	63,9	91,29	normálny
VII.	64	59	92,2	normálny	23,7	37,03	veľmi suchý
VIII.	58	94,5	162,9	veľmi vlhký	84	144,83	vlhký
IX.	37	47,1	127,3	vlhký	12,7	34,32	veľmi suchý
X.	41	12,1	29,5	veľmi suchý	15,3	37,32	veľmi suchý
XI.	54	43,2	80,0	normálny	24,4	45,19	veľmi suchý
XII.	43	113,2	263,3	mimoriadne vlhký	7,8	18,14	mimoriadne suchý
Rok	561	638,3	113,8	normálny	507,1	90,39	normálny

Tabuľka 3: Prvky úrodnosti a technologické parametre vybraných odrôd jačmeňa siateho jarného 2005

Vybrané ukazovatele	Odroda				
	Ebson	Malz	Nitran	Ezer	Priemer
Celkový počet rastlín (ks)	250	280	300	310	285
Počet produktívnych odnoží (ks)	1,91	1,94	1,97	1,77	1,90
Celkový počet klasov (ks)	619	718	824	780	735
Priem počet zŕn v hl. klase (ks)	24,56	22,77	21,88	21,06	22,57
Objemová hmotnosť (g.l ⁻¹)	670,5	663,7	635,2	657,3	656,7
HTZ (g)	42,95	44,38	48,00	51,23	46,64
Podiel zrna nad sitom 2,5 mm	96,7	96,3	96,2	98,6	96,9

Tabuľka 4: Prvky úrodnosti a technologické parametre vybraných odrôd jačmeňa siateho jarného 2006

Vybrané ukazovatele	Odroda				
	Ebson	Malz	Nitran	Ezer	Priemer
Celkový počet rastlín (ks)	300	344	443	352	360
Počet produktívnych odnoží (ks)	2,58	2,14	1,61	1,97	2,07
Celkový počet klasov (ks)	1056	1155	1024	1092	1082
Priem počet zŕn v hl. klase (ks)	21,39	21,14	18,72	20,60	20,46
HTZ (g)	46,07	45,16	47,67	47,95	46,71
Objemová hmotnosť (g.l ⁻¹)	662,6	674,6	662,5	679,9	669,9
Podiel zrna nad sitom 2,5 mm	96,5	95,6	92,8	97,8	95,6

Tabuľka 5: Prvky úrodnosti vybraných odrôd jačmeňa siateho jarného 2007

Vybrané ukazovatele	Odroda				
	Ebson	Malz	Nitran	Ezer	Priemer
Celkový počet rastlín (ks)	322	264	330	225	285
Počet produktívnych odnoží (ks)	0,83	0,78	0,90	1,35	0,96
Celkový počet klasov (ks)	613	521	639	475	562
Priem počet zŕn v hl. klase (ks)	20,58	21,40	20,10	20,30	20,59
HTZ (g)	45,35	48,60	48,41	47,43	47,45
Objemová hmotnosť (g.l ⁻¹)	672,1	677,1	649,3	665,0	665,9
Podiel zrna nad sitom 2,5 mm	92,6	93,4	87,3	90,0	90,8

Vplyv skúmaných faktorov na úrodu zrna jačmeňa jarného bol vyhodnotený v programe Statgraphics plus a je uvedený v tabuľke 6. Všetky faktory sa podieľali na úrode štatisticky preukazne. Vysokopreukazné boli aj interakcie medzi ročníkom a odrodou a ročníkom a hnojením (F-31,30 a 26,91). Grafické znázornenie úrody jačmeňa jarného siateho je v grafe 1.

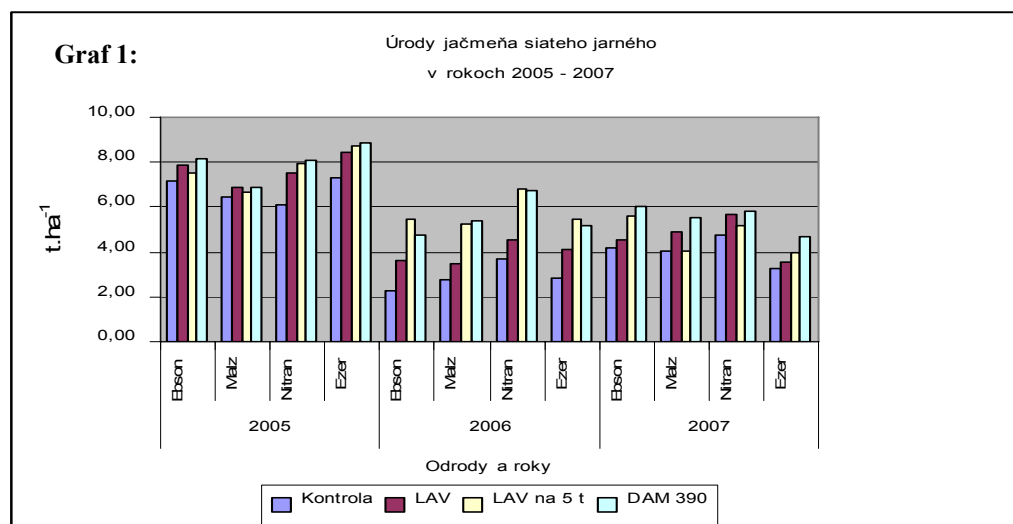
Tabuľka 6: Vplyv skúmaných faktorov na úrodu zrna jačmeňa jarného (Statgraphics plus)

Zdroj variability	f	Úroda	
		P 0,05	Limit
Rok: 2005 2006 2007	2	7,52 b 4,15 a 4,79 a	0,419
Odroda: Ebson Malz Nitran Ezer	3	5,59 ab 5,18 a 6,05 b 5,60 ab	0,792
Hnojenie: kontrola LAV 20 kg.ha ⁻¹ LAV na úrodu zrna 5 t.ha ⁻¹ DAM 390 na úrodu zrna 5 t.ha ⁻¹	3	4,55 a 5,41 b 6,04 bc 6,42 c	0,733

Hodnoty označené rovnakými písmenami nie sú preukazne rozdielne na hranici pravdepodobnosti P<0.05

Záver

Z trojročných výsledkov pokusu s pestovaním jačmeňa siateho jarného vyplynulo, že úroda zrna bola štatisticky preukazne ovplyvnená odrodou, hnojením a ročníkom. Najvyššia úroda bola pri všetkých odrodách dosiahnutá v roku 2005. Z variantov hnojenia priaznivo ovplyvnila úrodu zrna aplikácia tekutého hnojiva DAM 390 na



konci odnožovaní a podobne aj aplikácia liadku amónneho s vápencom na úrodovú hladinu 5 t.ha⁻¹. Najvyššie hodnoty HTZ, v každom pestovateľskom ročníku, dosiahla najvyššie

odroda Nitran a najnižšie odroda Ebson. Odroda Ebson sa však vyznačovala dobrou odnožovacou schopnosťou a vysokým počtom zŕn v hlavnom klase. Taktiež, spolu s odrodou Malz, dosiahla dobré hodnoty technologických ukazovateľov kvality zrna a to objemovej hmotnosti a podielu zrna nad sitom 2,5 mm. Najnižšie boli pri odrode Nitran. Najlepší podielu zrna nad sitom v roku 2005 a 2006 bol pri odrode Ezer. Odrodová reakcia na priebeh poveternostných a pestovateľských podmienok bola pozorovateľná najmä pri formovaní prvkov úrodnosti, čo sa prejavilo na úrode a technologických parametroch zrna jačmeňa siateho jarného.

Literatúra

1. FECENKO, J. – LOŽEK, O.: Výživa a hnojenie poľných plodín. Nitra : SPU, 2000, 452 s. ISBN 80-7137 777-5
2. KUBINEC, S. – KOVÁČ, K. a kol.: Progresívne technológie pestovania jačmeňa jarného. Piešťany : VÚRV, 1998, 82 s.
3. KRAUSKO, A. a i.: Jarný jačmeň. Príroda, 1980, 136 s.
4. LOŽEK, O.: Optimálne hnojenie je ekonomické aj ekologické. In: *Agrochémia* 1, 41, 2001, s. 11-16.
5. MASÁR, I.: Obilniny. Sízuačná a výhľadová správa, 2007. VUEPP, MP SR, Bratislava, 2007
6. PSOTA, V.: Ječmen jako sladovnícká a pivovarnická surovina. In: *Jačmeň výroba a zhodnotenie*, Nitra, 2000, s. 85-89
7. ZIMOLKA, J. a kol.: Ječmen-formy a úžitkové smery v České republice. Praha, 2006, 199 s. ISBN 80-86726-18-5.

Adresa autora:

Ing. Eva Candráková, PhD. , SPU v Nitre, Katedra rastlinnej výroby, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: Eva.Candrakova@uniag.sk

ÚRODA A KVALITA ČAKANKY (*CICHORIUM INTYBUS L.*) V ZÁVISLOSTI OD ODRODY A FOLIÁRNEJ APLIKÁCIE ATONIKU A POLYBORU 150 YIELD AND QUALITY OF CHICORY (*CICHORIUM INTYBUS L.*) IN DEPENDENCE ON VARIETY AND FOLIAR APPLICATION OF ATONIK AND POLYBOR 150

Ivan ČERNÝ – Marek KOVÁR

The influence of foliar applications of Atonik and Polybor 150 on root yield and inulin content in root was observed in field polyfactorial experiment. The field trial was established on medium brown soil in warm maize production area in 2005 and 2006 years. The root yield and inulin content were influenced by year's weather conditions statistically high significantly. In given agro-ecological conditions the combination of foliar preparations on variant B was shown to be the most optimal in term of obtained root yield and inulin content in root. Biological material affected the yield parameters formation differently. Root yield was mostly affected by variety Fredonia Nova and inulin content by variety Maurane (statistically significant). Research work was supported by project VEGA 1/3461/06.

Key words: chicory, root yield, inulin content, Atonik, Polybor 150, variety

Úvod

Formovanie úrody a kvality čakanky obyčajnej je proces komplexný podmienený faktormi, ktoré vo svojich interakciách vytvárajú zložitú štruktúru rastových, fyziologických a biochemických procesov. V rastových procesoch sa v plnej miere odzrkadľujú vývinové procesy organizmu a procesy látkovej premeny.

V systéme hodnotenia produkčného procesu sa okrem rešpektovania faktorov technologických hľadajú možnosti uplatnenia faktorov nových, ktorých vplyv na úrodu a kvalitu hodnotíme ako pozitívny. K možnostiam zvýšenia produkcie považujeme okrem biologického materiálu i prípravky na báze biologicky aktívnych látok, ktorým sa vo výskume a v systéme pestovania venuje stále väčšia pozornosť (ČERNÝ, PAČUTA, VILLÁR, 2000).

Biologicky aktívne látky sa svojim zložením podieľajú na regulácii rastových a vývojových procesov v rastline, ovplyvňujú dynamiku tvorby úrody a podporujú zvýšenie využitia genetického potenciálu odrôd. Ich aplikácia ovplyvňuje nielen fyziologické pochody v rastline ale pôsobí i na oživenie pôdneho prostredia, ktoré následne ovplyvňuje produkčný proces rastliny a tým i porastu (HÉBETTE, DELCOUR et al., 2004; ČERNÝ, 2006).

Materiál a metódy

Úloha bola riešená v rokoch 2005–2006 formou poľných polyfaktorových pokusov, založených v agroekologických podmienkach teplej kukuričnej výrobnjej oblasti, na pozemkoch ŠPP SPU v Nitre Oponice.

Pokusy boli založené blokovou metódou, s náhodným usporiadaním pokusných členov. Boli sledované 3 odrody (Oesia, Maurane a Fredonia Nova) a 3 varianty aplikácie prípravkov Atonik a Polybór 150 (tab.1).

Cieľom príspevku je zhodnotiť vplyv poveternostných podmienok ročníka, biologického materiálu a foliárnej aplikácie Atoniku a Polybóru 150 na produkčné parametre úrody čakanky obyčajnej.

Tabuľka 1: Varianty aplikácie prípravkov

Variant		Dávka (l.ha ⁻¹)	Termín aplikácie
K	Kontrola	–	–
A	Atonik	0,6	2. postemergentná aplikácia herbicídov
	Atonik	0,6	3. postemergentná aplikácia herbicídov
B	Atonik	0,4	2. postemergentná aplikácia herbicídov
	Atonik + Polybór 150	0,6 + 2,5	3. postemergentná aplikácia herbicídov
	Polybór 150	2,5	1. fungicídne ošetrenie

Výsledky a diskusia

Úroda koreňa

V sledovanom období bola priemerná úroda koreňa 23,81 t.ha⁻¹, s rozpätím medzi rokmi 2,29 t.ha⁻¹ (vysoko preukazné). Je známe, že na zistených disproporciách hodnôt sa podieľali nielen rôzne poveternostné podmienky, ale i geneticky fixované vlastnosti odrôd, ktoré sa v konkrétnych podmienkach oblasti premietli do rôzneho formovania úrod (tab. 2). Uvedené závery sú v súlade s poznatkami ERNSTA, CHATTERTEHO et al. (1995), AMADUCCIHO, PRITONIHO et al. (1997) a ČERNÉHO, PAČUTU (2003).

Vyššia úroda koreňa bola pri Fredonii Nova v porovnaní s odrodou Oesia (+ 0,06 t.ha⁻¹) a Maurane (+ 1,31 t.ha⁻¹). Zvýšenie úrody koreňa u Fredonia Nova (porovnaním s ostatnými odrodami v každom roku) bolo nasledovné: Oesia + 0,07 t.ha⁻¹ (rel. 0,27 %) v roku 2005 a + 0,05 t.ha⁻¹ (rel. 0,21 %) v roku 2006; Maurane: + 1,43 t.ha⁻¹ (rel. 5,93 %) v roku 2005 a + 1,19 t.ha⁻¹ (rel. 7,37 %) v roku 2006 (štatisticky preukazne).

Vysoko preukazná závislosť úrody buliev bola zistená pri hodnotení Atoniku a Polyboru 150. Maximálny nárast bol zistený na variante B. V priemere pokusu bola tendencia zvýšenia úrody v porovnaní s variantom K + 5,23 t.ha⁻¹ a variantom A + 1,42 t.ha⁻¹. V roku 2005 bol nárast úrody na variante B v porovnaní s K + 6,67 t.ha⁻¹, rel. 31,31 % a s A + 2,18 t.ha⁻¹, rel. 8,45 %. V roku 2006 bolo najväčšie zvýšenie úrody na variante B a rozdiel medzi variantom K bol 3,79 t.ha⁻¹, rel. 18,55 % a variantom A bol 0,67 t.ha⁻¹, rel. 2,84 %.

Obsah inulínu v koreni

Analyticky stanovený obsah inulínu v koreni bol 20,55 %, s rozdielom medzi maximálnou (2005) a minimálnou (2006) hodnotou 0,77 %. Rozdiely v hodnotách obsahu inulínu poukazujú na determinujúci vplyv agroekologických podmienok na formovaní výslednej kvality, čo zistili aj BAERT (1996).

Významné rozdiely boli zaznamenané pri odrodách, ktorých vplyv bol štatisticky významný. Vyšší obsah inulínu bol zistený pri Maurane (o 2,57 % porovnaním s Oesiou, 0,89 % porovnaním s Fredonia Nova).

Štatistická významnosť výsledkov bola zistená pri hodnotení vplyvu Atoniku a Polyboru 150. V priemere bola zaznamenaná tendencia maximálneho nárastu inulínu na variante B. Komparáciou výsledkov bolo zistené zvýšenie v porovnaní s variantom K + 1,92 %, rel. 9,90 % a variantom A + 0,44 %, rel. 2,10 %. Zvýšenie obsahu inulínu na variante B bolo v jednotlivých rokoch nasledovné: porovnaním s variantom K o 2,26 % (rel. 11,47 %) a variantom A o 0,91 % (rel. 4,32 %) v roku 2005 a porovnaním s variantom K o 0,58 % (8,28 %) a variantom A zníženie o 0,03 % (99,85 %) v roku 2006.

Tabuľka 2: Úroda koreňa (t.ha⁻¹), obsah inulínu (%)

Odroda	Rok	K		A		B		Priemer	
		t.ha ⁻¹	%	t.ha ⁻¹	%	t.ha ⁻¹	%	t.ha ⁻¹	%
Oesia	2005	22,14	18,87	25,10	19,19	29,11	22,10	25,45	19,38
	2006	20,92	18,40	22,91	18,16	25,48	19,15	23,10	18,57
	priemer	21,53	18,13	24,01	18,67	27,29	19,62	24,27	18,97
Maurane	2005	22,64	21,13	25,11	22,81	24,52	21,14	24,09	21,69
	2006	19,63	20,31	22,42	22,93	23,83	20,93	21,96	21,39
	priemer	21,13	20,72	23,76	22,87	24,17	21,03	23,02	21,54
Fredonia Nova	2005	19,13	19,10	27,16	21,17	30,28	22,35	25,52	20,87
	2006	20,75	18,50	25,33	20,97	23,37	21,87	23,15	20,44
	priemer	19,94	18,80	26,24	21,07	26,82	22,11	24,33	20,65

Záver

V poľnom polyfaktorovom pokuse bol sledovaný vplyv foliárnej aplikácie Atoniku a Polyboru 150 na úrodu buliev a obsah inulínu v koreni. Poľný experiment bol založený na stredne ťažkej hlinitej pôde, v teplej kukuričnej výrobní oblasti, v rokoch 2005 a 2006. Úroda buliev a obsah inulínu boli štatisticky vysoko preukazne ovplyvnené poveternostnými podmienkami ročníka

V daných agroekologických podmienkach, sa z hľadiska dosiahnutej úrody buliev a obsahu inulínu v koreni, ako najoptimálnejšia javí kombinácia listových prípravkov na variante B.

Biologický materiál ovplyvnil rozdielne formovanie úrodových parametrov. Úroda buliev bola najviac ovplyvnená pri odrode Fredonia Nova a obsah inulínu pri odrode Maurane (štatisticky preukazne).

Táto práca vznikla za podpory projektu VEGA 1/3461/06.

Literatúra

- AMADUCCI, S. – PRITONI, G. (1998): Effect of harvest date cultivar on *Cichorium intybus* yield components in north Italy, *Industrial Crops and Products*, 7, p. 345–349.
- BAERT, R. A. (1996): The effect of sowing and harvest date cultivar on inulin yield and composition of chicory (*Cichorium intybus* L.) roots, *Industrial Crops and Products*, 6, p. 195–199.
- ČERNÝ, I. (2006): Racionalizácia pestovania čakanky obyčajnej, *Agromanuál*, 1, p. 55–59.
- ČERNÝ, I. – PAČUTA, V. – VILLÁR, G. (2000): Vplyv Atoniku na úrodu a technologickú kvalitu cukrovej repy, *Listy cukrovarnícké a řepárske*, 116, p. 316–319.
- ERNST, M. – CHATTERTON, J. et al. (1995): Carbohydrate changes in chicory (*Cichorium intybus* L. var. *foliosum*) during growth and storage, *Scientia horticulturae*, 63, p. 251–261.
- UHER, A. (2004): Využitie prírodného zeolitu v zeleninárstve, *Acta horticulturae et regiotelecturae*, 7, p. 77–79.

Adresa autorov:

doc. Ing. Ivan ČERNÝ, PhD; Katedra rastlinnej výroby SPU v Nitre; Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra; e mail: ivan.cerny@uniag.sk
Ing. Marek Kovár, PhD; Katedra fyziológie rastlín SPU v Nitre; Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra; e mail: marek.kovar@uniag.sk

VARIABILITA MORFOLOGICKÝCH A HOSPODÁRSKÝCH ZNAKOV DIVORASTÚCICH POPULÁCIÍ *MEDICAGO* SP. MORPHOLOGICAL AND AGRONOMICAL VARIATION IN *MEDICAGO* SP. WILD POPULATIONS

Jarmila DROBNÁ

Morphological and agronomic traits were evaluated on 14 wild populations and two varieties of Medicago sp., originated from collecting expeditions in Czech Republic, Poland, Slovenia, Kazakhstan and Slovakia. In the experiment, conducted at the experimental basis of RIPP Piešťany, plants were established in a spaced plant design with four replications. The presented work is aimed to evaluate variation within- and among-populations and varieties for some morphological (characters of stem and leaf) and agronomical traits (plant height and weight, number of stems, regrowth intensity) evaluated in the first production year. Our study showed the relatively large among-population range of variation for all characters. Populations of M. sativa and M. x varia showed the larger within-population variation. The most homogenous were wild populations originated from Slovenia.

Key words: Medicago sp., population, morphological and agronomical traits, variation

Divorastúce populácie *Medicago sativa* a *Medicago falcata* reprezentujú obrovský rezervoár variability pre budúce šľachtenie týchto druhov (CROCHEMORE et al., 1998). Môžu byť zdrojom génov zodpovedných za rezistenciu voči chorobám a škodcom ako aj toleranciu k nepriaznivým rastovým podmienkam, ku ktorým sa tieto druhy adaptovali počas vývoja.

Lucerna je cudzoopelivá a autotetraploidná krmovina, čo prispieva k rozsiahlej genetickej variabilite populácií alebo odrôd. CROCHEMORE et al. (1998) a JULIER et al. (1995) zistili pri niektorých agronomických a morfológických znakoch širokú genetickú variabilitu vnútri i medzi populáciami lucerny, ktorá je často využívaná v šľachtení odrôd s vysokou úrodou a kvalitou krmiva a semena. JULIER et al. (2000) poukazujú na to, že v každej populácii môžu byť nájdené cenné individuá alebo alely, ale vnútropláčňá variabilita môže byť niekedy prekážkou v šľachtiteľskom pokroku pri kvantitatívnych znakoch. ROTILI (1979) uvádza, že šľachtenie na vyššiu úrodu pri lucerne vyžaduje vyššiu homogenitu odrôd, avšak rozsiahla variabilita vnútri odrôd v úrodových a morfológických znakoch môže byť žiaduca pre dosiahnutie vysokej úrody v rôznych environmentálnych podmienkach.

Materiál a metóda

V roku 2006 bol na pokusnom stanovišti Výskumného ústavu rastlinnej výroby v Piešťanoch založený pokus so 16 genotypmi a populáciami troch druhov lucerny (*Medicago sativa*, *M. falcata*, *Medicago x varia*). Pokus bol založený formou individuálnej výsadby z predpestovaných rastlín do sponu 0,4 m x 0,4 m, po 40 rastlín z 1 genotypu metódou znáhodnených blokov v štyroch opakovaníach. Do pokusu boli zaradené divisorastúce populácie získané na zberových expedíciách v Česku, Poľsku, Slovinsku, Kazachstane a na Slovensku a odrody Palava a Vanda. V prvom úžitkovom roku bolo hodnotených 15 morfológických znakov (5 znakov hodnotených meraním bolo použitých pre ďalšie spracovanie) a agronomické znaky výška a hmotnosť rastliny, počet bylí v trse a rýchlosť obrastania v 4 kosbách. Pre odhad variability bol použitý výpočet koeficientu variability ako pomeru smerodajnej odchýlky a celkového priemeru.

Výsledky a diskusia

Nakoľko pre rozsah výpočtov nie je možné uviesť všetky vypočítané hodnoty, v tabuľke 1 sú uvedené iba maximálne a minimálne hodnoty variačných koeficientov s uvedením názvu populácie, prípadne odrody, u ktorej boli zistené. V tabuľke sú pre agronomické znaky uvedené priemerné hodnoty za kosby.

Najnižšiu variabilitu pri väčšine znakov u *M. sativa* vykázala populácia SVNPIR01-217. Pri odrode Vanda bola zistená najnižšia variabilita u znakov hrúbka byle a počet bylí v 1. kosbe a pri odrode Palava u znakov rýchlosť obrastania po 2. a 4. kosbe. Naopak najvyššia variabilita väčšiny znakov bola zaznamenaná u populácií CZEPOD00-18 a SVNPIR01-198. Pri znaku dĺžka byle na začiatku kvitnutia bola najväčšia variabilita zistená pri odrode Palava. Pri populáciách *M. falcata* boli u 14 znakov najnižšie hodnoty variačných koeficientov zaznamenané pri populácii KAZACH90-0140 a naopak najvyššie hodnoty v desiatich prípadoch pri populácii SVKSIT971-10 a u 5 znakov pri populácii SVNPIR01-83. Najnižšia variabilita vnútri populácií *M. x varia* bola zistená u populácie POLKIE99-8 pri 12 znakoch a najvyššia pri 16 znakoch u populácie SVKNTAT01-497. Pri porovnávaní odrôd Palava a Vanda s populáciami *M. sativa* sa predpokladalo, že vyšľachtené odrody budú homogénnejšie v porovnaní s divisorastúcimi populáciami. Ako však vyplýva z tabuľky, pri viacerých morfológických a agronomických znakoch bola väčšia vyrovnanosť zistená pri populáciách SVNPIR01-217 a SVNPIR01-198 pochádzajúcich zo Slovinska.

V tabuľke 2 je uvedený prehľad priemerných hodnôt variačných koeficientov vnútri a medzi populáciami a odrodami pre jednotlivé druhy lucerny. Z tabuľky vyplýva, že pri morfológických znakoch najnižšia variabilita vnútri a medzi populáciami bola zistená pri znaku počet internódií a najvyššia variabilita pri znaku plocha listu. Pri agronomických znakoch bola u všetkých druhoch zistená najnižšia variabilita vnútri

populácií pri výške rastliny a najvyššia pri hmotnosti rastliny a počte bylí. Medzi populáciami a odrodami bola zistená nižšia variabilita v počte bylí a najvyššia pri hmotnosti rastliny. Celkove bola pri druhoch *M. sativa* a *M. x varia* zistená väčšia variabilita vnútri populácií, čo je v súlade s výsledkami JULIER et al. (2000) a BOLANOS-AGUILAR et al. (2000). Naopak, pri *M. falcata* bola vyššia variabilita medzi populáciami. Ukázalo sa tiež, že populácie *M. sativa* vykazovali v oboch prípadoch najnižšie priemerné hodnoty variačných koeficientov pri všetkých znakoch. Pri *M. falcata* bola vysoká variabilita zistená vnútri i medzi populáciami. Ako uvádza JULIER et al. (2000) vysoká variabilita vnútri populácií pri úrodovných znakoch by mohla zabezpečiť stabilitu úrody v rôznych prostrediach a mohla by byť využitá ako doplnkový zdroj genetickej variability v šľachtiteľských programoch.

Literatúra

1. BALANOS-AGUILAR, E.-D. a kol.: Genetic variation for seed yield and its components in alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations. *Agronomie* 20, 2000: 333-345.
2. CROCHEMORE M.L. a kol.: Structuration of alfalfa genetic diversity using agronomic and morphological characteristics. Relationship with RAPD markers. *Agronomie*, 18, 1998: 79-94.
3. JULIER B. a kol.: Genetic variability for morphology, growth and forage yield among perennial diploid and tetraploid lucerne populations (*Medicago sativa* L.). *Agronomie*, 15, 1995: 295-304.
4. JULIER B., HUYGHE CH. AND ECALLE CH.: Within- and among-cultivar genetic variation in alfalfa: forage quality, morphology, and yield. *Crop Sci.*, 40, 2000: 365-369.
5. ROTILI P.: Contribution à la mise au point d'une méthode de sélection de la luzerne prenant en compte les effets d'interférence entre les individus. *Ann. Amélior. Plantes*, 29, 1979: 353-381.

Tabuľka 1: Variabilita vnútri populácií s uvedením minimálnej a maximálnej hodnoty variačného koeficientu (CV%) pre jednotlivé znaky a druhy *Medicago*

Znak	Min	Populácia/ odroda	Max	Populácia/ odroda
Dĺžka byle na začiatku kvitnutia				
<i>Medicago sativa</i>	9,45	SVNPIR01-227	24,46	Palava
<i>Medicago falcata</i>	12,1	KAZACH90-0140H	17,87	SVNPIR01-83
<i>Medicago x varia</i>	13,6	POLKIE99-8	19,21	SVKNTAT01-497
Hrúbka byle				
<i>Medicago sativa</i>	12,2	Vanda	16,25	CZEPOD00-18
<i>Medicago falcata</i>	17,04	KAZACH90-0140H	26,91	SVNPIR01-83
<i>Medicago x varia</i>	14,86	POLKIE99-8	22,12	SVKNTAT01-320
Počet internódií				
<i>Medicago sativa</i>	10,04	SVNPIR01-217	16,88	CZEPOD00-18
<i>Medicago falcata</i>	10,72	KAZACH90-0124H	16,57	SVKSIT971-10
<i>Medicago x varia</i>	13,37	POLKIE99-8	21,84	SVKNTAT01-320
Počet bočných vetví				
<i>Medicago sativa</i>	14,43	SVNPIR01-198	23,47	SVNPIR01-227
<i>Medicago falcata</i>	13,19	KAZACH90-0140H	31,34	SVNPIR01-83
<i>Medicago x varia</i>	18,5	POLKIE99-8	27,54	SVKNTAT01-320
Plocha listu				
<i>Medicago sativa</i>	23,58	SVNPIR01-198	34,65	SVNPIR01-217
<i>Medicago falcata</i>	26,43	SVNPIR01-83	43,21	KAZACH90-0140H
<i>Medicago x varia</i>	23,73	SVKNTAT01-320	43,49	SVKNTAT01-497
Výška rastliny (priemer za 4 kosby)				
<i>Medicago sativa</i>	10,99	SVNPIR01-217	23,25	SVNPIR01-198
<i>Medicago falcata</i>	17,91	KAZACH90-0140H	32,17	SVKSIT971-10
<i>Medicago x varia</i>	24,50	SVKNTAT01-320	34,62	SVKNTAT01-497
Hmotnosť rastliny (priemer za 4 kosby)				
<i>Medicago sativa</i>	32,36	SVNPIR01-217	69,19	CZEPOD00-18
<i>Medicago falcata</i>	56,91	KAZACH90-0140H	82,01	KAZACH90-0124H
<i>Medicago x varia</i>	55,24	POLKIE99-8	76,55	SVKNTAT01-497
Počet bylí (priemer za 4 kosby)				
<i>Medicago sativa</i>	32,39	SVNPIR01-217	43,73	SVNPIR01-198
<i>Medicago falcata</i>	41,32	KAZACH90-0140H	62,69	SVKSIT971-10
<i>Medicago x varia</i>	43,20	POLKIE99-8	51,54	SVKNTAT01-497
Rýchlosť obrastania (priemer za 4 kosby)				
<i>Medicago sativa</i>	14,31	SVNPIR01-217	24,71	SVNPIR01-198
<i>Medicago falcata</i>	22,31	KAZACH90-0140H	32,81	SVNPIR01-83
<i>Medicago x varia</i>	25,25	SVKNTAT01-320	40,60	SVKNTAT01-497

Tabuľka 2: Variabilita vnútri a medzi populáciami druhov *M. sativa*, *M. falcata* a *M. x varia*

Znak	<i>Medicago sativa</i>		<i>Medicago falcata</i>		<i>Medicago x varia</i>	
	CV%*	CV%**	CV%*	CV%**	CV%*	CV%**
Dĺžka byle na začiatku kvitnutia	7,03	15,65	33,41	13,81	10,13	16,89
Hrúbka byle	7,98	13,95	36,88	20,12	16,08	18,64
Počet internódií	6,57	12,38	19,01	13,21	3,29	17,97
Počet bočných vetví	10,75	18,34	22,85	22,17	6,02	22,75
Plocha listu	20,30	28,97	61,75	34,68	21,72	33,26
Výška rastliny v 1. kosbe	5,86	13,53	36,00	24,92	16,07	23,28
Hmotnosť rastliny v 1. kosbe	12,54	44,84	61,51	63,17	31,43	61,84
Počet bylí v 1. kosbe	15,33	37,98	36,14	47,35	9,49	42,66
Rýchlosť obrastania po 1. kosbe	12,75	16,09	51,77	29,48	29,16	32,49
Výška rastliny v 2. kosbe	9,60	14,70	44,02	23,48	21,80	28,70
Hmotnosť rastliny v 2. kosbe	17,95	49,26	61,17	69,66	34,03	66,28
Počet bylí v 2. kosbe	8,70	41,04	36,02	54,41	4,65	46,87
Rýchlosť obrastania po 2. kosbe	15,32	20,91	47,98	31,25	21,91	36,19
Výška rastliny v 3. kosbe	14,87	19,80	39,62	26,47	17,97	30,05
Hmotnosť rastliny v 3. kosbe	17,27	55,91	58,00	71,50	29,74	60,30
Počet bylí v 3. kosbe	13,10	35,18	34,28	44,32	2,38	41,40
Rýchlosť obrastania po 3. kosbe	14,97	22,13	57,11	25,46	28,70	35,64
Výška rastliny v 4. kosbe	10,30	19,71	40,07	28,68	9,32	30,98
Hmotnosť rastliny v 4. kosbe	23,84	54,39	75,49	71,84	29,01	72,09
Počet bylí v 4. kosbe	14,48	46,45	41,70	60,92	20,01	55,65

CV%* - priemerné hodnoty variačných koeficientov medzi populáciami a odrodami

CV%** - priemerné hodnoty variačných koeficientov vnútri populácií a odrôd

Adresa autora:

Ing. Jarmila Drobna, PhD., SCPV Nitra, Výskumný ústav rastlinnej výroby, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, Slovenská republika, e-mail: drobna@vurv.sk

FYZIKÁLNO-MECHANICKÉ VLASTNOSTI JABLÍK PHYSICAL-MECHANICAL PROPERTIES OF APPLES

Juraj DUNCA – Alena DUNCOVÁ – Ondrej ŠVEC

In this work are introduced measured physical-mechanical properties of apple: mass, resonant frequency, modulus elasticity, especially force necessary at destruction of apples and density flesh of apples

Key words: Apple, mass, force necessary at destruction of apples

Úvod

Medzi významné fyzikálno-mechanické vlastnosti jablák patria: sila potrebná na deštrukciu (poškodenie) jablák, hmotnosť, objem, pružné vlastnosti dužiny jablák a hustota dužiny jablák. Pružné vlastnosti jablák sú charakterizované modulmi pružnosti v ťahu. Meraním pružných vlastností jablák sa zaoberali ABBOT et al. (1968, 1995) a MOHSENIN (1970). Meraním pevnostných vlastností jablák sa zaoberali práce (ABBOT et al., 1995; DUNCA, ŠVEC, 2005; DUNCA 2006). Štúdium fyzikálno-mechanických vlastností jablák má význam najmä pri zbere, doprave a pri uskladnení z hľadiska možného poškodenia (HRIČOVSKÝ et al., 1990). Štúdium fyzikálno-mechanických vlastností ovocia (u nás najmä jablák) má dôležitý význam aj z hľadiska racionálnej výživy obyvateľstva (HRIČOVSKÝ et al., 1990; HRIČOVSKÝ et al., 2003).

Materiál a metódy

Meranie fyzikálno-mechanických vlastností jablák sa uskutočnilo v laboratórnych podmienkach. Pevnostné vlastnosti sú charakterizované silou potrebnou na deštrukciu (poškodenie) šupky jablka. Zisťovali sme ju jednoduchým prístrojom, ktorý sme zhotovili na tento účel (DUNCA, ŠVEC, 2005). Biologický materiál, t. j. vzorky jablák sme získali z Katedry ovocinárstva FZKI v Nitre. Ďalej sme merali rezonančné frekvencie valčekových výrezov jablák, potrebné k výpočtu modulu pružnosti. Valčekové výrezy jablák mali konštantné dĺžky 4 cm a priemer 0,7 cm. Modul pružnosti E sa vypočíta pri dynamickej rezonančnej metóde pozdĺžnych kmitov vzorky jablka podľa vzorca (PLANDER, TOMÁŠ, 1964; MARTINČEK, 1962).

$$E = \frac{c_1^2 4l^2 f^2 \rho}{n^2}, \quad (1)$$

kde

E = modul pružnosti (Pa),

c_1 = konštanta závislá od rozmerov a tvaru vzorky,

l = dĺžka vzorky (m),

f = rezonančná frekvencia (Hz),

ρ = hustota dužiny ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$),

n = 1, 2, ...

Výsledky a diskusia

Na ilustráciu uvádzame výsledky meraní jablák odrody Reneta (tab. 1). V tabuľke sú uvedené namerané hmotnosti a sila potrebná na deštrukciu (poškodenie) jablka odrody Reneta a tiež objemy jablák. Znakom $F_1 - F_4$ sú označené sily potrebné na deštrukciu jablka. Znakom $\bar{x}F(N)$ je označená priemerná sila na deštrukciu jablka. Vypočítaná smerodajná odchýlka sily $S_F = 9,81$ N a vypočítaný variačný koeficient $v_F = 9,65$ %. Vypočítaná smerodajná odchýlka hmotnosti $S_m = 17,34$ g a vypočítaný variačný koeficient $v_m = 17,71$ %. Tesnosť väzby medzi hmotnosťami jablák a silami potrebnými na deštrukciu (poškodenie) sme vyjadrili korelačným koeficientom. Vypočítaný korelačný koeficient medzi hmotnosťami jablák a silami potrebnými na poškodenie jablák je $r = 0,23$. Vypočítaný korelačný koeficient medzi objemami a silami jablák je $r = 0,22$. Malé číselné hodnoty korelačných koeficientov svedčia o zložitejšej závislosti medzi fyzikálno-mechanickými vlastnosťami. V tabuľke 2 na ilustráciu uvádzame namerané hmotnosti a rezonančné frekvencie valčekových výrezov dužiny jablka odrody Spartan. Hustotu dužiny jablka valčekového výrezu odrody Spartan sme vypočítali podľa vzorca:

$$\rho = \frac{m}{V} = \frac{4m}{\pi d^2 l} \quad (2)$$

$$\rho = \frac{4,1,326 \text{ g}}{3,14,0,7^2 \text{ cm}^2 \cdot 4 \text{ cm}} \doteq 0,862 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$$

$$\rho = 862 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$$

Dužina jablka odrody Spartan sa vyznačuje nehomogenitou pružných vlastností charakterizovaných rezonančnými frekvenciami (tab. 2).

Priemernú hodnotu modulu pružnosti valčekového výrezu dužiny jablka odrody Spartan sme vypočítali podľa vzorca (1)

$$E = \frac{c_1^2 A l^2 f^2 \rho}{n^2}$$

$$E = \frac{1,5^2 \cdot 4,0,04^2 m^2 \cdot 659^2 s^{-2} \cdot 862 kg \cdot m^{-3}}{4}$$

$$E \doteq 1,35 \cdot 10^6 Pa$$

Záver

V práci sú uvedené namerané hmotnosti a vypočítané sily potrebné na deštrukciu jablka odrody Reneta. Ďalej namerané rezonančné frekvencie valčekových výrezov dužiny jablka odrody Spartan a vypočítaný modul pružnosti. Dosiahnuté výsledky sa využijú vo vyučovaní a v ďalšom výskume jablka.

Literatúra

1. ABBOTT, J. A. – BACHMAN, G. S. – CHILDERS, B. F. – FIGERALD, J. V. – MATUSIK, F. J.: Sonic techniques for measuring texture of fruit and vegetables. In: Food Technolog, vol. 22, 1968, s. 635 – 651.
2. ABBOTT, J. A. – MASSIE, D. R. – UPCHURCH, B. L. – HRUSCHKA, W. R.: Nondestruktive sonic firmness measurement of apples. In: Transaction of the ASAE, vol 38, 1995, N. 5. s. 146 – 163.
3. DUNCA, J. – ŠVEC, O.: Pevnostné vlastnosti jablka. In: Poľnohospodárstvo, roč. 51, 2005, č. 7, s. 382 – 387, ISBN 0551-3677.
4. DUNCA, J.: Mechanické vlastnosti jablka. In: Naše pole, sady a vinice 3/2006, Nitra.
5. HRIČOVSKÝ, I. a kol.: 1990. Praktické ovocinárstvo. Bratislava, Príroda, 1990, 736 s.
6. HRIČOVSKÝ, I. a kol. 2003. Pomológia. Jablone, hrušky, čerešne, višne, škrupinové ovocie, Bratislava, Nezávislosť, 2003, 264 s.
7. PLANDER, I. – TOMÁŠ, J.: Dynamické vlastnosti viskoelastických materiálov a ich meranie. Vydavateľstvo SAV. Bratislava 1964, s. 116.
8. MARTINČEK, G.: Nedeštruktívne dynamické metódy skúšania stavebných materiálov. Vydavateľstvo SAV. Bratislava 1962, s. 244.
9. MOHSEIN, N. N.: Physical properties of plant and animal materials. Gordon and Breach science Publisher, New York, 1970, 734 p.

Táto práca bola podporená grantom VEGA č. 1/2374/05.

Tabuľka 1: Hmotnosť a sila potrebná na deštrukciu (poškodenie) jablka odrody (Reneta)

n	m (g)	V ₁ (cm ³)	V ₂ (cm ³)	V (cm ³)	F ₁ (N)	F ₂ (N)	F ₃ (N)	F ₄ (N)	F (N)
1.	116,8	1800	1940	140	90	96	96	85	91,7
2.	106,4	1800	1938	138	85	82	92	102	90,2
3.	94,8	1800	1920	120	110	120	130	130	122,5
4.	127,8	1800	1960	160	100	95	100	100	98,7
5.	135,5	1800	1960	160	115	115	115	115	115,0
6.	112,6	1800	1940	140	95	110	110	90	101,2
7.	94,3	1860	1980	120	115	115	102	98	107,5
8.	119,1	1860	2000	140	115	130	130	130	126,2
9.	71,2	1860	1940	80	102	95	98	92	96,7
10.	93,9	1860	1980	120	100	100	102	100	100,5
11.	84,6	1860	1960	100	100	92	90	100	95,5
12.	82,2	1860	1958	98	100	110	100	110	105,0
13.	89,2	1860	1960	100	100	110	100	90	100,0
14.	96,2	1860	1980	120	90	100	90	90	92,5
15.	105,1	1860	1980	120	98	80	85	90	88,2
16.	100,2	1860	1980	120	100	110	105	100	103,7
17.	73,4	1860	1940	80	100	110	100	95	101,2
18.	81,6	1860	1946	86	100	100	110	110	105,0
19.	77,2	1860	1940	80	85	100	92	90	91,7
20.	96,2	1860	1970	110	102	100	110	90	100,5
Σ	1958,3			2332					2033,5
\bar{x}	97,91			116,6					101,7

Tabuľka 2: Namerané hmotnosti a rezonančné frekvencie valčekových výrezov dužiny jablka odrody Spartan

Vzorka	Hmotnosť m (g)	Rezonančná frekvencia f (Hz)
1	1,299	653
2	1,354	676
3	1,323	617
4	1,350	661
5	1,267	621
6	1,362	728
Σ	7,955	3956
\bar{x}	1,326	659

FYZIKÁLNO-MECHANICKÉ VLASTNOSTI STEBIEL OBILNÍN PHYSICAL-MECHANICAL PROPERTIES OF STEMS OF CEREALS

Juraj DUNCA – Alena DUNCOVÁ – Ondrej ŠVEC

In this work are introduced measured physical-mechanical properties stems of cereals: length of plant, external diameter internodie of stems, thickness of wall, resonant frequency and calculated modulus elasticity of the stems.

Key words: cereal, stem, resonant frequency

Úvod

Pri riešení otázok odolnosti proti poliehaniu majú dôležitú úlohu aj fyzikálno-mechanické vlastnosti stebiel obilnín (DUNCA, 2003; DUNCA, 2006). Medzi významné mechanické vlastnosti stebiel obilnín patria: dĺžka rastliny, dĺžka stebľa, hrúbka stebľa, hrúbka steny stebľa, dĺžka klasu a hustota stebľa. Medzi fyzikálne vlastnosti patria: rezonančná frekvencia, modul pružnosti, koeficient pevnosti a ďalšie. Príčiny poliehania obilnín rozoberá práca (PRUCKOVOVÁ, UCHANOVÁ, 1976).

Materiál a metódy

Vzorky stebiel pšenice odrody Krapetz sme dostali z VÚRV Piešťany. Merania sme uskutočnili v laboratórnych podmienkach. Merali sme vonkajšie priemery internódií stebiel pšenice pod klasom, hrúbky steny internódií, dĺžky rastliny pšenice odrody Krapetz a hustotu stebľa. Koeficienty pevnosti stebiel sme vypočítali podľa vzorca (DUNCA, 2005; 2006). Rezonančnou dynamickou metódou sme určovali rezonančné frekvencie 1. internódií stebiel pšenice odrody Krapetz. Na základe nameraných veličín sme podľa vzorca (1) vypočítali priemernú hodnotu modulu pružnosti ako pružnú charakteristiku stebiel pšenice (DUNCA, 2006).

$$E = \frac{64\pi^2 l^4 f^2 \rho}{\lambda^4 (d_1^2 + d_2^2)}, \quad (1)$$

kde

l – dĺžka vzorky (m),

f – rezonančná frekvencia (Hz),

ρ – hustota ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$),

d_1 – vnútorný priemer vzorky stebľa (m),

d_2 – vonkajší priemer vzorky stebľa (m),

λ – parameter.

Výsledky a diskusia

V tabuľke 1 na ilustráciu uvádzame v laboratórnych podmienkach namerané hodnoty rezonančných frekvencií, vonkajšie priemery a vnútorné priemery internódií stebiel pšenice odrody Krapetz. Ďalej namerané dĺžky rastliny potrebné k výpočtu koeficienta pevnosti stebľa a vypočítané koeficienty pevnosti v ohybe označené k_2 . V poslednom riadku tabuľky sú uvedené priemerné hodnoty nameraných veličín.

Priemernú hodnotu modulu pružnosti sme vypočítali podľa vzorca (1). Do vzorca (1) sme dosadili aritmetické priemery nameraných hodnôt veličín:

$f = 244,6 \text{ Hz}$; $d_2 = 3,97 \text{ mm}$; $d_1 = 3,18 \text{ mm}$; $l = 20 \text{ cm}$; $\rho = 420 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$; $\lambda = 4,71$.

$$E = \frac{64 \cdot 9,87^2 \cdot 0,2^4 \cdot m^4 \cdot 244,6^2 \cdot s^{-2} \cdot 420 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}}{4,71^2 \cdot (3,97^2 \text{ m}^2 + 3,18^2 \text{ m}^2) \cdot 10^{-6}}$$

$$E \doteq 1,99 \cdot 10^9 \text{ Pa}$$

Domáce a zahraničné skúsenosti ukazujú, že odolnosť proti poliehaniu závisí od dĺžky stebľa rastliny (PRUCKOVOVÁ et al, 1976). Ďalej závisí od plochy v priečnom reze a od pružných vlastností vyjadrených modulom pružnosti a rezonančnými frekvenciami.

Záver

Fyzikálno-mechanické vlastnosti majú dôležitú úlohu pri riešení otázok odolnosti obilnín proti poliehaniu. V práci sú uvedené namerané fyzikálno-mechanické veličiny charakterizujúce vlastnosti stebiel pšenice. Ďalej je uvedený vzorec na výpočet modulu pružnosti.

Literatúra

1. DUNCA, J.: Fyzikálne vlastnosti stebiel pšenice. In: Zborník z 10. odborného seminára, Piešťany, VÚRV, 2003, s. 90-91.
2. DUNCA, J. – DUNCOVÁ, A. – ŠVEC, O.: Využitie niektorých matematických metód pri štúdiu fyzikálnych vlastností stebiel obilnín. In: Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín. Zborník z 12. odborného seminára, Piešťany: VÚRV, 2005.
3. DUNCA, J. – DUNCOVÁ, A. – ŠVEC, O.: Fyzikálne vlastnosti stebiel obilnín. In: Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín. Zborník z 13. vedeckej konferencie, Piešťany: VÚRV, 2006.
4. PRUCKOVOVÁ, M. G. – UCHANOVÁ, O. I.: Nové odrody ozimnej pšenice. Príroda, Bratislava, 1976, 302 s.

Táto práca bola podporená grantom VEGA č. 1/2374/05.

Tabuľka 1: Vlastnosti stebiel pšenice odrody Krapetz

n	f [Hz]	d ₂ [mm]	d ₁ [mm]	l _r [mm]	k ₂
1	244,0	4,73	3,53	1030	4,2393-04
2	243,4	4,43	3,41	1030	3,4034-04
3	244,2	4,58	3,2	990	5,1798-04
4	242,4	3,94	2,94	825	5,6514-04
5	244,6	3,81	3,07	960	2,7026-04
6	243,0	4,35	3,31	980	3,9234-04
7	246,0	3,92	3,14	940	3,1496-04
8	243,0	4,31	3,47	855	4,8466-04
9	243,8	3,79	2,99	1010	2,4563-04
10	242,4	3,74	2,86	985	2,8031-04
11	248,5	3,62	2,72	1110	2,0224-04
12	248,5	4,64	3,82	1070	2,7450-04
13	-	4,83	3,41	740	-
14	243,6	4,17	3,11	900	4,9309-04
15	247,4	3,76	2,66	950	3,9575-04
16	244,4	4,16	3,06	900	5,1082-04
17	243,3	4,34	3,32	1020	3,4212-04
18	243,7	5,1	3,68	795	11,5680-04
19	245,7	3,87	3,17	1050	2,0173-04
20	-	4,01	2,79	870	-
S	4401,9	79,28	63,66	19010,0	71,126
\bar{x}	244,6	3,97	3,18	950,5	4,1181-04

Adresa autora:

doc. RNDr. Juraj Dunca, CSc., SPU Nitra, Katedra fyziky – MF, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

POČETNOSŤ AERÓBNÝCH BAKTÉRIÍ A RESPIRAČNÝ PROFIL MIKROORGANIZMOV V RIZOSFÉRE TRANSGÉNEJ KUKURICE

THE ABUNDANCE OF AEROBIC BACTERIA AND RESPIRATION PROFILE OF MICROORGANISMS IN THE RHIZOSPHERE OF TRANSGENIC MAIZE

Natália FARAGOVÁ – Juraj FARAGÓ – Rastislav BUŠO

The abundance of aerobic bacteria and the respiration profile of microorganisms in the rhizosphere of transgenic Bt maize was analyzed using microbiological (colony plating methods) and biochemical (Biolog®) means, respectively. Soil samples were collected in the years 2006 and 2007 from rhizospheres of genetically modified maize hybrid DK440Bt, non-modified maize hybrid DK440 and from the free plantless area at the Research station of RIPP Piešťany at Borovce. No statistically significant differences (ANOVA, $p < 0.001$) in abundance of aerobic bacteria were detected in the rhizospheres of both maize hybrids using plating methods. Statistically significant differences in numbers of colonies on agar plates were observed only between the different cultivation groups of microorganisms in accordance with the natural genetic diversity between them. The highest average respiration of C-sources was detected using the Biolog® assay in the microbial community isolated from the rhizosphere non-transgenic maize, which was by 7 and 57% higher than that from samples from plantless area and from the rhizosphere of non-transgenic maize. In general, higher respiration activity was detected with Gram-negative bacteria (GN), even that in the transgenic hybrids DK440 of maize, higher metabolic activity was observed with Gram-positive bacteria (GP). The highest number of utilized substrates was observed with the bacteriocenosis isolated from the rhizosphere of transgenic Bt maize. The functional density of GN bacteria was by 292% higher in comparison with the density of GP bacteria. In all the three types of soil samples, higher number of utilized substrates was observed with GN bacteria. Statistically significant differences were observed only between the GP and GN bacteria in the average numbers of utilized substrates.

Key words: aerobic bacteria, genetically modified organisms, Ostrinia nubilalis, rhizosphere, Zea mays

Úvod

Vijačka kukuričná (*Ostrinia nubilalis*) je jedným z najvýznamnejších škodcov kukurice v Európe. Nárast jej výskytu je spôsobený globálnym otepľovaním, nárastom pestovateľských plôch kukurice na zrno, či deleným zberom. Najúčinnějšíou formou ochrany v súčasnosti je pestovanie geneticky modifikovanej Bt-kukurice. Táto insekt-rezistentná kukurica sa chráni proti vijačke kukuričnej produkciou proteínu CryA (b), ktorý sa prirodzene vyskytuje v pôdnej baktérii *Bacillus thuringiensis*. Bt-proteín je zaživacom trakte škodcu aktivovaný na toxín, po jeho účinku larvy vijačky hynú zhruba do 72 hodín. Toxín nie je jedovatý pre necieľové organizmy a je úplne neškodný pre stavovce a človeka.

Introdukciou transgénnych rastlín do poľnohospodárskych ekosystémov vystupujú otázky ekologických dôsledkov týchto rastlín na netransgénne organizmy, vrátane pôdnych mikroorganizmov.

Materiál a metódy

Vzorky za účelom mikrobiologických analýz boli odobrané z rizosféry geneticky modifikovaných hybridov kukurice na zrno DK440Bt, z nemodifikovaných hybridov kukurice na zrno DK440 a z voľnej plochy bez porastu v rokoch 2006 a 2007 na pozemkoch Výskumnej stanice Borovce. Vzorky sa odoberali v čase mliečno-voskovej zrelosti z okolia koreňov (od hĺbky 0,02 m od vrchnej časti) a pripravovali podľa SCHINNER a kol. (1996). Mikrobiologické analýzy: prítomnosť *Azotobacteria* na Ashbyho agare agregátovou metódou vyjadrením fertílých zrníčok z celkového počtu v %, početnosť celulolytických baktérií využitím filtračného papiera ako zdroja uhlíka v živnom médiu, vyjadrením počtu kolónietvoriacich jednotiek (KTJ) v prepočte na 1 g suchej pôdy, početnosť amonizačných baktérií, natívnych rizobiálnych baktérií a aktinomicét vyjadrené v KTJ/ 1g suchej pôdy a množstvo bakteriálnych spór po pasterizácii vzorky v KTJ/ 1 g suchej pôdy. Biochemické analýzy (identifikačné kity Biolog®): priemerná metabolická aktivita mikrobiálnych spoločenstiev (AMR) a funkčná hustota spoločenstiev (CMD).

Výsledky boli podrobené analýze variancie (ANOVA, $p < 0,001$), spracované štatistickým programom Statgraphics Ver. 5,0.

Výsledky

V rizosfére oboch hybridov kukurice neboli zistené štatisticky významné rozdiely (ANOVA, $p < 0,001$) v početnosti aeróbných baktérií. Štatisticky významné rozdiely v počte kolónií boli zistené len medzi jednotlivými kultivačnými skupinami pôdnych mikroorganizmov, čo je prirodzené z hľadiska ich genetickej diverzity. Najvyššou početnosťou sa vyznačovala skupina amonizačných baktérií a najnižšou početnosťou zasa aktinomycéty, a to v oboch rokoch odberu. Čo sa týka porovnania jednotlivých rizosfér najvyššie zastúpenie aeróbných amonizačných baktérií bolo pozorované pri netransgénnych hybridoch o 5 % v porovnaní s transgénnym Bt-hybridom a o 7 % v porovnaní s rizosférou vzorkou odobratej z voľnej plochy bez porastu. Ak porovnáme oba roky odberu zistíme, že v roku 2007 bola početnosť amonizačných baktérií vyššia než v roku 2006 (pri transgénnych a netransgénnych hybridoch o 10 % a vo vzorkách z voľnej plochy bez porastu až o 19 %). Celulolytické baktérie boli najpočetnejšie v rizosfére Bt-hybridov kukurice (o 14 % vyššia početnosť v porovnaní s nemodifikovanými hybridmi kukurice). Podobne aj najviac bakteriálnych spór bolo izolovaných z rizosféry geneticky modifikovaného hybridu kukurice, a to až o 104 % viac než z okolia nemodifikovaných hybridov. Indigénne rizobiálne kmene v rizosfére netransgénnych hybridov vytvorili najviac KTJ, a to o 18 % viac

v porovnaní s celkovým priemerom všetkých troch pôdných vzoriek rizosfér. Ak porovnáme oba roky odberu, pokles rizobiálnych kolónií v roku 2007 bol detekovaný iba pri transgénnych Bt-hybridoch kukurice. Aktinomycéty mali najvyššie zastúpenie v pôdných vzorkách odobratých z voľnej plochy bez porastu, v rizosférach oboch typov hybridov kukurice bolo ich zastúpenie pomerne rovnaké. V porovnaní s rokom 2006 bol zaznamenaný výrazný pokles pri všetkých troch vzorkách (v priemere až o 53 %). Asymbiotický *Azotobacter* bol najviac pozorovaný vo vzorkách pochádzajúcich z voľnej plochy v oboch rokoch pozorovania. Vyššia početnosť *Azotobacter* až 60 % fertilyných zrníčok z celkového počtu bola pozorovaná v rizosfére netransgénnych hybridov v porovnaní s Bt-hybridmi kukurice.

Najvyššou priemernou respiráciou C-zdrojov sa vyznačovala mikrobiálna komunita izolovaná z rizosféry geneticky nemodifikovanej kukurice, ktorá bola o 7 až 57 % vyššia v porovnaní s pôdnymi vzorkami z voľnej plochy bez porastu a z rizosféry netransgéennej kukurice. Vo všeobecnosti bola detekovaná vyššia respiračná aktivita u gramnegatívnych baktérií, hoci pri transgénnych hybridoch kukurice DK440 sa vyššou metabolickou aktivitou vyznačovali grampozitívne baktérie. Najvyšším počtom utilizovaných substrátov sa vyznačovala baktériocenóza izolovaná z rizosféry transgéennej Bt-kukurice. Funkčná hustota gramnegatívnych baktérií (GN) bola o 292 % vyššia v porovnaní s hustotou grampozitívnych baktérií (GP). Vyšší počet utilizovaných substrátov GN baktérií bol detekovaný pri všetkých troch pôdných vzorkách. Štatisticky významné rozdiely boli zistené len pri počte utilizovaných substrátov medzi GP a GN baktériami.

Diskusia

Transgénne rastliny môžu ovplyvňovať pôdne mikroorganizmy rôznymi spôsobmi, ktoré zahŕňajú priame a nepriame efekty (DUNFIELD, GERMIDA, 2004). Priame efekty sú najčastejšie spojené s introdukciou takých génov do rastlinného genómu, ktoré vyvolávajú rezistenciu k škodcom alebo patogénom, napr. génov pre Bt-toxín (DONEGAN a kol., 1995; SAXENA, STOTZKY, 2001; WU a kol., 2004), lektíny (DONEGAN a kol., 1997), antimikrobiálne bielkoviny (VIERHEILIG a kol., 1993; AHRENHOLZ a kol., 2000) alebo herbicidy (SICILIANO, GERMIDA, 1999; DUNFIELD, GERMIDA, 2001). Priame efekty vyvolávajú väčšie obavy, pretože introdukcia here uvedených typov transgénov do genómov hostiteľských rastlín môže vyvolať tvorbu chemických zlúčenín, ktoré budú potenciálne toxické pre niekoľko pôdne organizmy, vrátane mykorrhizných húb a pôdnej mikrofauny. Nepriame efekty spôsobené zmenami koreňových exudátov môžu byť dôsledkom expresie transgénov v geneticky modifikovaných rastlinách, ich účinky je však oveľa ťažšie odhadnúť, pretože na zloženie koreňových exudátov môže vplyvať veľké množstvo rôznych faktorov (TESFAYE a kol., 2001). Okrem toho mnohí autori referujú o tom, že mikrobiálne spoločenstvá pôdy sú veľmi plastické v zložení a štruktúre v závislosti rôznych koreňových zón, agrotechnických praktík a iných environmentálnych faktorov (BUCKLEY, SCHMIDT, 2003). Taktiež napr. FANG a kol. (2005) zistili, že bakteriálne spoločenstvá v rizosfére kukurice sú viac ovplyvnené textúrou pôdy než kultiváciou transgénnych odrôd. Navyše, v mnohých prípadoch rozdiely medzi rizosférymi mikrobiálnymi spoločenstvami spojenými s transgénnymi rastlinami a parentálnymi netransgénymi rastlinami sa ukázali byť dočasné a závislé na prítomnosti živých rastlín (DUNFIELD, GERMIDA, 2003).

Záver

Hoci sa rizosféra transgénnych hybridov Bt-kukurice vyznačovala vyššou početnosťou celulolytických baktérií, bakteriálnych spór a nižšou početnosťou amonizačných baktérií, indigénnych rizobií, aktinomycét a *Azotobacter* v porovnaní s rizosférou netransgénnych hybridov kukurice, neboli medzi nimi zaznamenané štatisticky preukazné rozdiely. Štatisticky významné rozdiely boli zistené len pri počte utilizovaných substrátov medzi GP a GN baktériami.

Literatúra

1. AHRENHOLTZ, I. – HARMS, K. – DE VRIES, J. – WACKERNAGEL, W.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 2000, s. 1862-1865.
2. BUCKLEY, D.H. – SCHMIDT, T.M.: *Environ. Microbiol.*, 5, 2003, s. 441-452.
3. DONEGAN, K.K. – PALM, C.J. – FIELAND, V.J. – PORTEOUS, L.A. – GANIO, L.M. – SCHALLER, D.L. – BUCAO, L.Q. – SEIDLER, R.J.: *Appl. Soil Ecol.*, 2, 1995, s. 111-124.
4. DONEGAN, K.K. – SEIDLER, R.J. – FIELAND, V.J. – SCHALLER, D.L. – PALM, C.J. – GANIO, L.M. – CARDWELL, D.M. – STEINBERGER, Y.: *J. Appl. Ecol.*, 34, 1997, s. 767-777.
5. DUNFIELD, K.E. – GERMIDA, J.J.: *FEMS Microbiol. Ecol.*, 38, 2001, s. 1-9.
6. DUNFIELD, K.E. – GERMIDA, J.J.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, 2005, s. 4132-4136.
7. DUNFIELD, K.E. – GERMIDA, J.J.: *J. Environ. Qual.*, 33, 2004, s. 806-815.
8. FANG, M. – KREMER, R.J. – MOTAVALLI, P.P. – DAVIS, G.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, 2005, s. 4132-4136.
9. SAXENA, D. – STOTZKY, G.: *Soil Biol. Biochem.*, 33, 2001, s. 1225-1230.
10. SCHINNER, F. – OHLINGER, R. – KANDELER, E. – MARGESIN, R.: *Methods in Soil Biol.*, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 1996.
11. SICILIANO, S.D. – GERMIDA, J.J.: *FEMS Microbiol. Ecol.*, 29, 1999, s. 263-272.
12. TEFAYE, M. – TEMPLE, S.J. – ALLAN, D.L. – VANCE, C.P. – SAMAC, D.A.: *Plant Physiol.*, 127, 2001, s. 1836-1844.
13. VIERHEILIG, H. – ALT, M. – NEUHAUS, J.M. – BOLLER, T. – WIEMKEN, A.: *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 6, 1993, s. 261-264.
14. WU, W.X. – YE, Q.F. – MIN, H. – DUAN, X.J. – JIN, W.M.: *Soil Biol. Biochem.*, 36, 2004, s. 289-295.

Adresa autora:

Natália Faragová*, Juraj Faragó*, Rastislav Bušo**, SCPV- VÚRV Piešťany, *Oddelenie poľnohospodárskych biotechnológií, **Oddelenie alternatívnej rastlinnej výroby, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, e-mail: faragova@vurv.sk, farago@vurv.sk, buso@vurv.sk

INTERAKCIE HRČKOTVORNÝCH BAKTÉRIÍ S KOREŇMI GENETICKY MODIFIKOVANÝCH RASTLÍN LUCERNY

INTERACTION OF NODULE-FORMING BACTERIA WITH ROOTS GENETICALLY MODIFIED PLANTS OF LUCERNE

Natália FARAGOVÁ – Juraj FARAGÓ

The aim of our study was to evaluate the nodulation ability and the effect of inoculating by nitrogenic bacteria of three types of transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants grown in conditions of low soil pH. Transgenic lines, containing the genes *Ov* from Japanese quail (*Coturnix coturnix*) coding for ovalbumine, AMVcp from Alfalfa Mosaic Virus (AMV), coding for a coat protein, and the marker genes *uidA*, coding for β -glucuronidase, and *nptII*, coding for neomycinphosphotransferase II, respectively, were inoculated by 7 native strains of *Sinorhizobium meliloti*. These strains showed high tolerance to low pH in an *in vitro* assay system. Plants were grown in a climatic chamber in plastic pots containing either acidic soil (pH = 4.0) supplemented with P, K, Mg, or neutral soil (pH = 7.0), respectively. The highest total dry weight (DW) of green matter in low pH soil was obtained in transgenic line GTL4/402-2 (containing the AMVcp gene). Inoculation with N_2 -fixing bacteria increased the DW of green matter from 40% (neutral soil) to 87% (acidic soil). The highest agronomic efficiency, defined as the ratio of difference between the total aboveground biomass DW in inoculated and non-inoculated variant to non-inoculated control, was observed in *S. meliloti* strains 7T4 and 4T8. The highest number of nodules was observed in transgenic clones containing the AMVcp gene, i.e. 85% more than in clones with *Ov* gene, and 77% more than in marker genes only containing clones of alfalfa. The number of nodules in non-transgenic lines was 8% higher in comparison with *Ov*-gene containing lines and 3% higher than clones containing the marker genes. Contrary, transgenic alfalfa lines containing the AMVcp gene had in average 71% higher number of nodules than the isogenic non-transgenic line. The highest activity of nodules was also recorded in alfalfa lines with the introduced gene for AMV coat protein, i.e. 70-81% active nodules of the total number of nodules. Inoculation with strain 4T5 increased the N-content in aboveground biomass (stems plus leaves) by 12% in comparison with non-inoculated control. The highest N_2 -fixation efficiency (11.5%), defined as the ratio of increase in the total N content in aboveground biomass of inoculated variant to total N content in non-inoculated variant, was found in strain 4T5. In conclusion, our results showed a transgene-dependent (positive) interaction of rhizospheric nitrogenic microorganisms with roots of transgenic alfalfa plants.

Key words: acid tolerance, alfalfa, GMO, nodulation, *Sinorhizobium*

Úvod

Lucerna môže produktívne rásť aj na pôdach s nízkymi hodnotami pH ak má poskytnutý zdroj dusíka, čo môže byť zabezpečené introdukciou kmeňov *S. meliloti*, ktoré majú zlepšenú kapacitu na kolonizáciu v kyslých pôdach (HOWIESON a kol., 2000). Tolerancia *S. meliloti* ku kyslému prostrediu v kultivačnom médiu a v pôde sa považuje za užitočné kritérium pre selekciu kmeňov so zvýšeným prežívaním v poľnohospodársky kyslých pôdach (Del PAPA a kol., 2003).

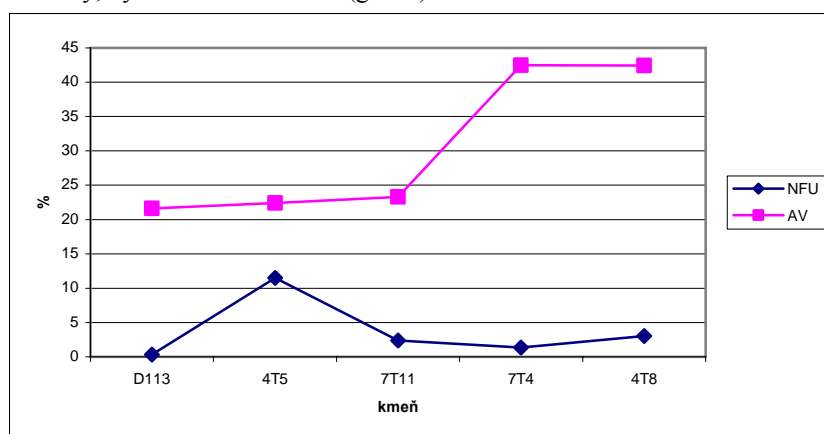
Cieľmi programov zameraných na výskum symbiotickej fixácie dusíka vo svete sú najmä zvýšenie konkurenčnej schopnosti rizóbií v inokulatoch oproti rizóbiám prítomným v pôde, redukcia inhibičného vplyvu dusíka, identifikácia faktorov spôsobujúcich nízku účinnosť fixácie vzdušného dusíka pri leguminózach, vývoj takých kombinácií rastlinná odroda – rizobiálny kmeň, ktoré sú odolné k environmentálnym stresom negatívne ovplyvňujúcich nodulačnú schopnosť a fixáciu N_2 (napr. kyslé pôdy, vysoké teploty a prítomnosť toxických prvkov), identifikácii génov zúčastňujúcich sa na interakcii medzi hositeľskou rastlinou a nitrogénym kmeňom a alokácii metabolitov vznikajúcich vo väzbe na biologickú fixáciu dusíka (BORDELEAU, PRÉVOST, 1994; SLATTERY a kol., 2001).

Materiál a metódy

Do experimentov na hodnotenie nodulačnej schopnosti a vplyvu inokulácie nitrogénymi baktériami na rastlinný genotyp v podmienkach nízkeho pH v pôde boli použité tri typy geneticky modifikovaných klonov lucerney satej: 1. s vneseným génom *Ov* z prepelice japonskej (*Coturnix coturnix*) kódujúci bielkovinu ovalbumín (MUCHA a kol., 1991): GTL1/105-3 a GTL1/111-1, 2. s vneseným génom pre plášťovú bielkovinu vírusu mozaiky lucerney AMVsp-s (KÚDELA a GALLO, 1995): A5-3-3, GTL4/402-2 a GTL4/404-1 a 3. s vnesenými markerovými génmi (*npt II* a *gus*): GTL5/401-1 a GTL5/409-1. Ako kontrola bola do pokusu zahrnutá aj parentálna nemodifikovaná línia SE/22-GT2. Ako pestovateľský substrát sme použili: 1. kyslú pôdu dovezenú z katastra obce Pribilina (pH = 4) s prídavkom živín P, K, Mg podľa BURDONA a kol. (1999) a 2. neutrálnu pôdu zo záhrady VÚRV Piešťany (pH = 7). Klony boli inokulované vyselektovanými kmeňmi druhu *S. meliloti* 4T5, 7T4, 7T11 a 4T8, vyznačujúcimi sa vysokou toleranciou voči nízkemu pH v *in vitro* testovacom systéme a jedným štandardným kmeňom D113, pričom do experimentu bol zahrnutý aj variant inokulovaný sterilným fyziologickým roztokom. Rastliny lucerney boli pestované v klimatizovanej kultivačnej miestnosti pri relatívnej vzdušnej vlhkosti 75 %, fotoperióde 16 h, teplote 23 °C v plastových nádobách, usporiadané v randomizovaných blokoch.

Výsledky

Variabilita absolútnej suchej hmotnosti nadzemnej hmoty (ďalej len hmotnosť NH) bola štatisticky významne podmienená rastlinným genotypom, inokuláciou a pôdnym substrátom (ANOVA, $p < 0,001$). Vo všeobecnosti sa najvyššou priemernou hodnotou hmotnosti suchej NH znaku vyznačovali geneticky modifikované klony lucerny s vneseným *AMV* sp-s génom, a to o 8 % vyššou hmotnosťou v porovnaní s klonmi s vneseným *Ov* génom a až o 22 % v porovnaní s líniami obsahujúcimi markerové gény v neutrálnej pôde. Inokulácia selektovanými nitrogénymi kmeňmi zvýšila hmotnosť NH o 40 (neutrálnej pôde) až 87 (kyslá pôda) %. Maximálnou agronomickou výkonnosťou (42 %), vyjadrenou pomerom rozdielov absolútnej sušiny NH inokulovanej a neinokulovanej varianty ku neinokulovanej kontrole, sa vyznačovali kmene 7T4 a 4T8 (graf 1). Najvyššou hmotnosťou koreňa sa vyznačovali klony GTL1/105-3 v neutrálnej pôde a GTL4/402-2 v kyslej pôde. Inokulácia kmeňmi *S. meliloti* zvýšila hmotnosť koreňov o 25 % v porovnaní s neinokulovanou variantou. Počet hrčiek na koreňoch bol štatisticky významne ovplyvnený rastlinným genotypom aj inokulačným kmeňom (ANOVA, $p < 0,05$). Najviac nasadených hrčiek bolo pozorovaných na koreňoch klonu GTL4/402-2. Inokulácia kmeňmi *S. meliloti* zvýšila počet hrčiek o 184 (kmeň D113) až 331 (kmeň 7T11) %. Najvyšším počtom hrčiek sa vyznačovali opäť klony s *AMV* sp-s génom, ktorých nodulácia presahovala klony s *Ov* génom o 85 % a klony s markerovými génmi o 77 %. Najvyššou aktivitou hrčiek z celkového počtu sa takisto vyznačovali klony s vneseným génom pre plášťovú bielkovinu vírusu mozaiky lucerny, na ktorých bolo od 70 do 81 % aktívnych hrčiek z celkového počtu. Pri všetkých hrčkách bez ohľadu na rôzny typ genetickej modifikácie, použitú inokulačnú suspenziu alebo pestovateľský substrát prevládala guľovitý tvar. Najvyšším obsahom N-látok sa vyznačoval klon GTL/111-1 a rastliny inokulované selektovaným kmeňom 4T5. Inokulácia kmeňom 4T5 zvýšila celkový obsah N-látok v nadzemnej hmote lucerny o 12 % v porovnaní s neinokulovanou kontrolou. Najvyššiu priemernú hodnotu celkových dusíkatých látok dosahovali geneticky modifikované klony lucerny s vneseným *Ov* génom a markerovými génmi v neutrálnej i v kyslej pôde. Maximálnu N_2 -fixačnú účinnosť (11,48 %), počítanú ako pomer zvýšenia celkového obsahu N v nadzemnej biomase inokulovanej varianty k celkovému obsahu kontrolnej neinokulovanej varianty, vykazoval kmeň 4T5 (graf 1).



Graf 1: Porovnanie fixačnej účinnosti dusíka (NFU) a agronomickej výkonnosti (AV) pri vybraných kmeňoch *Sinorhizobium meliloti*

Diskusia

Zvýšenie produktivity poľnohospodárskych plodín v podmienkach zvýšeného environmentálneho stresu je možné pomocou šľachtienia rastlín odolnejších k abiotickému stresu. Úspešnosť tradičného šľachtienia je však často limitovaná v dôsledku toho, že a) tolerancia k rôznym formám abiotického stresu je zvyčajne kontrolovaná viacerými génmi (t.j. polygénne) a ich simultánna selekcia je obtiažna (FLOWERS a kol., 2000), b) je potrebné veľké úsilie na elimináciu nežiadúcich génov, ktoré sa tiež inkorporujú počas šľachtienia (RICHARDS, 1996) a c) je nedostatok efektívnych selekčných postupov na výber rastlín tolerantných k abiotickým stresom, zvlášť v poľných podmienkach (RIBAUT a kol., 1997).

Geneticko-inžinierske postupy ponúkajú alternatívne prístupy pre tvorbu a štúdium rastlín tolerantných k abiotickým stresom. Všeobecne sa udáva, že na rozdiel od klasického šľachtienia sú geneticko-inžinierske postupy rýchlejšie a presnejšie, pretože obchádzajú transfer neželaných chromozómových oblastí (CUSHMAN, BOHNERT, 2000). Jednou z úloh pre naplnenie týchto požiadaviek je aj determinácia či geneticky modifikované a izogénne nemodifikované rastliny majú jedinečné bakteriálne populácie rizosféry spojené s nimi a zistiť potenciál účinku genotypu transgénnych rastlín na homeostázu pôdneho ekosystému (O'CALLAGHAN, GLARE, 2001; GERMIDA, 2004).

Záver

Čo sa týka porovnania všetkých troch geneticky modifikovaných klonov lucerny a izogénnej nemodifikovanej línie SE22/GT2, vo všetkých znakoch dosahovala nemodifikovaná línia nižšie priemerné

hodnoty sledovaných znakov až na počet hrčiek. Počet hrčiek bol pri nemodifikovaných líniiach vyšší o 8 % v porovnaní s klonmi obsahujúcich *Ov* gén a o 3 % vyšší oproti klonom nesúcim markerové gény. Naopak, modifikované klony lucerny s *AMV* sp-s génom mali v porovnaní s izogénnou nemodifikovanou líniou vyšší počet hrčiek až o 71 %.

V experimente boli vyselektované genotypy GTL4/402-2 a GTL4/404-1, ktoré oba nesú *AMV* sp-s gény a sú charakterizované dobrou nodulačnou schopnosťou v neutrálnej i v kyslej pôde. Ako vysokoúčinný kmeň s dobrou toleranciou voči nízkemu pH jednak v *in vitro* testovacom systéme a jednak priamo v kyslom pôdnom substráte bol identifikovaný kmeň 4T8.

Literatúra

1. BORDELEAU, L. M. – PRÉVOST, D.: Plant and Soil, 161, 1994, s. 115-125
2. BURDON, J. J. – GIBSON, A. H. – SEARLE, S. D. – WODS, M. J. – BROCKWELL, J.: J. of Appl. Ecol., 36, 1999, s. 398-408
3. CUSHMAN, J. C. – BOHNERT, H. J.: Curr. Opin. Plant Biol., 3, 2000, s. 117-124
4. DEL PAPA, M. F. – PISTORIO, M. – BALAGUÉ, L. J. – DRAGHI, W. O. – WEGENER, C. – PERTICARI, A. – NIEHAUS, K. – LAGARES, A.: Biol. Fertil. Soils, 39, 2003, s. 112-116
5. FLOWERS, T. J. – KOYAMA, M. L. – FLOWERS, S. A. – SUDHAKAR, C. – SINGH, K. P. – YEO, A. R.: J. Exp. Bot., 51, 2000, s. 99-106
6. GERMIDA, J.: Proc. 8th Int. Symp. Biosafety of GMO, Sept. 26-30, 2004, Montpellier, France, s. 206-209
7. HOWIESON, J. G. – ÓHARA, G. W. – CARR, J.: Field Crop Research, 65, 2000, s. 107-122
8. KÚDELA, O. – GALLO, J.: Acta Virologica, 39, 1995, s. 131-135
9. MUCHA, J. – KLAUDINY, J. – KLAUDINYOVÁ, V. – HANES, J. – ŠIMÚTH, J.: Nucleic Acids Res., 18, 1991, s. 5553
10. ÓCALLAGHAN, M. – GLARE, T. R.: New Zeland Plant Prot., 54, 2001, s. 105-110
11. RIBAUT, J. M. – JIANG, C. – GONZALES-DE-LEON, D. – EDMEADES, G. O. – HOISINGTON, D. A.: Tudor. Appl. Genet., 94, 1997, s. 887-896
12. RICHARDS, R. A.: Plant Growth Regulat., 20, 1996, s. 157-166
13. SLATTERY, J. F. – COVENTRY, D. R. – SLATTERY, W. J.: Austral. J. of Experiment. Agricul., 41, 2001, s. 289-298

Adresa autora:

Natália Faragová, Juraj Faragó, SCPV- VÚRV Piešťany, Oddelenie poľnohospodárskych biotechnológií, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, e-mail: faragova@vurv.sk, farago@vurv.sk

ADVENTÍVNA REGENERÁCIA VÝHONKOV Z INTERNODÁLNYCH EXPLANTÁTOV CHMEĽU OBYČAJNÉHO (*HUMULUS LUPULUS* L.) V *IN VITRO* KULTÚRE

ADVENTIVE SHOOT REGENERATION FROM INTERNODA EXPLANTS OF HOP (*HUMULUS LUPULUS* L.) IN *IN VITRO* CULTURE

Juraj FARAGÓ^{1,2} – Ľubomíra GAŠPÁRKOVÁ² – Natália FARAGOVÁ¹

*We studied the callogenic and organogenic competence of hop (*Humulus lupulus* L.) internodal and leaf-blade explants cultured either in continuous dark or in a 16 h photoperiod on two types of culture media (MSWS + 2 mg.l⁻¹ BAP + 2 mg.l⁻¹ 2,4-D, or MSWS + 2 mg.l⁻¹ BAP + 2 mg.l⁻¹ NAA, respectively). The results showed, that both the explants readily produced calli around the wound sites (89-100%), while organogenesis occurred in lower frequency. Root formation was dependent on the culture conditions and on the auxin present in the culture medium, reaching the maximum of 87% from leaf segments cultured on medium with BAP+NAA in photoperiod. Adventitious shoot formation was dependent mainly on the explant type, giving the highest frequency of shoot regeneration of 62% from internode-derived explants cultured on medium supplemented with BAP+NAA in conditions of photoperiod.*

Key words: hop, culture medium, explant type, culture conditions, callogenesis, organogenesis, multiple shoot formation

Úvod

Chmeľ obyčajný (*Humulus lupulus* L.) je popínaná rastlina patriaca do čeľade konopovitých, *Cannabaceae*. Po stáročia sa pestoval pre jeho význam v pivovarníckom priemysle. Chemické komponenty lupulínových žliazok, nachádzajúcich sa v šišticiach chmeľu, najmä živice (α - a β -horké kyseliny) a esenciálne oleje (humulén, myrcén, farnézén a karyofylén), totiž dodávajú pivu typickú horkosť a vôňu (SÁŠIN, 1996; De KEUKELEIRE, 2000). Dlhšie boli známe liečivé účinky lupulínu (napr. KRESÁNEK a KREJČA, 1982). V posledných rokoch sa však objavujú práce, ktoré stavajú chmeľ do úplne iného uhlu pohľadu, než je tradičné použitie v pivovarníckom priemysle (STEVENS a kol., 1998; MILLIGAN a kol., 2002; POSSEMIERS a kol., 2006 a iní). V laboratóriách rôznych pracovísk boli pri rôznych chemických komponentoch chmeľu, najmä tých obsiahnutých v lupulínových žliazkach, zistené rôzne biologické účinky a aktivity, napr. protivírusové aktivity, antimikrobiálne účinky, antioxidačné účinky, estrogénne účinky a antiproliferatívne a antikancerogénne účinky (FARAGÓ a kol., 2004).

Napriek svojmu významu, nie je veľa prác, ktoré sa zaoberajú *in vitro* kultúrou chmeľu. *In vitro* kultivácia explantátov bola použitá na získavanie bezvírusových rastlín meristémovou kultúrou (ADAMS a kol., 1975), na mikropropagáciu najmä meriklonov (ROY a kol., 2001) a bunkovú suspenznú kultúru pre biochemické štúdie (TREVISAN a kol., 1997). Aj vzhľadom na obsah zdraviu prospešných látok (najmä prenylovaných flavonoidov) je v súčasnosti zvýšený záujem o genetickú transformáciu chmeľu a zvýšenie obsahu napr. xantohumolu metódami metabolického inžinierstva (HORLEMANN a kol., 2003; E. SEIGNER, osobná komunikácia).

Predpokladom pre získanie transgénnych rastlín chmeľu je však vhodný, vysokoúčinný *in vitro* regeneračný systém. Regenerácia rastlín chmeľu v *in vitro* kultúre prostredníctvom somatickej embryogenézy zatiaľ nebola opísaná a prác týkajúcich sa adventívnej regenerácie výhonkov organogenezou je tiež veľmi málo (napr. RAKOUSKÝ a MATOUŠEK, 1994; BATISTA a kol., 1996; GURRIARÁN a kol., 1999).

Cieľom našej práce bolo otestovať organogénnu schopnosť dvoch druhov explantátov chmeľu pestovaných v *in vitro* kultúre na dvoch druhoch živného média a v dvoch odlišných kultivačných podmienkach.

Materiál a metódy

Východiskovým zdrojom explantátov pre experimenty boli v *in vitro* podmienkach uchovávané výhonkové kultúry bezvírusového meristémového chmeľu obyčajného (*H. lupulus* L.) genotypu K-72/6/13. Z výhonkov pestovaných na živnom médiu MSW₀A 6-10 týždňov boli odoberané dva druhy explantátov: stonkové (internodálne) segmenty (StS) veľkosti 7±2 mm a segmenty listových čepelí (LS) veľkosti 20-25 mm². Explantáty boli nasádzané na povrch živných médií MSWS (MURASHOGE a SKOOG, 1962; WETMORE a SOROKIN, 1955) doplnených kombináciou cytokinínu 6-benzylaminopurín (BAP) a auxínom buď kyselinou 2,4-dichlórfenoxyoctovou (2,4-D), alebo kyselinou α -naftyloctovou (NAA) v koncentráciách 2 mg.l⁻¹. Explantáty boli kultivované v Petriho miskách (PM) s \varnothing 10 cm (24 explantátov/PM) v dvoch rôznych kultivačných podmienkach, a to buď v nepretržitej tme pri teplote 27±1°C, alebo v podmienkach fotoperiody 16 h svetlo/8 h tma pri teplotách 25°C (svetlo)/20°C (tma). Po 48 dňoch kultivácie explantátov boli vyhodnocované parametre tvorby kalusu a organogenézy, vrátane rastových parametrov kultúr. Okrem frekvencií výskytu kalusu, koreňov a výhonkov boli stanovené: intenzita kalogenézy ($I_K = (n_0 \times 0 + n_1 \times 1 + n_2 \times 3 + n_3 \times 5) / (n_0 + n_1 + n_2 + n_3)$), pričom n_0, n_1, n_2, n_3 sú počty explantátov tvoriacich kalus na základe stupnice: žiadna=0, slabá=1, priemerná=3 a intenzívna=5) a intenzita rizogenézy ($I_R = (n_0 \times 0 + n_1 \times 1 + n_2 \times 3 + n_3 \times 5) / (n_0 + n_1 + n_2 + n_3)$), pričom n_0, n_1, n_2, n_3 sú počty explantátov tvoriacich korene na základe stupnice: žiadna=0, slabá=1, priemerná=3 a intenzívna=5).

Výsledky a diskusia

Na použitých živných médiách organogénezy z kultivovaných explantátov predchádzala tvorba relatívne pomaly rastúceho bielo- a bieložltého sfarbeného kompaktného kalusu. Kalogenéza explantátov sa vyskytovala vo vysokej frekvencii 89-100%. Adventívnu organogénnu sa častejšie tvorili korene (už od druhého týždňa kultivácie explantátov) a menej často *de novo* výhonky (od 3-4 týždňa kultivácie explantátov). Na tvorbu koreňov vplývalo najmä zloženie živného média z hľadiska použitého auxínu (Tab. 1). Zatiaľ čo na médiu MSWS

doplnenom cytokinínom BAP v kombinácii s auxínom 2,4-D sa tvorili korene zriedka (0-7,5%), aj to iba pri explantátoch kultivovaných v tme, na médiách s BAP+NAA bola rizogenéza oveľa intenzívnejšia: 18-25% v podmienkach fotosyntézy a 56-87% v tme. Adventívna regenerácia výhonkov bola pozorovaná najmä pri StS pestovaných ako na médiu s BAP+2,4-D (v tme), tak aj na médiu s BAP+NAA (v podmienkach fotoperiody). Pri LS bola pozorovaná adventívna regenerácia výhonkov v nižšej frekvencii na médiu MSWS s prídavkom BAP+NAA a pestovaných v 16 h fotoperiód. Najvyššiu frekvenciu adventívnej regenerácie výhonkov (62%) sme pozorovali pri stonkových segmentoch pestovaných na médiu s rastovými regulátormi BAP+NAA a pestovaných v 16 h fotoperiód (Tab. 1). Uvedené výsledky sú porovnateľné s výsledkami Batista a kol. (1996), ktorí pri vysoko-responzivnom španielskom genotype *Bragança* dosiahli na médiu s 2 mg.l⁻¹ BAP + 0,025 mg.l⁻¹ IAA *de novo* regeneráciu výhonkov z petiolárných a stonkových explantátov chmeľu vo frekvenciách 72%, resp. 59%. Nižšiu frekvenciu regenerácie adventívnych výhonkov (29-60%) dosiahli GURRIARÁN a kol. (1999) použitím Adamsovho média s prídavkom 1 mg.l⁻¹ BAP a 0,1 mg.l⁻¹ IBA.

Tabuľka 1: Kalogenéza a organogenéza z dvoch druhov explantátov chmeľu obyčajného genotypu K-72/6/13 kultivovaných *in vitro* na dvoch druhoch živných médií a v rôznych kultivačných podmienkach 48 dní po iniciácii kultúry

Explantát	Kultivačné podmienky	Koncentrácia rastových regulátorov v živnom médiu ³ (mg.l ⁻¹)			Počet hodnotených explantátov	Frekvencia Kalogenézy (%)	Frekvencia rizogenézy (%)	Frekvencia adventívnej regenerácie (%)
		BAP ⁴	2,4-D ⁵	NAA ⁶				
stonkové segmenty ¹	tma	2	2	0	66	98,5	1,5	4,5
		2	0	2	59	100	55,9	0
	fotoperiód	2	2	0	60	100	0	0
		2	0	2	60	100	25,0	61,7
listové segmenty ²	tma	2	2	0	67	100	7,5	0
		2	0	2	60	100	86,7	0
	fotoperiód	2	2	0	54	88,9	0	0
		2	0	2	60	100	18,3	11,7

Legenda: ¹ internodálne segmenty dlhé 7±2 mm kultivované horizontálne na povrchu živného média; ² odrezky listových čepelí veľkosti ≈ 25 mm² kultivované abaxiálnou stranou v kontakte so živným médiom; ³ monerálne zloženie MS podľa Murashige a Skoog (1962); ⁴ 6-benzylaminopurín; ⁵ kyselina 2,4-dichlórfenoxyoctová; ⁶ kyselina α-naftyloctová

Záver

Bol vyvinutý *in vitro* regeneračný systém umožňujúci adventívnu regeneráciu výhonkov chmeľu obyčajného z explantátov neobsahujúcich apikálne alebo axilárne meristémy. Najvyššia frekvencia *de novo* organogenézy (62%) bola dosiahnutá pri pestovaní stonkových (internodálnych) explantátov v podmienkach 16 h fotoperiody na médiu obsahujúcom rastové regulátory BAP a NAA v koncentráciách 2 mg.l⁻¹. Regenerácia na takejto úrovni umožňuje použiť tento systém na genetickú transformáciu chmeľu prostredníctvom *Agrobacterium tumefaciens*.

Literatúra

- Adams, A.N.: In: Journal of Horticultural Science, 50, 1975, s. 151-160.
- Batista, D. – Sousa, M.J. – Pais, M.S.: In: In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant, 32, 1996, s. 37-41.
- De Keukeleire, D.: Química Nova, 23, 2000, s. 108-112.
- Faragó, J. – Šramková, Z. – Pšenáková, I. – Faragóová, N. – Múčková, M.: In: Zb. z odb. sem. „Nové poznatky z genetiky a šľachtienia poľnohospodárskych rastlín“, VÚRV Piešťany, 2004, s. 62-65.
- Gurriarán, M.J. – Revilla, M.A. – Tamés, R.S.: In: Plant Cell Reports, 18, 1999, s. 1007-10011.
- Horlemann, C. – Schwekendiek, A. – Höhnle, M. – Weber, G.: In: Plant Cell Reports, 22, 2003, s. 210-217.
- Kresánek, J. – Krejča, J.: Atlas liečivých rastlín a lesných plodov. Osveta, n. p., Martin 1982. 768 s. ISBN 70-010-82.
- Murashige, T. – Skoog, F.: In: Physiologia Plantarum, 15, 1962, s. 473-497.
- Possemiers, S. – Bolca, S. – Grootaert, C. – Heyerick, A – Decroos, K. – Dhooge, W. – De Keukeleire, D. – Rabot, S. – Verstraete, W. – Van de Viele, T.: The Journal of Nutrition, 136, 2006, s. 1862-1867.
- Rakouský, S. – Matoušek, J.: In: Biologia Plantarum, 36, 1994, s. 191-200.
- Roy, A.T. – Leggett, G. – Koutoulis, A.: In: In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant, 37, 2001, s. 79-83.
- Sásin, A.: In: Zb. z odb. konf. „Chmeliarstvo na Slovensku“, RPPK, Trenčín, 1996, s.4-13.
- Stevens, J.F. – Miranda, C.L. – Buhler, D.R. – Deinzer, M.L.: Journal of American Society of Brewing Chemists, 56, 1998, s. 136-145.
- Trevisan, M.T.S. – Scheffer, J.J.C. – Verpoorte, R.: In: Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 48, 1997, s. 121-126.
- Wetmore, R.H. – Sorokin, S.: In: Journal of Arnold Arboretum, 36, 1955, s. 305-317.

Adresy autorov:

¹SCPV, Výskumný ústav rastlinnej výroby, Odd. poľnohospodárskych biotechnológií, Bratislavská cesta 122, 921 68, Piešťany;
²Univerzita Sv. Cyrila a Metoda, Fakulta prírodných vied, Katedra biotechnológie Námestie Jozefa Herdu 2, 917 01 Trnava;
 Korešpondencia: RNDr. Juraj Faragó, CSc (E-mail: farago@vurv.sk)

TECHNOLÓGIE A OBLASTI KONTROLY KVALITY A BEZPEČNOSTI RASTLINNÝCH KOMODÍT, KRMÍV A BIOPRODUKTOV

TECHNOLOGIES AND AREAS OF QUALITY AND SAFETY CONTROL OF PLANT COMMODITIES, FEEDINGSTUFFS AND BIOPRODUCTS

Miroslava FEKETOVÁ – Michaela HUDECOVÁ – Ľubomír HORVÁTH

Department of Molecular Biology of the Central Control and Testing Institute for Agriculture provides testing of the presence of genetically modified plants (GMOs) and plant components in plant varieties, seeds, mercantile, feedstuffs and selected foods by using of molecular techniques (polymerase chain reaction - PCR).

PCR tests were performed for various products for the presence of various GMOs in maize, rapeseed and other species. Sensitivity of the qualitative methods is about 0,1% of GMOs contents in the sample. Positive results are compared with international GMOs standards of different GMOs contents. The specificity of PCR test is checked by set of positive and negative controls. Positive PCR fragments are confirmed by the RLFP analysis. Quantification of GMOs is realised using real-time PCR. For the real-time PCR analysis, analytical data collection and enumeration of the quantitative values of GMO contents in samples, LightCycler real-time PCR system with usage of CRM IRMM GMO calibration standards and LC Software 4.0. and real-time PCR system ABI Prism® 7900HT Sequence Detection System in relative or absolute quantification mode with usage of CRM IRMM GMO calibration standards and ABI Software Sequence Detection System 2.3. is used.

Key words: genetically modified organism, GMOs, PCR.

Úvod

Oddelenie molekulárnej biológie, Skúšobné molekulárno-biologické laboratórium ÚKSÚP vykonáva skúšanie odrôd, osív, sadív, merkantilu, rastlinného tovaru, bioproduktov, krmív, potravinových vstupov a bioproduktov, skúšky geneticky modifikovaných organizmov, skúšky zdravotného stavu rastlín a skúšky rastlinných patogénov za účelom registrácie, certifikácie a štátnej odbornej kontroly podľa zákonov č. 470/2002 Z.z., ktorým sa mení a dopĺňa zákon č. 291/1996 Z.z. o odrodách a osivách, zákona č. 295/2007 Z.z. o rastlinolekárskej starostlivosti, zákona č. 271/2005 Z.z. o výrobe, uvádzaní na trh a používaní krmív, zákona č. 421/2004 Z.z. o ekologickom poľnohospodárstve, zákona č. 151/2002 Z.z. o používaní genetických technológií a geneticky modifikovaných organizmov, v znení zákona č. 77/2005 Z.z., zákona č. 184/2006 Z.z. o pestovaní geneticky modifikovaných rastlín v poľnohospodárskej výrobe a súvisiacich predpisov, ktorými sa ustanovujú kvalitatívne a kvantitatívne parametre a kritériá, obsah nežiaducich a karanténnych organizmov, podmienky odberu a metódy skúšania. Stanovujú sa biochemické, molekulárno-biologické, genetické a mikrobiologické charakteristiky, vlastnosti a zdravotný stav vyššie uvedených komodít, výrobkov a surovín.

Oddelenie molekulárnej biológie, Skúšobné molekulárno-biologické laboratórium ÚKSUP je od 9.2.2007 akreditovaným pracoviskom v zmysle normy STN EN ISO IEC 17025:2005.

Ročne sa na oddelení molekulárnej biológie analyzuje viac ako 400 vzoriek na prítomnosť GMO, viac ako 350 vzoriek na prítomnosť a identifikáciu fytopatogénov a asi 200 vzoriek na elektroforetické stanovenie odrodovej čistoty a homogenity.

Materiál a metódy

Analýzovaný materiál : sója, kukurica, repka, krmivá a bioprodukty

Metódy detekcie GMO:

1. Screeningová metóda pre detekciu GMO
 - Detekcia CaMV 35S promotora a NOS terminatora PCR/RLFP technikami
 - Detekcia GM rastlín s využitím génu neomycín fosfotransferázy (nptII)
2. Špecifické metódy pre detekciu GMO
 - Kvalitatívna identifikácia lektínovej a RoundUp Ready sójovej DNA PCR/RLFP technikami
 - Kvalitatívna identifikácia HMG a LibertyLink T25 kukuričnej DNA PCR/RLFP technikami
 - Kvalitatívna identifikácia HMG a Maximizer Bt176 kukuričnej DNA PCR/RLFP technikami
 - Kvalitatívna identifikácia HMG a YieldGard MON 810 kukuričnej DNA PCR/RLFP technikami
 - Kvalitatívna identifikácia HMG a Bt 11 a Bt 10 kukuričnej DNA PCR/RLFP technikami
 - Kvalitatívna identifikácia HMG a RoundUp Ready Ga21 kukuričnej DNA PCR/RLFP technikami
 - Kvalitatívna identifikácia HMG a Starlink kukuričnej DNA PCR/RLFP technikami
3. Špecifická detekcia CaMV vírusu PCR technikou
4. Kvantitatívne stanovenie obsahu GMO
 - Kvantitatívne stanovenie obsahu GM sóje event: RR Soya a Soya event 356043,
 - Kvantitatívne stanovenie obsahu GM kukurice event: Bt11, Bt176, MON 810, Ga 21, T25, NK603, MON863, TC1507, MON863 x MON810, MON863 x NK603, MIR604, Maize event 59122,
 - Kvantitatívne stanovenie obsahu GM repky event: Ms8, Rf3, Ms8 x Rf3, T45, RT73
 - Kvantitatívne stanovenie obsahu GM zemiakov event: EH92-527-1

Kvantitatívne stanovenie obsahu GM cukrovej repy event: H7-1

Princíp skúšobných metód:

Izolácia a purifikácia DNA. Vzorka je homogenizovaná a DNA izolovaná a purifikovaná podľa štandardného operačného postupu: ŠOP/SMBL/02/06/A. Použité kontroly: extrakčná pozitívna kontrola (kontrola metódy), extrakčná negatívna kontrola (kontrola kontaminácie) na kontrolu izolácie a purifikácie DNA.

Kvalitatívne stanovenie GMO: Príprava PCR reakcie, verifikácia PCR amplikónov gélovou elektroforézou, analýza PCR produktov boli vykonané podľa príslušného ŠOP. Použité kontroly: PCR pozitívna kontrola (kontrola metódy), PCR negatívna kontrola (kontrola metódy, kontrola kontaminácie), vodná kontrola (kontrola kontaminácie), spiková kontrola (kontrola inhibície PCR-doporučená kontrola).

Kvantitatívne stanovenie obsahu GMO vo vzorke: Príprava real-time PCR reakcie, analýzy PCR produktov a stanovenie obsahu GMO vo vzorke boli vykonané podľa príslušného ŠOP. Na stanovenie relatívneho obsahu GMO vo vzorke, definované ako pomer obsahu GMO špecifického a referenčného génu rastliny, bola použitá kalibračná krivka a kvantitatívne CRM. K výsledku stanovenia sa priradí neistota merania pre $k=2$. Použité kontroly: PCR pozitívna kontrola (kontrola metódy), PCR negatívna kontrola (kontrola metódy, kontrola kontaminácie), vodná kontrola (kontrola kontaminácie).

Výsledky a diskusia

Obr.1 Kvalitatívna identifikácia LibertyLink T25 a Maximizer Bt176 kukuričnej DNA

1. gél: detekcia HMG – génu 120bp – kontrolná reakcia, detekcia. Bt 176 – 211 bp – špecifická reakcia
2. gél: detekcia T25 – 196 bp – špecifická reakcia, detekcia HMG – génu 120bp – kontrolná reakcia

Obr.2 Špecifická detekcia CaMV vírusu

1. gél: detekcia vírusu CaMV, pozitívny fragment CRT – 191 bp
2. gél: stanovenie koncentrácie DNA

Obr.3: Kvantitatívne stanovenie obsahu GM RR sóje– RT PCR systém Light Cycler

Obr.4: Kvantitatívne stanovenie obsahu GM kukurice NK 603 – RT PCR systém ABI Prism® 7900HT

Záver

Prítomnosť modifikovanej (transgénnej DNA) v analyzovanom materiáli je indikovaná detekciou špecifického DNA fragmentu charakteristickej veľkosti. Tento typ fragmentu sa nevyskytuje v materiáli, ktorý nie je geneticky modifikovaný. Veľkosť fragmentu sa určuje porovnaním s dĺžkovým štandardom a veľkosťou fragmentu amplifikovaného z kontrolnej modifikovanej DNA. Pri hodnotení výsledkov musia byť vyhodnotené aj negatívne kontroly, blank a samotná amplifikovateľnosť izolovanej DNA. Pozitívne výsledky sú verifikované RLFP technikami.

Na vlastnú real-time PCR analýzu, zber analytických dát a výpočet kvantitatívnych hodnôt obsahu GMO vo vzorkách sa používa LightCycler real-time PCR systém s použitím LC Software, verzia 4.0. a real-time PCR systém ABI Prism® 7900HT Sequence Detection System a ABI Software Sequence Detection System, verzia 2.3., s použitím CRM IRMM GMO kalibračných štandardov alebo CRL plazmidov.

Literatúra

1. PIETSCH, K. – WAIBLINGER, U. – BRODMANN, P. - WURZ A.: Screeningverfahren zur Identifizierung gentechnisch veraendelter Lebensmittel, Deutsche Lebensmittel Rundschau Heft 2, 1997, 35-38.
2. HEMMER, W.: Foods Derived from Genetically Modified Organism and Detection Methods, 1997.
3. NIEDERHAUSER, C. - GILGEN, M. - MEYER, R.: Gentechnologisch veraenderte pfanliche Lebensmittel: Stand der anwendungsorientierten Forschung und potentielle Nachweismoglichkeiten mit molekularbiologischen Methoden., Mitt. Gebiete Lebensm. Hy. 87, 1996, 307-367.
4. ALLMAN, M. - CANDRIAN, U. - HOEFELIE, C. - LUETHY, J.: Polymerase Chain Reaction (PCR): a possible alternative to immunochemical methods assuring safety and quality of food Z. Lebensm. Unters. Forsch. 196, 1993, 248-251.
5. European Commission Joint Research Centre (JRC) in ISPRA in collaboration with the JRC in Geel, Screening method for the identification of genetically modified organism (GMO) in food, Detection of the CAMV 35S promoter and NOS terminator by means of polymerase chain reaction (PCR), 2000.
6. Gene Scan Europe GMOScreen Advanced Screening System Basic, Test Kit for the qualitative screening on GMO's carrying the CaMV 35S-Promoter and/or NOS-Terminator, c/o Hanse Analytik GmbH, Germany.

Adresa autorov:

Mgr. Miroslava FEKETOVÁ, Mgr. Michaela HUDECOVÁ, Lubomír HORVÁTH,
Ústredný kontrolný a skúšobný ústav poľnohospodársky, Oddelenie molekulárnej biológie NRL,
Hanulova 9/A, 841 01 Bratislava.

MIKROSATELITNÉ ANALÝZY GENETICKEJ DIVERZITY GENOTYPOV JAČMEŇA MICROSATELLITE ANALYSES OF GENETIC DIVERSITY OF BARLEY GENOTYPES

Želmíra GREGÁŇOVÁ – Martin VIVODÍK – Zdenka GÁLOVÁ

For the detection of genetic diversity and for the discrimination of the thirty barley genotypes four microsatellite markers were used. Four primer pairs amplified altogether 23 different polymorphic alleles with an average number of 5,75 alleles per locus. The number of allele ranged from two (locus HVCMA) to eleven (locus HVRCABG). All four primer pairs were polymorphic and produced reproducible data. The diversity index (DI), the polymorphic information content (PIC) and probability of identity (PI) of the tested SSR markers was calculated. The diversity index of the tested SSR markers ranged from 0,291 to 0,866 with an average of 0,623 which is generally considered sufficient for this purpose. The lowest probability of identity of random barleys was at the locus HVRCABG. For the assessment of genetic diversity the dendrogram based on UPGMA cluster analysis was prepared. Thirty genotypes were grouped into two main clusters. It was possible to distinguish only 20 of 30 barley cultivars that could be due to low number of used microsatellite markers. For better differentiation it is necessary to use more polymorphic microsatellite markers. Results showed the utility of microsatellite markers for detection of genetic polymorphism leading to genotype identification and for estimation of genetic diversity of barley genotypes.

Key words: Hordeum vulgare L., microsatellite, PIC, polymorphism, differentiation

Úvod

Jačmeň siaty (*Hordeum vulgare* L.) je diploidný druh s počtom chromozómov $2x = 2n = 14$ a patrí medzi najdôležitejšie rastliny pestované na Slovensku (HOLKOVÁ et al., 2003).

Mikrosatelity sú jednoduché repetitívne sekvencie dlhé iba niekoľko básových párov (1–6). Sú to markery genómovo špecifické s kodominantnou dedičnosťou. Kvôli ich jednoduchému použitiu, založenému na polymerázovej reťazovej reakcii (PCR), sa stávajú veľmi užitočným nástrojom na štúdium genetických vzťahov medzi druhmi, populáciami a odrodami. Na jačmeni boli mikrosatelitné analýzy študované len v posledných rokoch (BECKER, HEUN, 1995; RUSSELL et al., 1997; MACAULAY et al., 2001; BAEK et al., 2003; KRAIC, 2005). Na Slovensku mikrosatelitné analýzy boli použité na diferenciaciu odrôd pšenice (GREGÁŇOVÁ et al., 2005), jačmeňa (KRAIC, 2005), cícera (JOMOVÁ et al., 2005). Mikrosatelitné analýzy preukázali vysoký stupeň polymorfizmu, schopnosť detekcie heterozygotov i heterogenitu (BAEK et al., 2003). Tieto markery sú reprodukovateľné medzi laboratóriami a analýzy čím ďalej viac automatizované, preto je možné pomocou týchto markerov analyzovať veľký súbor genotypov a vytvoriť databázy na základe detegovaných mikrosatelitných alel (BAEK et al., 2003).

Cieľom práce bolo detekovať genetický polymorfizmus 30 genotypov jačmeňa siateho pomocou štyroch mikrosatelitných markerov, ktoré publikoval a opísal BECKER a HEUN (1995) resp. MACAULAY et al. (2001).

Materiál a metódy

Na analýzy bol použitý súbor 30 genotypov jačmeňa siateho jarnej aj ozimnej formy poskytnutý ÚKSUP Bratislava. Celková rastlinná DNA bola izolovaná z mladých 7–10 dňových listov pšenice kombináciou dvoch izolačných postupov – podľa DELLAPORTU et al. (1983) a GRANERA et al. (1990). Analýzy mikrosatelitov boli uskutočnené podľa BECKER a HEUN (1995) resp. podľa MACAULAY et al. (2001) pri mikrosatelite *Bmag211*. Polymerázové reťazové reakcie (PCR) boli uskutočnené v objeme 20 μ l v MJ PTC 200 termocykleri. Na detekciu PCR produktov, mikrosatelitných alel boli použité 6 % denaturované PAGE gély a vizualizované boli striebrom (BASSAM et al., 1991).

Výsledné PCR produkty v polyakrylamidových géloch boli naskenované a vyhodnotené. Výsledný dendrogram bol zostrojený hierarchickou klastrovou analýzou využitím UPGMA algoritmu v programe SPSS verzia 8.0.

Z počtu alel detegovaných pre každý mikrosatelit boli vypočítané frekvencie jednotlivých alel a následne indexy diverzity (DI), pravdepodobnosti identity (PI) a polymorfické informačné obsahy (PIC) podľa RUSSELL et al. (1997).

Výsledky a diskusia

Na diferenciaciu 30 genotypov jačmeňa boli použité 4 páry primerov, ktoré publikovali BECKER a HEUN (1995) resp. MACAULAY et al. (2001) pri mikrosatelite *Bmag211*, ktoré boli navrhnuté ku trom dokonalým mikrosatelitom ($(AT)_9$, $(AT)_{29}$, $(CT)_{16}$ (pri *Bmag211*) a k jednému zloženému mikrosatelitu $(TG)_6(G)_{14}$ (pri *HVGNIRE*). Všetky štyri páry primerov amplifikovali jeden lokus. Spolu na všetkých 4 lokusoch bolo detegovaných 23 alel. Priemerný počet alel na lokus bol 5,75 (tab. 1). Počet alel sa pohyboval v rozmedzí od 2 do 11. Najvyšší počet alel (11) bol detegovaný v lokuse *HVRCABG*. Kodominantná povaha mikrosatelitných markerov umožňuje detekciu heterozygotného stavu. V dvoch lokusoch (*HVCMA*, *HVGNIRE*) boli zistené u jedného genotypu dve alely s rôznymi veľkosťami. Pri troch lokusoch boli získané

hodnoty PIC a DI väčšie ako 0,6 (tab. 1), čo poukazuje na vysokú diferenciálnu schopnosť mikrosatelitných markerov. Podobné hodnoty PIC a DI získal KRAIC (2005) i GREGÁŇOVÁ et al. (2005).

Na základe veľkostí mikrosatelitných alel pre každý zo štyroch lokusov bol hierarchickou klastrovou analýzou využitím UPGMA algoritmu zostrojený dendrogram, ktorý naznačuje genetické vzťahy medzi sledovanými genotypmi. Skúmané genotypy jačmeňa bolo možné rozdeliť do dvoch hlavných skupín, pričom prvá skupina zahŕňa 4 genotypy a druhá skupina 26 genotypov, ktoré bolo možné ďalej rozdeliť do menších podskupín. V dendrograme sa podarilo odlišiť 20 z 30 genotypov. Na úplnú diferenciáciu všetkých genotypov jačmeňa je potrebné uskutočniť viac analýz s väčším počtom mikrosatelitných markerov, čo najviac polymorfických.

Tabuľka 1: Prehľad počtu získaných mikrosatelitných alel, vypočítané hodnoty PIC, DI, PI.

SSR marker	Počet	DI	PI	PIC
<i>HVCMA</i>	2	0,291	0,545	0,248
<i>HVGNIRE</i>	6	0,711	0,074	0,694
<i>HVRCABG</i>	11	0,866	0,008	0,866
<i>Bmag211</i>	4	0,624	0,188	0,567
priemer	5,75	0,623	0,204	0,594

Záver

Spomedzi DNA techník v súčasnosti využívaných na jačmeni, najvyšší polymorfizmus bol pozorovaný pri mikrosatelitných analýzach, čo potvrdili aj naše výsledky. Mikrosatelitné analýzy poukázali na možnosť detekcie genetického polymorfizmu medzi vybranými genotypmi jačmeňa, pomocou ktorého je možné identifikovať genotypy a zároveň detegovať heterozygotov. Dendrogram získaný z klastrovej analýzy demonštruje využiteľnosť mikrosatelitných markerov pri štúdiu genetickej diverzity sledovaných genotypov jačmeňa, na úplnú diferenciáciu všetkých genotypov je potrebné uskutočniť viac analýz s väčším počtom markerov čo najviac polymorfických.

Literatúra

1. BAEK, H. – BEHARAV, A. – NEVO, E. 2003. Ecological-genomic diversity of microsatellites in wild barley, *Hordeum spontaneum*, populations in Jordan. In *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 106, 2003, no. 3, p. 1524-1532
2. BASSAM, B. J. – CAETANO-ANOLLES, G. – GRESSHOFF, P. M. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. In *Anal. Biochem.*, 196, 1991, 80-83.
3. BECKER, J. – HEUN, M. 1995. Barley microsatellites: allele variation and mapping. In *Plant Mol. Biol.*, vol. 27, 1995, p. 835-845.
4. DELLAPORTA, S.L. – WOOD, J. – HICKS, J.B. 1983. Plant DNA minipreparation: version II. In *Plant Mol Biol Rep*, 1, 1983, 19-21
5. GREGÁŇOVÁ, Ž. – KRAIC, J. – GÁLOVÁ, Z. 2005. Effectiveness of microsatellites in differentiation of elite wheat cultivars. In *Biologia*, vol. 60, 2005, p.665-670.
6. HOLKOVÁ, S. et al. 2003. Jačmeň. *Biológia, pestovanie a využívanie*. Nitra: AGROGENOFOND n.o. Nitra. 2003, 193 s. ISBN 80-969068-2-8.
7. JOMOVÁ, K. – BENKOVÁ, M. – ŽÁKOVÁ, M. – TREFOVÁ, E. – KRAIC, J. 2005. Clustering of chickpea (*Cicer arietinum* L.) accessions. In *Genetic Resources and Crop Evolution*, vol. 52, 2005, p. 1039-1048.
8. KRAIC, J. 2005. Relevancy of genomic and gene-based variation in distinguishing of elite barleys. In *Biologia*, vol. 60/6, 2005, p. 675-680.
9. MACAULAY, M. – RAMSAY, L. – POWELL, W. et al. 2001. A representative, highly informative genotyping set of barley SSRs. In *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 102, 2001, no. 4, p. 801-809.
10. RUSSELL, J. – FULLER, J. – YOUNG, G. et al. 1997. Discriminating between barley genotypes using microsatellite markers. In *Genome*, vol. 40, 1997, p. 442-450.

PodĎakovanie: Práca bola podporená projektom Vedeckej grantovej agentúry SR VEGA č. 1/3474/06 a projektom grantovej agentúry SPU č. 717/05310.

Adresa autorov:

Prof. RNDr. Zdenka Gálová, CSc., Mgr. Želmíra Gregánová, PhD., Ing. Martin Vivodík, Katedra biochémie a biotechnológie, FBP SPU v Nitre, Tr.A.Hlinku 2, 949 76 Nitra, t.č.: 037/6414327
e-mail: Zelmira.Greganova@uniag.sk

REAKCIA TRITORDEA, JAČMEŇA SIATEHO A PŠENICE TVRDEJ NA ABIOTICKÉ STRESY

REACTION OF TRITORDEUM, SPRING BARLEY AND DURUM WHEAT TO THE ABIOTIC STRESSES

Jozef GUBIŠ – Katarína BOJNANSKÁ – Štefan MASÁR – Viera ČERVENÁ

*The main objective of this study was to determine the germination and morphological responses of three cereal species (tritordeum, spring barley and durum wheat) to drought and salinity stress. Seed germination and seedling growth were assessed under controlled conditions that simulated drought stress using mannitol (0 – 300 mM) and salinity using NaCl (0 – 400 mM). Drought stress affected seed germination and seedling development when exposed to higher osmotic potential, that is -0.18 MPa and -0.4MPa induced by mannitol and sodium chloride, respectively. Strong genotype- and species-conditioned reaction in growth and the weight of roots and sprouts was confirmed. In barley, tolerant reaction was detected in genotypes OUH 802 (*H. vulgare* spp. *agriocrithon*), CI 9820 (*H. vulgare* spp. *vulgare*), SK – 5451, SK – 5104 and Ezer (*H. vulgare*). In tritordeum, no significant differences were observed in water deficit between the given genotypes. The genotype most sensitive to the stress conditions was the wheat cultivar Soldur.*

Key words: stress, manitol, NaCl, in vitro

Úvod

Najzávažnejším environmentálnym problémom našej planéty v súčasnosti sú globálne klimatické zmeny. Nepriaznivé enviromentálne stresy ako chlad, sucho a zasolenie majú výrazný vplyv na poľnohospodársku produkciu a udržateľnosť produkcie. Z týchto nepriaznivých faktorov sú najdôležitejšie sucho (BOYER, 1982) a zasolenie pôd (CLARK, DUNCAN, 1993). Je preto cieľom šľachtiteľov šľachtiť a selektovať materiály odolné voči týmto stresom.

Cieľom tejto práce bolo zistiť klíčivosť a morfológické reakcie tritordea, jačmeňa siateho a pšenice tvrdej na sucho a zasolenosť v *in vitro* podmienkach.

Materiál a metódy

Odolnosť materských genotypov jačmeňa siateho (SK – 5451, SK – 5526, SK – 5104, Pribina, Ezer a CI 9820) divých druhov jačmeňa (*H. chilense*, OUH 802, Y-19-1 a Y-27-1), tritordea (HTC 1380, HTC 1331, HTC 1324, HTC 1323, HT 31-1, HTC 31-2, HT 31-4, HT 129 a HT 119) a pšenice tvrdej (Soldur) sa v laboratórnych podmienkach hodnotila pri rôznych koncentráciách manitolu a NaCl. Osivo testovaných genotypov sa 15 min sterilizovalo 2,5 % roztokom chlóraminu, 3x prepláchno v sterilnej vode, osušilo a použilo sa pre výsev na testovacích miskách s vodným agarom a rôznymi koncentraciami manitolu (0 – 300 mM) a NaCl (0 – 400 mM). Testovacie misky sa po výseve kultivovali v termostate 5 dní pri teplote 20±1 °C. Počas kultivácie sa zaznamenávala klíčivosť osiva jednotlivých genotypov v % a po 5. dňoch sa merala dĺžka a hmotnosť koreňov a klíčkov. Percentuálne hodnoty boli transformované použitím $\arcsin \sqrt{x}$. Údaje boli spracované štatistickým softvérom SPSS (13.0) a vykonala sa ANOVA ($P \leq 0,05$) s následným testom podľa Duncana.

Výsledky a diskusia

V laboratórnych podmienkach sa v podmienkach *in vitro* uskutočnili rýchle skríningové testy na vodný stres (suchovzdornosť) a zasolenosť u 10-tich genotypoch jačmeňa, 9-tich genotypoch tritordea a 1 genotypu tvrdej pšenice. Pre sledovanie účinku vodného stresu na inhibíciu rastu koreňov a klíčenie sme použili rôzne koncentrácie manitolu (0, 100 a 150 mM) a NaCl (0, 200 a 400 mM). Sledovanie fyziologických ukazovateľov 3 rôznych druhov obilnín v podmienkach *in vitro* potvrdilo rozdiely v ich základných ukazovateľoch a to v hmotnosti v čerstvom stave a dĺžke koreňov resp. klíčkov. Signifikantné rozdiely boli zaznamenané pri všetkých hodnotených znakoch iba po pridaní NaCl do kultivačného média. Naopak, po pridaní osmotika manitolu sme signifikantné rozdiely zaznamenali iba pri dĺžke a hmotnosti klíčkov. Vysoké percento klíčivosti pri oboch použitých osmotikách si udržiavali iba genotypy jačmeňa (SK – 5451 a SK – 5104) a genotypy tritordea (HTC 1380, HTC 1331, HTC 1324, HTC 1323 a HTC 31-2). Klíčivosť pri genotypoch jačmeňa bola v rozsahu 92-97 % (NaCl) a 98-100 % (manitol). Klíčivosť genotypov tritordea bola v rozsahu 85-97 % (NaCl) a 95-100 % (manitol). Najväčší vplyv na klíčivosť genotypov mal nižší osmotický potenciál NaCl -0,8 MPa (400 mM), ktorý bol preukazný ako pri genotypoch, tak aj medzi jednotlivými druhmi. Najväčší vplyv vodného stresu na priemernú klíčivosť sa prejavil pri odrode Soldur (17 % NaCl a 28 % manitol).

Pokles percenta klíčivosti so zvyšujúcou sa zasolenosťou sa uvádza pri tritikale (NORLYN, EPSTEIN, 1984), lucerne (HEFNY, DOLINSKI, 1999), šaláte (COONS *et al.*, 1990), uhorke (CHARTZOULAKIS, 1992) a jačmeni (DONOVAN, DAY, 1969). Podobne uvádza ALLEN *et al.* (1986), že percento klíčivosti všetkých šiestich skúmaných populácií lucerney poklesol, ak klesol osmotický potenciál na hodnoty -1,0 až -1,6 MPa NaCl.

V priemere bola dĺžka koreňov voči kontrole pri navodení stresu manitolom o 16,50 % pri 100 mM (resp. -0,12 MPa), o 30,67 % pri 150 mM (resp. -0,18 MPa) nižšia a hmotnosť o 23,47 % 100 mM a o 34,74 % pri 150 mM nižšia. Podstatne väčší vplyv na dĺžku a tvorbu koreňov mala prítomnosť NaCl v kultivačnom médiu. V priemere bola dĺžka koreňov voči kontrole o 89,82 % pri 200 mM (-0,4 MPa) a o 98,44 % pri 400 mM (-0,8 MPa) menšia. Vodný stres sa tiež prejavil aj pri hmotnosti koreňov, kde redukcia hmotnosti bola o 85,16 % pri 200 mM a o 94,83 % pri 400 mM nižšia. Rovnaký vplyv stresového faktora v médiu (NaCl) bol zaznamenaný aj pri hodnotení inhibície rastu klíčkov. V percentuálnom vyjadrení ide o 90,33 – 97,80 % (200 – 400 mM) inhibíciu dĺžky a o 89,79 – 96,94 % (200 – 400 mM) inhibíciu hmotnosti klíčkov.

Taktiež z vizuálneho hodnotenia semien bol evidentný vplyv vodného stresu na tvorbu koreňov, ktorý sa prejavoval najmä tvorbou abnormálnych koreňov. Tento znak tvorby abnormálnych koreňov bol zaznamenaný vo väčšej miere pri podmienkach so znižujúcim osmotickým potenciálom v kultivačnom médiu spôsobený aplikáciou NaCl.

Z predchádzajúcich štúdií vyplýva, že pšenica je mierne tolerantnou plodinou na zasolenie (MAAS, HOFFMAN, 1977). Tvrdá pšenica (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) je oproti pečárenskej pšenici menej tolerantná voči zasoleniu, podobne ako kukurica (*Zea mays*) a proso (*Sorghum bicolor*) (MAAS, HOFFMAN, 1977), zatiaľ čo jačmeň má relatívne vysokú úroveň tolerance voči zasoleniu (KARIM *et al.*, 1994). K rovnakým záverom sme dospeli i my v našej práci.

Záver

V našich experimentoch sa potvrdila výrazná genotypovo resp. druhovo podmienená reakcia v raste a hmotnosti koreňov a taktiež aj klíčkov. V rámci druhu jačmeňa tolerantnú reakciu vykazovali genotypy OUH 802 (*H. vulgare* spp. *agriocrithon*), CI 9820 (*H. vulgare* spp. *vulgare*), SK – 5451, SK – 5104 a Ezer (*H. vulgare*). Medzi tritordeami sme nezaznamenali výraznejšie rozdiely na vodný deficit medzi jednotlivými genotypmi. Najcitlivejším genotypom na podmienky stresu so zvýšeným osmotickým potenciálom v kultivačnom médiu bola odroda pšenice tvrdej Soldur.

PodĎakovanie

Táto práca bola podporovaná finančnými prostriedkami štátnej úlohy výskumu a vývoja Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky číslo 2005 UO 27/050 02 06/050 02 06.

Literatúra

1. ALLEN, S.G. – DOBRENZ, A.K. – BARTELS, P.G.: Physiological response of salt-tolerant and nontolerant alfalfa to salinity during germination. *Crop Science* 26, 1986, 1004–1008.
2. BOYER, J.S.: Plant productivity and environment. *Sci.*, New Series 218, 1982, 443–448.
3. CLARK, R.B. – DUNCAN, R.R.: Selection of plants to tolerate soil salinity, acidity, and mineral deficiencies. *International Crop Science* 1, 1993, 371–379.
4. COONS, J.M. – KUEHL, R.O. – SIMONS, N.R.: Tolerance of ten lettuce cultivars to high temperature combined with NaCl during germination. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 115, 1990, 1004–1007.
5. DONOVAN, T.J. – DAY, A.D.: Some effects of high salinity on germination and emergence of barley (*Hordeum vulgare* L. emend Lam.). *Agronomy Journal* 61, 1969, 236–238.
6. HEFNY, M.M. – DOLINSKI, R.: The ability of germination of alfalfa (*Medicago sativa* L. sensu lato) cultivars under salinity. *Plant Breeding and Seed Science* 43, 1999, 39–46.
7. CHARTZOULAKIS, K.S.: Effect of NaCl salinity on germination, growth and yield of greenhouse cucumber. *Journal of Horticultural Science* 67, 1992, 115–119.
8. KARIM, M.A. – NAWATA, E. – SHIGENAGA, S.: Responses of hexaploid triticale, wheat, rye and barley to salinity in relation to grain yield. *Japanese Journal of Tropical Agriculture* 38, 1994, 16–25.
9. MAAS, E.V. – HOFFMAN, G.J.: Crop salt tolerance – current assessment. *Journal of the Irrigation and Drainage Division of the American Society of Civil Engineering* 103, 1977, 115–134.
10. NORLYN, J.D. – EPSTEIN, E.: Variability in salt tolerance of four triticale lines at germination and emergence. *Crop Science* 24, 1984, 1090–1092.

Adresa autorov:

Ing. Jozef Gubiš; Ing. Katarína Bojnanská; Ing. Štefan Masár, CSc.; RNDr. Viera Červená; Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu - Výskumný ústav rastlinnej výroby, Oddelenie aplikovanej genetiky, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, tel.: + 421 33 77 22 311, fax: + 421 33 77 26 306, e-mail: gubis@vurv.sk, bojnanska@vurv.sk, masar@vurv.sk, cervena@vurv.sk

ODOLNOSŤ GENOTYPOV OVSA SIATEHO VOČI HUBOVÝM CHOROBÁM RESISTANCE OF OAT GENOTYPES TO FUNGAL DISEASES

Jozef GUBIŠ – Katarína BOJNANSKÁ – Štefan MASÁR – Peter HOZLÁR – Daniela DVONČOVÁ

The objective of our work was to evaluate the resistance of 28 genotypes of oats to the most important fungal diseases. The evaluation was done by means of field trials conducted at two localities in Slovakia. Significant differences were detected among the genotypes when evaluating the non-specific resistance. The reaction of the genotypes differed in the field conditions due to the fact that the occurrence of oat powdery mildew and crown rust was higher when compared with the occurrence leaf blotches complex. No symptoms of powdery mildew were visible in field trials at locality Vígľaš-Pstruša. All genotypes of the evaluated set were resistant to the leaf blotches complex despite of the higher attack of the registered cultivar Avenuda. High level of resistance to leaf blotches complex in field conditions was detected in the genotype Caleche. Genotype Avenuda showed high level of resistance to powdery mildew. High levels of AUDPC to powdery mildew were observed in the genotypes Atego, Flämingsstern and breeding materials PS-137, PS-131, PS-138, PS-122 and to crown rust in the genotypes Euro and Atego.

Key words: Avena sativa L., disease, oats, resistance

Úvod

Ovos siaty (*Avena sativa* L.) je v poradí treťou najpestovanejšou obilninou po pšenici a jačmeni. Počas svojho vývinu v prirodzených podmienkach prostredia býva ovplyvňovaný množstvom faktorov, či už pôdno-klimatickými podmienkami alebo výskytom patogénnych mikroorganizmov. Najvýznamnejšie choroby napádajúce ovos v našich podmienkach sú hrdza ovsená, listové škvrnitosti, medzi ktoré patrí hnedá škvrnitosť ovsa a septória ovsená, ďalej sú to múčnatka trávová na ovse a prašná sneť ovsená. Hnedá škvrnitosť ovsa (*Drechslera avenae* (Eidam) Scharif, teleomorfa *Pyrenophora avenae* Ito & Krib.) a septória ovsená (*Septoria avenae* (A.B. Frank) Bissett) sú nekrotrofné parazity spôsobujúce značné straty na úrode a to najmä v regiónoch s chladnejšími klimatickými podmienkami (HARDER, HABER, 1992). Za nepriaznivých podmienok môže *P. avenae* spôsobiť straty na úrode až do výšky 50 %. Patogén je extrémne škodlivý u silno napadnutých rastlín, u ktorých nedozrievajú zrná (WELSH *et al.*, 1953). Najdôležitejším obligátnymi patogénmi sú hrdza ovsená (*Puccinia coronata* Corda (*syn. Puccinia coronata* f. sp. *avenae*.) a múčnatka trávová na ovse (*Blumeria graminis* D.C. f. sp. *avenae* Em. Marchal) (HARDER, HABER, 1992, ŠEBESTA *et al.*, 1996).

Cieľom našej práce bolo zhodnotiť rezistenciu voči najdôležitejším hubovým ochoreniam u 28 genotypov.

Materiál a metódy

Hodnotené boli registrované odrody nahého ovsa (Avenuda, Detvan a Izak), plevnatého ovsa (Auron, Zlaták, Ardo, Zvolen, Flämingsstern, Kanton, Atego a Euro), novošľachtence (PS-107 (Vendelín), PS-119 (Valentín), PS-121, PS-122, PS-127, PS-128, PS-129, PS-130, PS-131, PS-132, PS-133, PS-134, PS-135, PS-136, PS-137 a PS-138) a genotyp Caleche pochádzajúci z Génovej banky Piešťany, Slovensko. Poľná odolnosť sa hodnotila na dvoch lokalitách - Vígľaš-Pstruša a Borovce. Napadnutie listovými škvrnitosťami a múčnatkou trávovou sa v poľných podmienkach hodnotilo ako percento napadnutej plochy. V súbore odrôd a novošľachtencov ovsa bolo napadnutie múčnatkou trávovou a listovými škvrnitosťami hodnotené v troch termínoch. Pri hrdzi ovsenej sa hodnotilo napadnutie vrchných listov v percentách, ktoré boli hodnotené v dvoch termínoch. Zo získaných hodnôt sa počítala plocha pod krivkou vývoja choroby (AUDPC). Genotypy boli vysiate v 2 opakovaníach.

Percentuálne hodnoty boli transformované použitím arcsin \sqrt{x} . Analýza variácie získaných alebo zistených hodnôt (ANOVA pre $P \leq 0,05$) s následným testom LSD bola spracovaná štatistickým programom SPSS (13.0).

Výsledky a diskusia

V roku 2007 sa v lokalitách Vígľaš-Pstruša a Borovce zhodnotila rezistencia voči hrdzi ovsenej a komplexu listových škvrnitostí (patogény *Pyrenophora avenae* Ito & Krib a *Stagonospora avenae* (A.B. Frank)) a na lokalite Borovce voči múčnatke trávovej na ovse u 28 genotypov ovsa. V rámci hodnotenia napadnutia sa ako parameter pre vyhľadávanie rezistentných genotypov ovsa použili hodnoty AUDPC. Viacfaktorovou analýzou rozptylu sa zistili signifikantné rozdiely medzi genotypmi, medzi opakovaniami sa nepreukázali významné rozdiely a s malou významnosťou bola zistená interakcia genotyp x opakovanie. Najodolnejší voči múčnatke trávovej bol ovos nahý Avenuda, ktorý sa signifikatne odlišoval takmer od všetkých sledovaných genotypov okrem odrôd Izak, Auron a novošľachtenca PS-119 (Valentín). Medzi najnáchylnejšie odrody patrili Atego a Flägminstern a novošľachtence PS-137, PS-131, PS-138 a PS-122.

Napriek skutočnosti, že ovos je voči hubovým chorobám značne rezistentný, medzi hodnotenými genotypmi sa zistili významné rozdiely v rezistencii voči komplexu listovým škvrnitostiam. Rovnako sa

zistili významné rozdiely aj medzi hodnotenými lokalitami. Avšak nebola zistená významná interakcia medzi genotypom a lokalitou. Genotyp Caleche bol v oboch lokalitách plne odolný. Naopak, v porovnaní s múčnatkou trávovou najzávažnejšie napadnutý bol genotyp Avenida. Náchylnými genotypmi boli ešte PS 129, PS 135 a Detvan.

Najnáchylnějšíe odrody voči hrdze ovsenej boli Euro a Atego, ktoré sa zároveň signifikantne odlišovali aj od náchylnej kontrolnej odrody Caleche. Viacfaktorovou analýzou rozptylu sa zistili signifikantné rozdiely medzi lokalitami a medzi genotypmi, avšak nebola zistená interakcia genotyp x opakovanie.

Napriek niektorým sporadickým správam ohľadom komplexu listových škvrnitostí (ŠEBESTA et al., 1996; ŠEBESTA et al. 2001; JALLI, 2004; PETROVA et al., 2006), informácie v tejto oblasti sú nedostatočné. V našej práci sa zistili genotypy ovsu rezistentné voči múčnatke, hrdzi ovsenej a *Pyrenophora avenae* alebo *Stagonospora avenae*, čo sa zhoduje s výsledkami vyššie zmienených autorov.

Záver

V poľnej rezistencii boli pri hodnotení nešpecifickej rezistencie zistené signifikantné rozdiely medzi genotypmi. Reakcia genotypov sa v poľných podmienkach líšila v tom, že výskyt múčnatky trávovej na ovsu a hrdze ovsenej bol oproti komplexu listových škvrnitostí vyšší. Napriek nižšiemu napadnutiu komplexom listových škvrnitostí, šľachtienie ovsu na zlepšenie rezistencie voči najzávažnejším patogénom naďalej zostáva prioritou v našich šľachtiteľských programoch. Informácie o populáciách patogéna a tiež o možných zdrojoch rezistencie sú pre úspešnú šľachtiteľskú stratégiu dôležité.

PodĎakovanie

Táto práca bola podporovaná finančnými prostriedkami štátnej úlohy výskumu a vývoja Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky číslo 2006 UO 27/091 05 01/091 05 11.

Literatúra

1. HARDER, D.E. – HABER S. (1992): Oat diseases and pathological techniques. In: Oat science and technology. Agron. Monogr. 33. Edited by Marshall H.G. and Sorrells M.E. American Society of Agronomy, Inc., Madison, Wisc., and Crop Science Society of America, Inc. Madison, Wisc., 1992, 307-425.
2. JALLI, M. (2004): First studies on the virulence spectrum of Finnish *Drechslera avenae* isolates. In: Proceedings 7th International Oat Conference. Agrifood Research Reports 51. MTT Agrifood Research Finland, FIN-31600 Jokioinen, Finland, Ed. Peltonen-Sainio P., Topi-Hullni M., 2004, 185.
3. PETROVA, O.S. – AFANASENKO, O.S. (2003): Metody opredelenija virulentnosti griba *Drechslera avenae* i ustojčivosti sortov ovsu k krasno-buroj piatnistosti listjev. Vest. Zasc. Rast., 1, 63-66.
4. PETROVA, O.S. – AFANASENKO, O.S., LOSKUTOV, I.G. (2006): Oat Resistance to *Pyrenophora avenae* Ito et Kurib. Oats Newsletter, 50, 2006 (http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/oatnewsletter/v50/Helminosp_artic.html)
5. ŠEBESTA, J. – ZWATZ, B. – HARDER, D.E. – CORAZZA, L. – RODERICK, H. W. – STOJANOVIC, S. (1996): Incidence and resistance of oats to fungus diseases in Europe in 1988-1994. Plant Protect. Sci., 32, 103-113.
6. ŠEBESTA, J. – ZWATZ, B. – RODERICK, H.W. – CORAZZA, L. – STARZYK, M.H. – REITAN, L. – LOSKUTOV, I.G. (2001): Incidence of *Pyrenophora avenae* Ito et Kurib. in Europe between 1994-1998, and the varietal reaction of oats to it. Plant Protect. Sci., 37, 91-95.
7. WELSH, J.N. – CARSON, R.B. – CHEREWICK, W.J. – HAGBORG, W.A.F. – PETURSON, B. – WALLACE, H.A.H. (1953): Oat varieties – past and present. Canada Dept. Agric., Ottawa, Ontario, Publ. 891, 1953, 51.

Adresa autorov:

Ing. Jozef Gubiš; Ing. Katarína Bojnanská; Ing. Štefan Masár, CSc.; SCPV – Výskumný ústav rastlinnej výroby, Oddelenie aplikovanej genetiky, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, e-mail: gubis@vurv.sk, bojnanska@vurv.sk, masar@vurv.sk; Ing. Peter Hozlár; Daniela Dvončová; SCPV – Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany – Výskumno-šľachtiteľská stanica Vígľaš-Pstruša, 962 02 Vígľaš – Pstruša, e-mail: hozlar@vurv.sk, dvoncova@vurv.sk

HODNOTENIE GENETICKEJ PRÍBUZNOSTI MEDZI KULTIVARMÍ ĽUĽKA ZEMIAKOVÉHO POUŽITÍM METÓDY AMPLIFIKÁCIE JEDNÉHO RETROTRANSPOZÓNOVÉHO PRAJMERA EVALUATION OF GENETIC RELATIONSHIPS AMONG POTATO CULTIVARS USING RETROTRANSPONON BASED SINGLE PRIMER AMPLIFICATION REACTION METHOD

Ján HELDÁK – Milan BEŽO – Veronika ŠTEFÚNOVÁ – Andrea GALLIKOVÁ – Mária ŽÁKOVÁ

*Molecular markers are widely used tools for estimation of genetic diversity and examination of genetic relationships of many agricultural crops. The retrotransposon based Single Primer Amplification reaction (SPAR) method was employed to assess genetic diversity and relationships among 17 potato varieties (*Solanum tuberosum*, L.). In total 15 primers were designated from sequences of *Tst1* (*Ty1-copia*) and *PORE2* (*Ty3-gypsy*) potato retrotransposons and all of them were polymorphic. Genetic relationships among potato cultivars were evaluated by generating proximity matrix based on Jaccard coefficients ranking from 0,091 to 1,000. The dendrogram generated by UPGMA analysis for the RLTR1 primer, designated from LTR, grouped potato cultivars into subclusters with close genetic relationships. Four varieties with ancestor "Tatranka" formed separate subcluster. Male parent "Lu 62184/130" was present in three cultivars making up another separate subcluster. Cultivar "Vila" and its male parent "Rema" were separated from previous two subclusters into new one. The retrotransposon based single primer amplification reaction (SPAR) method showed a great potential for differentiation and estimating of genetic relationships of potato cultivars for breeding purposes with very high reliability.*

Key words: potato, diversity, retrotransposon, SPAR

Úvod

Diferenciácia a identifikácia genotypov ľuľka zemiakového (*Solanum tuberosum*, L.) sa rutinne používa v produkcii sadiva a pri uchovávaní v génových bankách. Poznatky o genetických vzťahoch medzi genotypmi ľuľka zemiakového sú základným predpokladom ich využitia ako východiskového materiálu v šľachtiteľských programoch (BARONE, 2004).

Na hodnotenie genetickej diverzity v rámci populácií ľuľka zemiakového sa doteraz využilo niekoľko markerových systémov: multilokusový systém markerov, ktorý si nevyžaduje informácie o sekvenciách a metódy, v ktorých je nevyhnutné poznať sekvencie pre navrhnutie špecifických markerov (EDWARDS, McCOUCH, 2007).

Pri analýzach genómu ľuľka zemiakového boli použité viaceré PCR metódy, v ktorých sa použili prajmery odvodené z retrotranspozónov. Metódy PCR – IRAP a PCR – RBIP boli použité pri hodnotení variability pozícií *Tst1* v genóme ľuľka zemiakového a diferenciácii hybridných kombinácií s rôznou odolnosťou proti háďatku zemiakovému (BEŽO et al., 2007). Vzájomné príbuzenské vzťahy medzi nordickými genotypmi boli charakterizované metódami IRAP a REMAP (VETELÄINEN et al., 2005a; VETELÄINEN et al., 2005b). Pre hodnotenie vzťahov medzi genotypmi ľuľka zemiakového sa už využili metódy amplifikačnej reakcie s použitím jedného prajmera – SPAR (single primer amplification reaction) ako je RAPD alebo ISSR (KAUCHUCK et al., 1996; QUIROS et al., 1993; MCGREGOR et al., 2000). SPAR metóda s použitím jedného retrotranspozónového prajmera sa od predchádzajúcich metód líši tým, že prajmer bol navrhnutý zo známej sekvencie LTR úseku *Tst1* retrotranspozónu ľuľka zemiakového.

Cieľom tejto štúdie bolo zhodnotiť genetickú podobnosť odrôd ľuľka zemiakového použitím metódy SPAR, v ktorej boli použité individuálne prajmery odvodené zo známych sekvencií retrotranspozónov ľuľka zemiakového a porovnanie týchto vzťahov k pôvodom šľachtiteľských materiálov.

Materiál a metódy

V práci bolo použitých 17 odrôd ľuľka zemiakového, ktoré sa získali z gébovej banky VŠÚZ - Výskumného a šľachtiteľského ústavu zemiakárskeho, a.s., Veľká Lomnica.

Zo sekvencií *Tst1* (*Ty1-copia*) a *PORE2* (*Ty3-gypsy*) retrotranspozónov ľuľka zemiakového bolo navrhnutých 15 prajmerov a použitých pri analýze DNA využitím SPAR metódy.

Vyhodnotili sa polymorfické PCR produkty získané SPAR metódou.

Genetické vzťahy sa hodnotili multivariantnou analýzou použitím programu SPSS 8.1.

Výsledky a diskusia

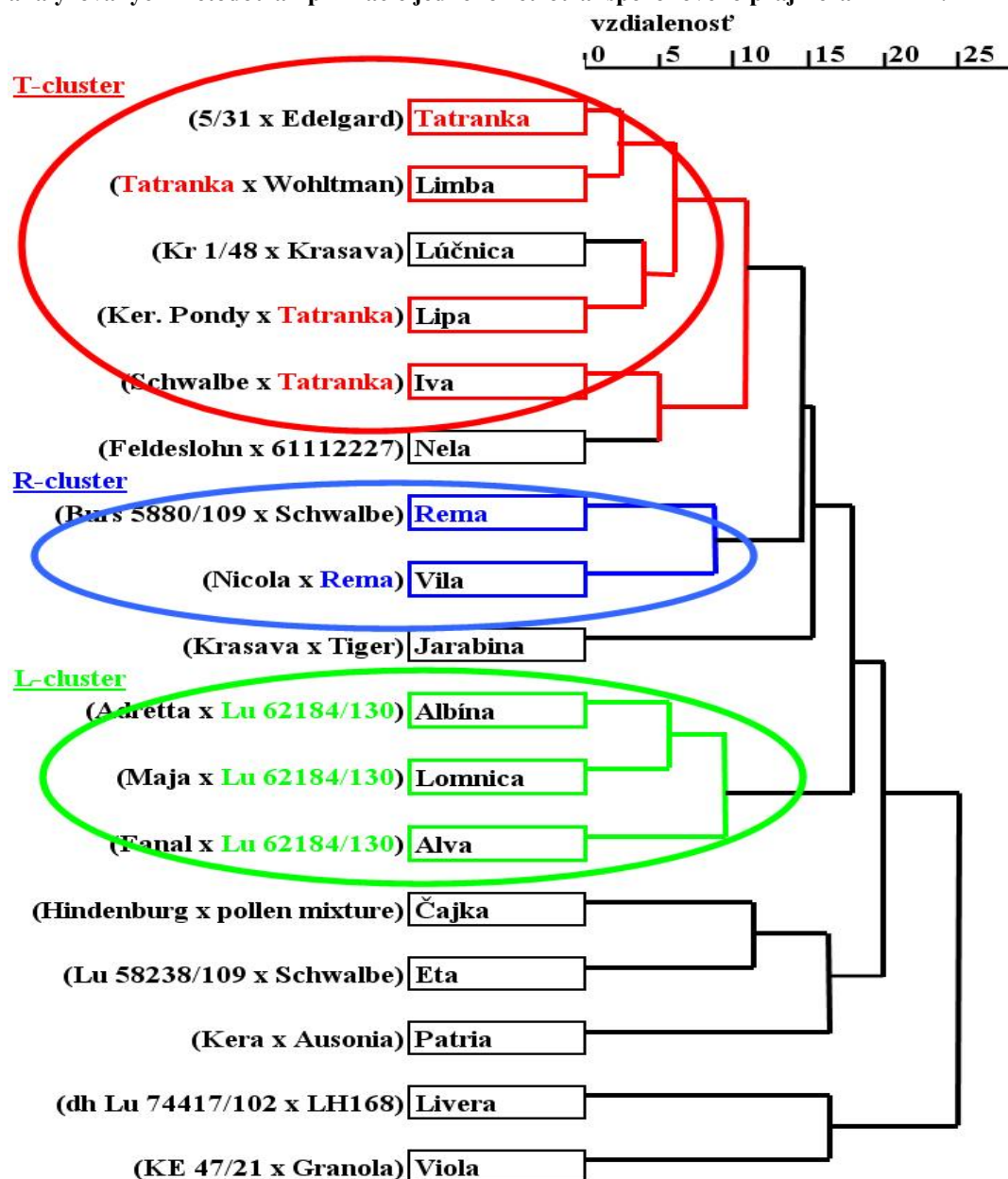
Použitím *Tst1* prajmerov v SPAR analýze sa získalo 71 jednoznačne identifikovateľných polymorfických PCR produktov. Genetická podobnosť Jaccardových koeficientov (GS_j) bola v rozsahu od 0,091 do 1,000 s priemernou hodnotou 0,572.

Dendrogram 17 odrôd ľuľka zemiakového, vytvorený na základe clusterovej analýzy GS_j koeficientov s použitím RLTR1 prajmera ukázal tri clustery asociované s tromi rovnakými rodičovskými genotypmi (obr. 1).

Štyri odrody – Tatranka, Limba, Lipa, Iva, kde v troch odrodách bol jedným z rodičovských partnerov odroda Tatranka, tvorili osobitný subcluster (T). Otcovský rodičovský partner “Lu 62184/130” bol prítomný v troch odrodách – Albína, Lomnica, Alva a vytvoril ďalší osobitný subcluster (L). Odroda “Vila” a jej otcovský rodičovský partner “Rema” boli oddelené od predchádzajúcich dvoch subclusterov do nového subclusteru (R). Ani jeden z ostatných navrhnutých prajmerov navrhnutých z LTR, ORF3 a ORF4 sekvencií *Tst1* retrotranspozónu ľuľka zemiakového neumožnili zistiť genetické vzťahy tak komplexne, ako s použitím prajmera RLTR1. Metódami IRAP a REMAP, ktoré sa použili na analýzu rovnakého súboru odrôd, bolo možné zistiť len dva príbuzenské vzťahy (HELDÁK et al., 2005).

64 polymorfických PCR produktov bolo zaznamenaných použitím prajmerov navrhnutých zo sekvencií *PORE2* retrotranspozónu a použitých v SPAR analýze. Hodnoty GS_j boli v rozsahu od 0,101 do 0,92. Dendrogramy vytvorené na základe clusterovej analýzy GS_j koeficientov neodhalili žiadne príbuzenské vzťahy medzi testovanými odrodami.

Obrázok 1: Dendrogram 17 kultivarov ľuľka zemiakového podľa koeficientov odlišnosti analyzovaných metódou amplifikácie jedného retrotranspozónového prajmera RLTR1.



Záver

Vysoká úroveň diverzity bola preukázaná priemerami 0,572 pre prajmery odvodené zo sekvencií *Tst1* retrotranspozónu and 0,473 pre prajmery odvodené zo sekvencií *PORE2* retrotranspozónu. Väčšia genetická diverzita bola zistená pomocou prajmerov odvodených zo sekvencií *Tst1* retrotranspozónu.

Najviac príbuzenských vzťahov bolo zistených použitím jedného prajmera RLTR1 odvodeného z LTR úseku *Tst1* retrotranspozónu ľuľka zemiakového.

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu vedy a techniky na základe Zmluvy č. č.APVT-27-016402 a APVT-99-027104.

Literatúra

1. BEŽO, M. – HRUBÍKOVÁ, K. – ŽIAROVSKÁ, J. – HELDÁK, J. – ŠTEFÚNOVÁ, V. 2007. Variabilita pozícií retrotranspozónu *Tst1* v genotypoch ľuľka zemiakového s rôznou odolnosťou voči háďatku zemiakovému. In: Agriculture (Poľnohospodárstvo), 2007, 53, s. 73 – 80.
2. EDWARDS, J. D. – MCCOUCH, S. R. 2007. Molecular markers for use in plant molecular breeding and germplasm evaluation. In: GUIMARAES, E.P. – RUANE, J. – SCHERF, B.D. –SONNINO, A. – DARGIE, J.D. Marker assisted selection – current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish. Rome: FAO, 2007, s.30 – 43. ISBN 978-92-5-105717-9.
3. HELDÁK, J. – BEŽO, M. – ŠTEFÚNOVÁ, V. – FORIŠEKOVÁ, K. – DEBREOVÁ, K. – GALLIKOVÁ, A. 2005. Zhodnotenie genetickej variability medzi slovenskými odrodami ľuľka zemiakového (*Solanum tuberosum*, L.) s využitím techník založených na retrotranspozónoch a mikrosatelitoch. In: BEŽO, M. – HRUBÍKOVÁ, K. – KUTIŠOVÁ, J. – ŽIAROVSKÁ, J. Zborník súhrnov z IX. vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín - BIOS 2005. Nitra: SPU v Nitre, 2005, s. 11. ISBN 80-8069-586-5.
4. KAWCHUCK, L.M. – LYNCH, D.R. – THOMAS, J. – PENNER, B. – SILITO, D. – KULSCAR, F. 1996. Characterisation of *Solanum tuberosum* simple sequence repeats and application to potato cultivar identification. *Am. Potato J.*, 73, 1996, s. 325 – 335.
5. MCGREGOR, C.E. – LAMBERT, C.A. – GREYLING, M.M. – LOUW, J.H. – WARNICH, L. 2000. A comparative assessment of DNA fingerprinting techniques (RAPD, ISSR, AFLP, and SSR) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum*, L.) germplasm. *Euphytica*, 113, 2000, s. 135 – 144.
6. QUIROS, C.F. – CEADA, A. – GEORGESCU, A. – HU, J. 1993. Use of RAPD markers in potato genetics: segregations in diploid and tetraploid families. *Am. Potato J.*, 70, s.35 – 42.
7. VETELÄINEN, M. - SCHULMAN, A. - KILBY, N. J. 2005a. Retrotransposon based assessment of genetic variability among nordic potato (*Solanum tuberosum* L.) accessions. In: Abstracts of papers and posters I. 16th Triennial conference of the EAPR, 2005, Bilbao: EJAZN-SCPGV, P27, BI- 1.687-05
8. VETELÄINEN, M. - GAMMELGÅRD, E. - KILBY, N. J. 2005b. Evaluation of genetic diversity among Nordic potato landraces using AFLPs, retrotransposon based fingerprinting and morphological traits. In: Abstracts of papers and posters I. 16th Triennial conference of the EAPR, 2005, Bilbao: EJAZN-SCPGV, P28, BI- 1.687-05

Adresa pracoviska autorov:

Ing. Ján Heldák, PhD., VŠÚZ - Výskumný a šľachtiteľský ústav zemiakársky, a.s., Popradská 518, Veľká Lomnica, PSČ 05952, heldak@sinet.sk

Prof. RNDr. Milan Bežo, CSc., Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, Nitra, PSČ 94976, Milan.Bezo@uniag.sk

Ing. Veronika Štefúnová, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, Nitra, PSČ 94976, Veronika.Stefunova@uniag.sk

Ing. Andrea Galliková, VŠÚZ - Výskumný a šľachtiteľský ústav zemiakársky, a.s., Popradská 518, Veľká Lomnica, PSČ 05952, gallikova@vsuz.sk

RNDr. Mária Žáková, CSc., Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu, Výskumný ústav rastlinnej výroby, Bratislavská cesta 122, Piešťany, PSČ 92168, zakova@vurv.sk

MINORITNÍ PLODINY PRO SPECIFICKÉ VYUŽITÍ V POTRAVINÁŘSTVÍ MINOR CROPS FOR SPECIFIC USE IN FOOD PRODUCTION

Simona HORÁČKOVÁ – Kateřina VACULOVÁ – Dagmar JANOVSÁ – Zdeněk STEHNO – Tomáš VYMYSLICKÝ

Surplus production of main crops, environmental approaches in European agriculture and claim to produce best-quality foodstuffs with health-supporting impact have led to the establishment of the EPC/GR Minor Crops Network coordinating group. Its activity is aimed at neglected and under-utilized species or varieties of crops with markedly different chemical composition, particularly with respect to their perspective use in human nutrition. The presented paper provides information on and the first results of the evaluation of gene pools diversity in neglected cereals, pseudocereals and legumes, and picking out the materials suitable not only for direct growing use as a main product (grain) but potentially as a by-product (barley -green matter). Agronomic performance and nutritional advantages of oats with different contents of fat or dietary fibre, hullless barley with increased content of polyphenolic compounds, hulled wheat forms – emmer and einkorn, millet, Tartary buckwheat and legumes (chickpea, cowpea, grass pea and pea) are discussed.

Key words: neglected under-utilized crops, cereals, pseudocereals, legumes

Úvod

Zrychlující se životní tempo přináší mnoho negativních následků, které se odráží hlavně na zdraví a nežádoucím způsobem ovlivňují kvalitu lidského života. Nevyvážená výživa je jednou z hlavních příčin vzniku civilizačních chorob (vysoký krevní tlak, zvýšená hladina cholesterolu v krvi, obezita, diabetes, atd.). Z těchto důvodů stále roste počet konzumentů ochotných obohatit nebo nahradit jednostrannou výživu nutričně a dieteticky kvalitnějšími potravinami a různými přírodními potravinovými doplňky. Cílem příspěvku je informovat o řešeném projektu, zaměřeném na zhodnocení diverzity genofondů opomíjených obilnin, pseudoobilnin a luskovin se záměrem vybrat tyto nedocenené plodiny pro pěstování v praxi a potravinářské zpracování.

Materiál a metody

Pro pokusy byly použity následující materiály

Ječmen jarní s bezpluchým typem zrna - *Hordeum vulgare* L., var. *duplinigrum* KOERN. „Abyssinian 1139“, var. *nudideficiens* KOERN. „Nudimelanocritron“, var. *nudum* „Taiga“; oves setý – *Avena sativa* L. „Ariane“, „Baragan 114“, var. *nuda* „61“; pšenice dvouzrnka – *Triticum dicoccum* SCHUEBL var. *rufum* SCHUEBL. „Rudico“, var. *dicoccum* „Kahler Emmer“; pšenice jednozrnka – *Triticum monococcum* L. var. *vulgare* KOERN. „Schwedisches Einkorn“, var. *flavescens* KOERN. „Escana“; proso – *Panicum miliaceum* L., „Veselopodolianskoe“, „Kinelskoe Skorospeloe“, „Unikum“; pohanka tatarská – *Fagopyrum tataricum* GAERTN. s označením 01Z5100007, 01Z5100014, 01Z5100019; cizrna - *Cicer arietinum* „Evros“, „Elite“, „BZ Dijon“; vřes - *Vigna catjang* (Burm.f.) Walp. „VÚPT“; hrách – *Pisum sativum* „Kapucin“; hrachor – *Lathyrus sativus* „Bílé Karpaty“.

Pokusy byly založeny v letech 2006-2007 na pozemcích v lokalitách Kroměříž, VÚRV Praha Ruzyně a VÚPT Troubsko po vhodné předplodině. Byla použita optimální technologie s omezenými chemickými vstupy, tzv. režim „low input“, s aplikací minerálního hnojiva před základní orbou na podzim. Během vegetace byly u jednotlivých sledovaných materiálů individuálně hodnoceny biologické, morfologické a hospodářské znaky podle klasifikátorů IPGRI a národního klasifikátoru pro rody *Hordeum*, *Avena* a *Triticum* a národních klasifikátorů pro proso, pohanku a luskoviny.

Výsledky a diskuse

Stručná charakteristika studovaných plodin je uvedena v Tab. 1 a v dalších tabulkách, grafech a fotografiích v prezentovaném posteru.

Tabulka 1: Stručná charakteristika studovaných plodin

Název	Původ, char. materiálu, deklar. specifika chem. složení	Výška, cm	Veg. doba, dny	Výnos, t.ha ⁻¹	HTS, g
Ječmen					
Světlý typ zrna (Taiga)	registrovaná odrůda (SRN), zvýš. obsah polyfenolů, kontr. odrůda	69-86	107	1.14-6.64	36.4-41.9
Černý typ zrna (Nudimelanocritron, Abyssinian)	gen.zdroje (ETH), vysoký obsah bílkovin (NL) a polyfenolů	78-110	101-107	1.10-5.40	31.8-46.8
Oves					
Světlý typ zrna (1 - Baragan 114, 2 - "61")	1 - (ROM) – pěst. materiál, vys. obsah β-glukanů (BG); 2 - pěst. materiál (GBR), vys. obsah tuku, bezpl. zrno	96-111	114	1.52-1.68; 0.76-0.86 (bezpl.)	19.2-28.0
Černý typ zrna (Ariane)	šlecht. odr. (FRA), BG	101-107	114	3.68-3.72	27.6-28.9
Pšenice jednozrnka (1 - Escana, 2 - Schwedisches Einkorn)	1 - (ESP), extr. vys. obsah NL, lepek rozplývavý, vyšší sedim. dle Zelenyho (SZ); 2 - (SWE), vys. obsah NL, nízký	79-93	114-122	1.28-4.80	21.2-32.9

Název	Původ, char. materiálu, deklar. specifika chem. složení	Výška, cm	Veg. doba, dny	Výnos, t.ha ⁻¹	HTS, g
	lepek, stf. gluten index (GI), nízká SZ				
Pšenice dvouzrnka (1 - Kahler Emmer, 2 - Rudico)	1-(GER), vysoký obsah NL, vys. lepek, stf. GI, nízká SZ; 2-(CZE), vys. odolnost houb. chorobám, vys. obsah NL a lepku, velmi vys. GI, nízká SZ	107-119	114	0.72-2.54	24.3-28.0
Pohanka tatarská	středně vys. genotypy, polopozdní až pozdní, stf. až vys. HTS, stf. až vys. obsah rutinu	114-127	146	1.90-2.20	10.9-13.1
Proso seté	stf. až vys. genotypy, polorané až polopozdní	85-122	106-137	0.67-2.29	3.8-5.0
Cizrna beraní	roz. potr. využitelnost, obs. chalkonové deriváty a jednoduché kumariny	89-97	113-146	1.72-2.33	170-178
Vigna catjang	obsahuje 23-25% NL, 1-1,5% tuku, 55-57% sacharidů		114	2.20-3.40	202.5-207.7
Hrách Kapucín	vyš. nutr. hodnota ve srovnání s běžným hrachem, relativně vys. obsah NL	96-117	110-115	1.72-3.14	223-229
Hrachor	až 25% NL, cca 2,2% tuku, 55-59% sacharidů, na zrno i lusky		91-115	3.92	236-255

Ječmen a oves jsou známými plodinami, pěstovanými v komerčním zemědělství. V daném projektu se pozornost zaměřila na opomíjené odrůdy a výchozí materiály s odlišným typem zrna a vysokým obsahem nutričně významných látek, zvláště vlákniny potravy (zejména beta-glukanů, BG), tuku a polyfenolických látek s antioxidačním působením. Kromě zrna lze u ječmene zužitkovat i šťávu z mladé zelené hmoty rostlin, která obsahuje množství fytonutrientů, významných pro udržení zdraví (enzymy, polyfenoly, vitaminy, apod.). Díky vysokému podílu látek se zdravotně preventivním účinkem zájem o další potravinářské využití zrna nebo doplňků potravin na bázi ječmene a ovesa ve světě neustále narůstá (VASANTHAN, 2003). Studium nových genových zdrojů bezpluchého ovesa se zvýšeným obsahem tuku, a diferencovanou skladbou mastných kyselin a vyšším obsahem vlákniny by umožnilo rozšířit sortiment tuzemských cereálií o technologicky lépe zpracovatelný druh s bohatšími zdravotně příznivými vlastnostmi zrna (LYLY et al., 2003). Pluchaté pšenice (jednozrnka a dvouzrnka) se vyznačují mimořádně vysokým obsahem bílkovin, dvouzrnka je relativně nenáročná, s vyšší rezistencí vůči houbovým chorobám. U jednozrnky je ceněný obsah karotenoidů (3-6 krát vyšší než v zrně pšenice seté) a nízký obsah antinutričních látek (STEHNO, 2003). Z hlediska produktivity se obiloviny řadí v pořadí ječmen-oves-pšenice, přičemž byla pozorována vysoká variabilita podle lokality pěstování a průběhu počasí. Tato se projevila i na hmotnosti obilí, zvláště u ječmene. K obilovinám se řadí i proso, jehož potravinářské využití rovněž není vzhledem k výživné hodnotě zrna dostatečné. Proso má vyšší obsah vitamínů (zvláště A, B1 a B2), nerozpustné vlákniny a minerálních látek, neobsahuje lepek a proto je vhodné i pro nemocné celiakii (MICHALOVÁ, 2001). Pohanka tatarská, která má obsah přírodního rutinu vyšší než pohanka obecná, se může stát atraktivní rostlinou pro náročnější spotřebitele (MICHALOVÁ, 1998). V našich pěstebních podmínkách překvapila výnosem zrna, i když je u ní třeba počítat s delší vegetační dobou. Naopak proso patří k plodinám s krátkou dobou vegetace, nicméně výnos zrna této plodiny je mimořádně poplatný počtu a frekvenci náletu ptactva. Při zpracování na potraviny se nažky pohanky rozmelou, kdežto proso, obdobně jako další pluchaté obiloviny, vyžaduje složitější technologickou přípravu zrna před dalším potravinářským zpracováním.

Samostatnou skupinu tvoří málo rozšířené a netradiční luskoviny. Kromě vysokého obsahu bílkovin, zvláště hrách kapucín a vigna (MARQUARD, 2000), vynikají řadou dalších významných látek, jako je například vláknina potravy, vitaminy skupiny B a dokonce i některé polyfenolické látky. Z hospodářského hlediska jsou vhodné do sušších oblastí s delším vegetačním obdobím, avšak je možné vybrat i materiály s nižším požadavkem na počet vegetačních dnů. U luskovin obecně existuje nebezpečí poškození zvěří, nicméně svou produktivitou si některé druhy a odrůdy nezadají i s tradičními obilovinami.

Součástí řešení problematiky využití minoritních plodin je navrhnout nové technologické postupy na jejich zpracování a rozpracovat receptury na nové výrobky, kde by byly akceptovány nutriční přednosti těchto druhů.

Poděkování

Příspěvek byl vypracovaný za finanční podpory projektů Ministerstva zemědělství, č. QG60130 a Grantové agentury ČR, č. 525/05/0781.

Literatura

VASANTHAN T, 2003: Nutraceuticals from Barley Grains. 3rd Canadian Barley Symposium, June 19-20, 2003, [http://www1.agric.gov.ab.ca/\\$department/deptdocs.nsf/all/fcd7434?opendocument](http://www1.agric.gov.ab.ca/$department/deptdocs.nsf/all/fcd7434?opendocument); LYLY, M. – SALMENKALLIO-MARTTILA, M. – SUORTTI, T. – AUTIO, K. – POUTANEN, K. – LÄHTEENMÄKI, L. 2003: Influence of Oat beta-Glucan Preparations on the Perception of Mouthfeel and on Rheological Properties in Beverage Prototypes. Cereal Chem. 80 (5):536-541.; STEHNO, Z. (2003): Pěstování pluchatých pšeníc, Farmář 9(11):14-16.; MICHALOVÁ, A. (2001): Proso seté. Úroda 9:6; MICHALOVÁ, A. (1998): Pohanka tatarská – významný zdroj přírodního rutinu, farmář 4(1):19
MARQUARD, R.: Nutritive Inhaltsstoffe der Leguminosen, Giessen 2000., <http://www.genres.de/leguminosen/nutritiv.htm> (11.10.2007).

Adresa autorů :

Ing. Simona Horáčková, Ing. Kateřina Vaculová CSc. – Agrotrest fito s.r.o., Havlíčkova 2787/121, 767 01 Kroměříž; Ing. Dagmar Janovská, Ing. Zdeněk Stehno CSc. – Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i., Drnovská 507, 161 06 Praha 6-Ruzyně; Mgr. Tomáš Vymyslický – Výzkumný ústav pícninářský, spol. s.r.o., Zahradní 1, 664 41 Troubsko

VLIV KINETINU A BENZYLADENINU NA REGENERACI EXPLANTÁTŮ CANNA INDICA L. EFFECT OF KINETIN AND BENZYLADENINE ON REGENERATION OF CANNA (CANNA INDICA L.) EXPLANTS

Veronika KILIÁNOVÁ – Běla SVITÁČKOVÁ – Helena FIŠEROVÁ – Marek KLEMŠ

The aim of this study was to develop an in vitro method of propagation of canna (Canna indica L.) plants. Altogether three canna cultivars of the Czech origin were studied, viz. 'Dukla', 'Ludmila' and 'Labe'. Plant material was sterilised for 16 minutes with 0,2 % HgCl₂ and cultivated on a MS-medium in combination with 2 mg.l⁻¹ of IAA and 1 or 5 mg.l⁻¹ of cytokinin (benzyladenine or kinetin). Evaluated were numbers of buds and roots regenerated on media under study. Optimum results were obtained with the cv. 'Dukla' (the best root formation was supported by 1 mg.l⁻¹ of kinetin) and the cv. 'Ludmila' (the best regrowth of buds from the explant base was observed on the medium containing 5 mg.l⁻¹ of benzyladenine).

Key words: canna (Canna indica L.), in vitro propagation, cytokinins

Úvod

Rod *Canna* L. - dosna patří do čeledi *Cannaceae* - dosnovité, řádu *Zingiberales*. *Canna* je jediný rod této čeledi zahrnující asi 60 druhů v tropické a subtropické Americe, méně v Africe a v jihovýchodní Asii. Rodový název pochází z řeckého slova canna (trubka), který vystihuje tvar květu (KŘESADLOVÁ, VILÍM, 2004). V zahradnické praxi se dosny množí vegetativně dělením hlíz se současným přenosem viróz, které se stávají celosvětovým problémem. Symptomy se projevují hlavně na listech mozaikou a deformacemi. Jedním z řešení je ozdravování rostlin termoterapií v podmínkách *in vitro* s následujícím množením bezvirózních rostlin.

Cytokininy se v kultivačních médiích používají za účelem stimulace buněčného dělení, k indukci tvorby prýtů, inhibici tvorby kořenů, výrazně snižují apikální dominanci a stimulují větvení. Někteří autoři uvádějí, že použití benzyladeninu je vhodnější pro indukci regenerace *in vitro* než použití kinetinu. GÜREL et al. (2001) dosáhli při použití BA optimální regenerace prýtů u cukrovky a obdobně byl benzyladenin aktivnější při regeneraci *Bacopa monniera* než kinetin i thidiazuron (VAIBHAV et al. 2001).

Morfologicky podobná rostlina dosně je banánovník *Musa*, pro kterou je podle GEORGE a PUTTOCKA (1987) vhodná při množení *in vitro* koncentrace 2 mg.l⁻¹ IAA a 1mg.l⁻¹ kinetinu. V předkládané práci byl sledován účinek dvou koncentrací (1 mg.l⁻¹ a 5 mg.l⁻¹) dvou cytokininů - kinetinu a benzyladeninu na regeneraci kořenů a pupenů u explantátů z hlíz 3 kultivarů dosen v podmínkách *in vitro* (KILIÁNOVÁ, 2007).

Materiál a metody

K pokusům byly použity 3 odrůdy druhu *Canna indica* L: 'Dukla' - střední vzrůst, silně odnožující - tvoří 4 – 6 výhonů z jedné hlízy, 'Ludmila' - mohutný vzrůst s velmi dobrým množitelenským koeficientem, odolná k virózám a 'Labe' - střední vzrůst, náchylná k virózám (SVITÁČKOVÁ, UHER, 2005). V únoru 2007 byly jednopupenové sterilní explantáty kořenových hlíz (16 minut 0,2% HgCl₂ a 3 x oplach ve sterilní destilované vodě) vkládány na média MURASHIGE, SKOOG (1962) s kombinací růstových regulátorů uvedených v tab. 1.

Tabulka 1: Varianty média Murashige - Skoog s různou koncentrací růstových regulátorů

Medium	Koncentrace auxinů	Koncentrace cytokininů
A	2 mg . l ⁻¹ IAA	1 mg . l ⁻¹ BA
B	2 mg . l ⁻¹ IAA	5 mg . l ⁻¹ BA
C	2 mg . l ⁻¹ IAA	1 mg . l ⁻¹ kinetin
D	2 mg . l ⁻¹ IAA	5 mg . l ⁻¹ kinetin

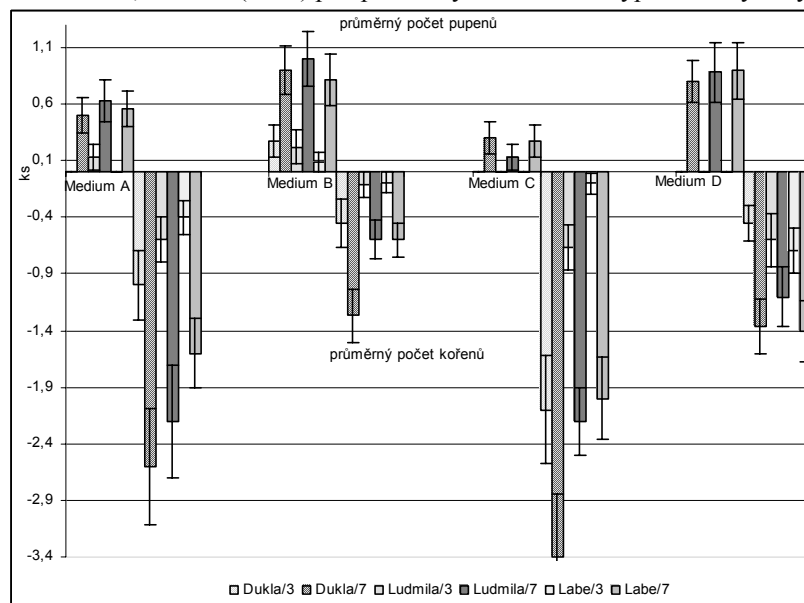
IAA-indoly-3-octová kyselina, C₁₀H₉O₂N, BA-6-benzylaminopurin C₁₂H₁₁N₅, kinetin-C₁₀H₉N₅O

Hodnocení růstu explantátu bylo po 3 a 7 týdnech kultivace při 16 hod. světla a 8 hod. tmy při teplotě 23°C. V grafu 1 je uveden průměrný počet vytvořených pupenů a kořenů na jednom explantátu se střední chybou.

Výsledky a diskuse

Z grafu 1 je patrné, že zvýšený přírůstek cytokininů zvyšuje prorůstání pupenů a BA má lepší účinky v obou koncentracích než kinetin, jehož přítomnost v mediu naopak zvyšuje tvorbu kořenů. Rozdíly u jednotlivých odrůd při prorůstání pupenů na všech médiích jsou statisticky neprůkazné. Kořeny tvořila nejvíce odrůda 'Dukla' na mediu C (2 mg.l⁻¹ IAA, 1mg.l⁻¹ kinetin) - již po 3 týdnech kultivace statisticky průkazně a po 7 týdnech kultivace tvořila průměrně tři kořeny na jeden explantát. Podobně MEREDITH et. al. (1970) uvádí zakořeňování řízků *Feijoa sellowiana* po aplikaci kinetinu a NEMETH (1979) stimuluje tvorbu kořenů aplikací BA u letorostů *Prunus*. V našem případě přírůstek cytokininu BA – médium B - (2

mg.l⁻¹ IAA, 5 mg.l⁻¹ BA) naopak tvorbu kořenů inhibuje, obdobně jak uvádí ERIKSEN (1974) u hrachu a FIŠEROVÁ, PSOTA (1992) po aplikaci cytokininů urea typu na řízky vrby jívy.



Obr. 1: Průměrný počet pupenů a kořenů se střední chybou na explantát po 3 a 7 týdnech kultivace u 3 kultivarů dosny (Dukla/3, Dukla/7,...) na 4 kombinacích růstových regulátorů v médiu MS (složení v tab. 1).

Závěr

Odrůda 'Dukla' na médiu C (2 mg. l⁻¹ IAA a 1 mg. l⁻¹ kinetinu) vytvořila již po 3 týdnech statisticky více kořenů a po 7 týdnech měla tři kořeny na explantát. Tvorba pupenů byla u všech sledovaných kultivarů statisticky neprůkazná - na explantátu rostl průměrně jeden pupen. Mezi použitým cytokininem benzyladeninem a kinetinem byl rozdíl v růstových účincích – kinetin svým působením snižuje tvorbu pupenů, čímž podporuje tvorbu kořenů.

Literatura

1. ERIKSEN, E.N. Root formation in pea cuttings. III. The influence of cytokinin at different developmental stages. *Physiol. Plant.* 30, 163-167, 1974.
2. FIŠEROVÁ, H. – PSOTA, V. Produkce etylénu a etanu u řízků *Salix caprea* L. VI. Dny rostlinné fyziologie, *Biologia plantarum* 34, 575, Praha 1992.
3. GEORGE, E.F. – PUTTOCK, D.J.M., GEORGE, H.J. *Plant culture media, Formulations and Uses.* Volume 1, Exegitics Limited, 1987, ISBN 0-9509325-1-5
4. GÜREL, S. – GÜREL, E. – KAYA, Z. Callus development and indirect shoot regeneration from seedlings explants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultured *in vitro*. *Turk. J. Bot.* 25:25-33., 2001
5. KILIÁNOVÁ, V. Ověření použitelnosti metody *in vitro* pro možnosti ozdravení množitelského materiálu *Canna indica* L. Diplomová práce. MZLU v Brně, Zahradnická fakulta v Lednici, 2007.
6. KŘESADLOVÁ, L. – VILÍM, S. *Hlíznaté a okrasné rostliny.* Brno: Computer press, 2004. 96 s. ISBN 80-251-0246-7
7. MEREDITH, W.C. et al. Influence of indole-3-acetic acid and kinetin on rooting and indole metabolism of *Feijoa sellowiana*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 95, 49-52, 1970.
8. MURASHIGE, T. – SKOOG, F. *Physiol. Plant.* 15:473-497, 1962
9. NEMETH, G. Benzyladenine-stimulated rooting in fruit-tree rootstock cultured *in vitro*. *Z. Pflanzenphysiol.* 95, 389-396, 1979.
10. SVITÁČKOVÁ, B. – UHER, J. Genové zdroje okrasných rostlin v České republice. Kolekce rodu *Canna* L. a její evaluace. 2. odrůdové hodnocení. In Benediková, O. *Hodnotenie genetických zdrojov rastlín, Piešťany, Výzkumný ústav rastlinnej výroby, ÚAGŠ, 2005, str. 113-114, IBSN 80-88790-38-7*
11. VAIBHAV, T. – KAVINDRA, N. T. – BRAHMA, D. S. Comparative studies of cytokinins on *in vitro* propagation of *Bacopa monniera*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 66 (1): 9 – 16, 2001.

Poděkování: Výsledky byly získány za podpory grantu MŠMT – FRVŠ 2324/2006/F4a.

Adresa autorů:

Veronika Kiliánová, Běla Svitáčková, Helena Fišerová, Marek Klemš

Ústav biologie rostlin, AF, MZLU v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, svit@zf.mendelu.cz

VLIV KYSELINY ABSCISOVÉ NA EXPRESI ZÁSOBNÍCH PROTEINŮ PŘI DESIKACI ZYGOTICKÝCH EMBRYÍ HRACHU *IN VITRO* THE EFFECT OF ABSCISIC ACID ON EXPRESSION OF STORAGE PROTEINS DURING DESICCATION OF PEA ZYGOTIC EMBRYOS *IN VITRO*

Marek KLEMŠ¹ – Pavla SOLNICKÁ¹ – Zuzana MIKUŠOVÁ¹ – Zdeňka SLÁMOVÁ¹ –
Helena FIŠEROVÁ¹ – Stanislav PROCHÁZKA¹ – Jiří HORÁČEK² – Helena
KLENOTIČOVÁ² – Miroslav GRIGA²

The correlation between changes of the level of abscisic acid and the expression of storage proteins during development of pea zygotic embryo has been studied. The expression of storage proteins in embryo of control plant corresponded to the high level of ABA in a stage of ripening of cotyledonary embryo. The application of 20 μM flurochloridone on flowering plants decreased the content of ABA in endosperm and in cotyledonary embryo in the early stage of development. Immature and mature cotyledonary embryos were cultured in vitro on the medium supplemented by 30 g or 80 g of sucrose in the presence of flurochloridone or ABA. The accumulation of storage proteins in the relation to desiccation is controlled by increased level of abscisic acid in the embryonic tissues and in the seed.

Key words: pea zygotic embryo, abscisic acid, flurochloridone, storage proteins, desiccation

Úvod

Zygotická embryogeneze je řízena nejenom aktivitou genů, ale také hormonální homeostází, přičemž na této regulaci se podílejí všechny skupiny fytohormonů (LIU et al., 1995). Pro optimální růst a vývoj embrya až do fáze maturace je nejvýznamější kyselina abscisová. WANG et al. (1987) popsali akumulaci ABA během embryogeneze a vývoje semen *Pisum sativum*. Dynamika obsahu ABA v čase byla charakteristická dvěma píky. První maximum ABA odpovídá maximálnímu růstu testy, druhé intenzivnímu růstu embrya. Během poslední vývojové fáze embrya, která odpovídá maturaci, jsou akumulovány zásobní proteiny (WANG a HEDLEY, 1993). Syntézu a ukládání zásobních proteinů v procesu desikace v semenech hrachu detailně popsali REISDORPH a KOSTER (1999). Tento proces postupné dehydratace živého obsahu buněk a pletiv připravuje životaschopná embrya a semena na překonání nepříznivého období v životním cyklu a zabraňuje předčasnému klíčení. Cílem práce bylo popsat vztah mezi hladinou ABA a expresí zásobních proteinů jak v podmínkách *in vivo*, tak při kultivaci izolovaných embryí *in vitro*.

Materiál a metody

Z rostlin hrachu setého (odrůda Oskar) byly prováděny v 9, 15, 22 a 30 dnech po rozkvetu (DAA) odběry semen. Nezralá i zralá kotyledonární embrya byla kultivována *in vitro* na MS médiu (MURASHIGE a SKOOG, 1962) s 30 g nebo 80 g sacharózy za přítomnosti flurochloridonu (20 μM) či ABA (10 μM). Pro analýzy ABA a zásobních proteinů byla semena rozdělena na embryo, endosperm a testu. ABA byla analyzována pomocí RIA metody (QUARRIE et. al., 1988), při které byla použita monoklonální protilátka MAC 262. Pro analýzu zásobních proteinů byla použita SDS polyakrylamidová elektroforéza (LAEMMLI, 1970). Při kultivaci izolovaných embryí *in vitro* bylo hodnoceno přežívání embryí a klíčení (%). Ke statistickému hodnocení byl použit t-Studentův test pro testování průkaznosti rozdílu dvou průměrů na sobě nezávislých o stejném rozsahu výběrového souboru. Statistické hodnocení bylo provedeno v analýzách obsahu ABA ve čtyřech opakováních.

Výsledky a diskuze

Analýzy obsahu ABA prokázaly, že největší obsah ABA byl nalezen v endospermu. Menší obsah ABA byl zjištěn v embryu a nejmenší v testě semene. Lusky měly nižší obsah ABA než jednotlivé části semen. Expres zásobních proteinů byla provedena v embryích, endospermu a v semenech. Expres vicilinu začala v termínu 22 DAA, ale leguminu a convicilinu později v termínu 30 DAA. V tomto období byla detekována subjednotka vicilinu s molekulovou hmotností 34 kDA i v semenech a embryích flurochloridonem ošetřených rostlin. Při kultivaci izolovaných embryí *in vitro* bylo charakteristické, že embrya zbavená děloh intenzivněji klíčila, zvláště v případě kultivace na médiu s flurochloridonem. Takto ošetřená embrya měla méně výraznou expresi zásobních proteinů oproti embryím kontrolní varianty (neošetřená). Flurochloridon obsah ABA u takto ošetřených embryí snižoval. Expres zásobních proteinů v embryích neošetřených flurochloridonem následovala pik vysokého obsahu ABA v období dozrávání kotyledonárního embrya. Obsah ABA byl nejvyšší po kultivaci embryí na médiu s ABA a to i v případě odstranění děloh. Ukládání zásobních proteinů bylo ve vztahu k desikaci řízeno zvýšením koncentrace kyseliny abscisové v pletivech embrya a semene, což odpovídá obdobným zjištěním XU a BEWLEY (1995) na embryích vojtěšky.

Literatura

1. LAEMMLI, U.K. (1970): Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.

2. LIU, C.M. – JOHNSON, S. – WANG, T.L. (1995): *cyd*, a mutant of pea that alters embryo morphology is defective in cytokinesis. *Develop. Genet.* 16: 321-331.
3. MURASHIGE, T. – SKOOG, F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-97.
4. QUARRIE, S.A. – WHITFORD, P.N. – APPLEFORD, N.E.J. – WANG, T.L. – COOK, S. K. – HENSON, L.E. – LOVEYS, B.R. (1988): A monoclonal antibody to (S)-abscisic acid: its characterisation and use in a radioimmunoassay for measuring abscisic acid in crude extracts of cereal and lupine leaves. *Planta* 183: 330-339.
5. REISDORPH, N.A. – KOSTER, K.L. (1999): Progressive loss of desiccation tolerance in germinating pea (*Pisum sativum*) seeds. *Physiol. Plant.* 105: 266-271.
6. WANG, T.L. – COOK, S.K. – FRANCIS, R.J. – AMROSE, M.J. – HEDLEY, C.L. (1987): An analysis of seed development in *Pisum sativum*. *J. Exp. Bot.* 38 (196): 1921-1932.
7. WANG, T. L. – HEDLEY, C. L. (1993): Genetic and developmental analysis of the seed. In: CASEY, R., DAVIES D.R. (eds.): *Peas. Genetic, molecular biology and biotechnology*. CAB International: 83-120.
8. XU, N. – BEWLEY, J.D. (1995): The role of abscisic acid in germination, storage protein synthesis and desiccation tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.) seeds, as shown by inhibition of its synthesis by fluridone during development. *J. Exp. Bot.* 46(287): 687-694.

Poděkování

Tento výzkum byl podporován výzkumným projektem Grantové agentury MZLU Brno IGA 33/2006 a grantem MŠMT MSM 2678424601.

Adresa autorov:

¹Ústav biologie rostlín, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika.

²Agritec Plant Research s.r.o., Zemědělská 16, 787 01 Šumperk, Česká republika. E-mail: klems@mendelu.cz

VLIV NAPADENÍ FUSARIEM NA REOLOGII TĚSTA PŠENICE IMPACT OF FUSARIUM INFECTION ON WHEAT DOUGH RHEOLOGY

Zuzana KOCOURKOVÁ – Tibor SEDLÁČEK – Karla ŘEHOŘOVÁ

Fusarium Head Blight (FHB) belongs to most important fungal diseases of wheat. FHB occurs worldwide on small grain cereals. FHB reduces kernel weight, contamination by mycotoxins is harmful to human and animal health. Furthermore, rheological properties of dough and breadmaking quality are significantly affected. Varieties Sulamit, Darwin, Simila and Sakura were infected by FHB. Deoxynivalenol content was increased in infected samples. Mixograph was used to compare rheological properties of dough from infected and healthy wheat grain. 16 mixograph parameters were evaluated. Results showed statistically significant effect on 8 mixograph parameters (IHTP, Break down, Peak time, Area within, End width, Peak angle, Time 1_2 a Init slope) at the 95% confidence level.

Key words: Fusarium head blight, wheat, rheology, mixograph, baking quality

Úvod

Fuzariózy jsou houbová onemocnění napadající obiloviny, včetně pšenice. Při napadení pšenice druhy *Fusarium graminearum* a *Fusarium culmorum* dochází ke tvorbě lidem i zvířatům škodlivých mykotoxinů, zejména deoxynivalenolu (DON) a zearalenolu (ZEA). Napadení fuzárií snižuje hmotnost zrna, a tím i výnos pšenice. Pokud je infikováno osivo bývá redukována jeho klíčivost a snížená vitalita rostlin.

Zhoršená pekařská jakost vlivem napadení fuzárií byla již publikována (DEXTER et al., 1996; PRANGE et al., 2005). Houba ničí škrobové granule, zásobní proteiny i buněčné stěny což způsobuje technologické problémy. Mykotoxiny inhibují činnost enzymů a kvasinek (SARIC et al., 1997). BOYACIOGLU a HETTIARACHCHY (1995) zjistili, že i střední napadení *F. graminearum* způsobuje významné kompoziční změny karbohydrátů, lipidů a proteinů. DEXTER et al. (1996) uvádí, že při dlouhodobějším hnětení se těsto z fuzariózní pšenice stává lepivě a obtížně zpracovatelné. Efekt napadení fuzáriem na měrný objem pečiva je závislý na odrůdě.

Mixografické posouzení vlastností těsta při hnětení je využíváno v řadě šlechtitelských programů. Hodnocení různých parametrů mixografické křivky umožňuje predikci chování těsta během zpracovatelského procesu a pekařské jakosti (DOBRSZCZYK a SCHOFIELD, 2002).

Materiál a metody

Infekce směsí ras *F. culmorum* a *F. graminearum* byla provedena ve fytoškolce šlechtitelské stanice Selgen a. s., Stupice u 4 vzorků pšenice ozimé s různou úrovní rezistence.

Hodnocení reologických vlastností těsta bylo provedeno na přístroji ReoMixer (REOMIX Instruments, Švédsko). Těsto bylo připraveno z 10 g šrotu a 6,5 ml vody.

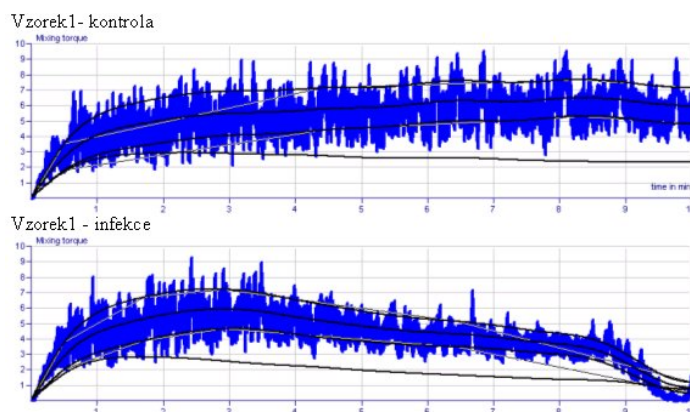
Výsledky a diskuze

Obsah deoxynivalenolu byl stanoven metodou imunoafinitní chromatografie a zjištěné hodnoty jsou uvedeny v tabulce 1. Obsah deoxynivalenolu je závislý na stupni rezistence k napadení fuzárií.

Tabulka 1: Obsah deoxynivalenolu u kontrolních a infikovaných vzorků pšenice ozimé

Vzorek	Obsah DON (ppm)	
	kontrola	infekce
1	0,3	17,0
2	0,0	8,0
3	0,0	7,5
4	0,0	3,5
Průměr	0,1	9,0

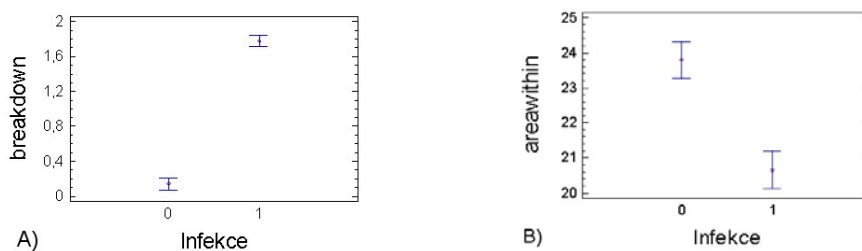
Standardní metodikou byly z mixografické křivky (obr.1) zjištěny parametry těsta – viz. tab. 2. Získané údaje byly statisticky vyhodnoceny v programu Statgraphics. Z výsledků vyplývá, že napadení fuzárií má statisticky průkazný vliv na parametry IHTP (mixografický index), Break down, Peak time, Area within, End width, Peak angle, Time 1_2 a Init slope. Z předchozích mixografických hodnocení prováděných v naší laboratoři vyplývá, že parametry IHTP, Peak time, Area within, End width a Time 1_2 jsou statisticky průkazné v přímé a parametr Break down v nepřímé korelaci s objemem pečiva. Ovlivnění reologických a kvalitativních vlastností těsta mykotoxiny potvrzuje dřívější pozorování DEXTERA et al. (1996).



Obr. 1: Mixografické křivky vzorku 1

Tabulka 2: Průměrné hodnoty mixografických parametrů a jejich ovlivnění napadením fuzárií

	IHTP	buildup	peaktime	peakwidth	peakheight	peakAngle	breakdown	areabelow	areawithin	initslope	initwidth	initbuild	time1_2	endwidth	widthbuild	wdthinbld
Kontrola	44,47	0,50	8,70	2,49	6,13	17,89	0,14	37,97	23,79	7,12	1,70	3,32	4,10	2,47	-0,23	1,02
Infekce	18,65	0,60	3,88	2,47	6,23	50,57	1,78	36,81	20,65	7,60	1,79	3,07	1,69	1,33	-0,35	1,03
Vliv infekce (%)	58,05	19,55	55,43	0,95	1,53	182,71	1159,29	3,07	13,19	6,67	5,14	7,47	58,86	46,15	52,20	0,74



Graf 1: 95% limity pravděpodobnosti výskytu hodnot breakdown (A) a areawithin (B) u kontrolní (0) a infikované (1) varianty

Závěr

Zvýšený obsah mykotoxinu DON, jako důsledek napadení pšenice fusárií, statisticky významně ovlivnil 8 z 16 hodnocených mixografických parametrů.

Projevilo se, že zeslabení těsta při napadení fusárií je závislé na obsahu deoxynivalenolu.

Tato práce vznikla za podpory grantů NAZV QG50076 a GAČR 521/05/H013.

Literatura

1. BOYACIOGLU, D. – HETTIARACHCHY N.S. (1995) Changes in some biochemical components of wheat grain that was infected with *Fusarium graminearum*. *J. Cereal Sci.* 21: 57.
2. Dexter, J.E. – Clear R.M. – Preston K.R. (1996) *Fusarium head blight: Effect on the milling and baking of some canadian wheats.* *Cereal Chem.* 73(6): 695-701.
3. Dobraszcyk, B.J. – Schofield, J.D. (2002) Rapid assessment and prediction of wheat and gluten baking quality with the 2-g direct drive mixograph using multivariate statistical analysis. *Cereal Chem.* 79(5): 607-612.
4. Prange, A. – Birzele, B. – Kamer, J. – Meier, A. – Modrow, H. – Kohler P. (2005) *Fusarium-inoculated wheat: deoxynivalenol contents and baking quality in relation to infection time.* *Food Control* 16(8): 739-745.
5. Saric, M. – Skrinjar, M. – Dimic, G. – Filipovi, N. – Rasic J. (1997) Changes in hygienic and technological wheat quality caused by mould infection. *Acta Alimentaria* 26:255-269.

Adresa autora:

Zuzana KOCOURKOVÁ - Selgen a.s., ŠS Stupice, Stupice 24, Sibřina 25084. Tibor SEDLÁČEK, Karla ŘEHOŘOVÁ - Výzkumné centrum Selton, s.r.o., Stupice 24, Sibřina 25084.

**EFFECT OF ENDOGENOUS AUXIN ON REGENERATION
OF DIFFERENT HYPOCOTYL REGIONS OF FLAX CULTIVATED *IN VITRO*
VPLYV VNÚTORNEJ HLADINY AUXÍNU
NA REGENERÁCIU Z RÔZNYCH OBLASTÍ HYPOKOTYLU ĽANU
KULTIVOVANÉHO V PODMIENKACH *IN VITRO***

Zuzana KOVÁČOVÁ¹ – Blanka ČERMÁKOVÁ² – Alena TRÁVNÍČKOVÁ² – Bohuš
OBERT¹ – Ivana MACHÁČKOVÁ² – Anna PREŤOVÁ¹

The aim of our study was to search for changes in endogenous level of auxin (IAA – indole-3-acetic acid) after application of different concentrations of exogenous growth regulator – auxin (2,4-D – 2,4-dichlorophenoxyacetic acid) to in vitro cultivated flax cultivar Super, and to correlate these changes to morphogenic response of different hypocotyl regions (apical, central or root region).

Key words: flax, morphogenic response, auxin, regions of hypocotyl, 2,4-D

Introduction

Flax (*Linum usitatissimum* L.) is an ancient cultivated species that still has an important impact on the world economy. This species is traditionally cultivated for its main products - fibre and seed oil (PREŤOVÁ et al., 2005). Flax has been also the focus of a great deal of both basic and applied research in plant cell and biotechnology studies (MILLAM et al., 2005).

Material and methods

Seeds of *Linum usitatissimum* L. of cultivar Super (fibre flax) were used in our experiments. Flax seeds were rinsed in 96 % ethanol for 5 min, surface sterilized with 25 % Savo (2,36 g. l⁻¹ NaClO) and washed three times with sterile water. Seeds in screw cap jars were cultivated in a growth chamber at the temperature of 21°C±2°C under a 16 h photoperiod with a cool white light source providing 8,6 W.m⁻² light intensity. Flax seedlings, 20-40 mm in length, were cultured *in vitro* on ½ MS (MURASHIGE and SKOOG, 1962) medium with addition of 2 % sucrose and 0,8 % agar. The pH of the medium was adjusted to 5,8 before autoclaving. Hypocotyls of 6-days old flax seedlings were cut into 2-3 mm segments. The part of hypocotyl segments from apical, central and basal region were placed into liquid MS media with 2,4-D (2 mg.l⁻¹ and 5 mg.l⁻¹). Fresh hypocotyl segments from the same parts of hypocotyl were used as a control. The level of auxin in different regions of flax hypocotyl was measured according to method (DOBREV, KAMÍNEK, 2002). This method allows fast and efficient separation of cytokinins from auxin and abscisic acid. We accomplished that measurement two times. For final quantification of extracted auxin the LC-MS ion-trap method was applied.

Results and discussion

After two weeks of cultivation of hypocotyl segments in liquid MS media with 2,4-D (2 mg.l⁻¹ and 5 mg.l⁻¹) we observed that hypocotyl segments from apical and central part of hypocotyl regenerated more significant than hypocotyl segments from basal part. Following this observation, we measured the level of auxin in different regions of flax hypocotyl. Various content of auxin in apical, central and basal region of flax hypocotyl (tab. 1) was found. The highest level of IAA was obtained from central part of hypocotyl and this observation was accomplished for hypocotyl segments cultivated in liquid MS media with 2 mg.l⁻¹ of 2,4-D. This argument would elucidate the effects of different regions of hypocotyl on endogenous level of auxin in flax hypocotyl. An backward trend we found out with 5 mg.l⁻¹ of 2,4-D added to the liquid MS media. The plant hormone auxin, indole-3-acetic acid (IAA), is synthesized in meristematic regions at the shoot apex and transported to the root tip (BLAKESLEE et al., 2005). Auxin transport in this case was positive influenced by rising concentration of 2,4-D. These findings could suggest the important role of 2,4-D in the media. Balanced content of auxin was achieved from different regions of hypocotyl of control.

Conclusions

Our results might suggest that the level of indole-3-acetic acid (IAA) differs in the apical, central and basal part of flax hypocotyl and is influenced also by 2,4-D added to MS media in different concentrations. Changes in endogenous content of auxin were expressed in different morphogenic response of different regions of flax hypocotyl cultivated in media supplemented with 2,4-D.

Literature

1. BLAKESLEE, J.J. – PEER, W.A. – MURPHY, A.S., 2005. Auxin transport. In: *Curr. Opin. in Plant Biol.* Vol. 8 (2005), p. 494-500.

2. DOBREV, P.I. – KAMÍNEK, M., 2002. Fast and efficient separation of cytokinins from auxin and abscisic acid and their purification using mixed-mode solid-phase extraction. In: *J. Chromatogr.* Vol. 950 (2002), p. 21-29.
3. MILLAM, S. – OBERT, B. – PREŤOVÁ, A., 2005. Plant cell and biotechnology studies in *Linum usitatissimum* L. – a review. In: *Plant Cell Tis. And Org. Cult.* Vol. 82 (2005), p. 93-103.
4. MURASHIGE, T. – SKOOG, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. In: *Physiol. Plantarum.* Vol. 15 (1962), p. 473-497.
5. PREŤOVÁ, A. – ŠAMAJ, J. – OBERT, B., 2005 b. Cytological, Physiological and Biochemical Aspects of Somatic Embryo Formation in Flax. In: *Plant Cell Monogr.* (Eds.) Mujib, A. - Šamaj, J., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. Vol. 2 (2005 b), 365 p, ISBN 3-540-28717-5.

Acknowledgements

This work was supported by grants APVT-51-028602 and VEGA 2/5079/27.

Table 1: Level of auxin (IAA) in apical, central and basal region of flax hypocotyl

Liquid MS media	Part of hypocotyl	IAA (pmol.g ⁻¹)	
		1. variant	2. variant
HF (control)	A	2,4	2,4
	C	2,0	2,1
	B	2,2	2,1
2 mg.l ⁻¹ 2,4-D	A	7,4	5,1
	C	7,7	7,0
	B	5,6	5,3
5 mg.l ⁻¹ 2,4-D	A	2,3	2,3
	C	-	-
	B	6,2	4,8

HF – hormone-free MS media

2,4-D – dichlorophenoxyacetic acid

IAA – indole-3-acetic acid

A – apical part of hypocotyl

C – central part of hypocotyl

B – basal part of hypocotyl

Author's addresses:

¹ Institute of Plant Genetics and Biotechnology SAS, Akademická 2, P.O. Box 39 A, 950 07 Nitra, Slovak Republic, e-mail: nrgkova@savba.sk

² Institute of Experimental Botany, Rozvojová 263, 165 02 Prague 6 - Lysolaje, Czech Republic

ZLEPŠUJE FOLIÁRNA APLIKÁCIA ATONIKU ANTIOXIDAČNÚ KAPACITU RASTLÍN ČAKANKY? DOES IMPROVEMENT APPLICATION OF ATONIK THE ANTIOXIDANT CAPACITY IN CHICORY PLANTS?

Marek KOVÁR – Ivan ČERNÝ

The effect of foliar applied morphoregulator ATONIK containing mono-nitrophenolates as active ingredients was evaluated in field trials on chicory plants. Result of this investigation shown that application of nitrophenolates significantly induced of enhance activity of SOD, the key enzyme of ROS detoxication cascade, but not enzymes CAT and POX. On the other hand, ATONIK enhanced membrane stability and induced accumulation of proline and soluble sugars.
Key words: plant growth regulators, Atonik, antioxidant system, sugar, chicory

Úvod

Realizácia rastovo produkčného procesu a formovanie úrody sú komplexné fyziologické procesy, limitované agroklimatickými podmienkami daného stanovišťa (EVANS, 1993). Reakcie rastlín na rýchle a výrazné zmeny faktorov prostredia súvisia s obrannými mechanizmami v rámci druhovo podmienenej stratégie prežitia jedinca. Je známe, že v súčasnom období pestovania intenzívnych genotypov poľnohospodárskych plodín vzrastá ich citlivosť na fyziologicky nevyrovnané podmienky prostredia, čo často indukuje stresové stavy (RICHARDS, 1999), kladúc tak zvýšené nároky na manažment produkcie.

V manažmente rastlinnej produkcie sa pre optimalizáciu formovania úrody už niekoľko desaťročí úspešne využívajú morforegulátory rastu (OOSTERHUIS, ROBERTSON, 2000). Jedným z takýchto morforegulátorov je ATONIK (Asahi Co., Ltd; Japan), obsahujúci biologicky aktívne mononitrofenoláty. ATONIK sa používa vo viac ako 20 krajinách sveta, najmä v riadení produkcie cukrovej repy, bavlníka (*Gossypium hirsutum*), ryže (*Oryza sativa*), sóje (*Glycine max*), ale aj papriky (*Capsicum annum*), rajčiaka (*Lycopersicon esculentum*) a pod. (ČERNÝ, PAČUTA., 2003; BYNUM et al., 2007; FERNANDEZ, CORREA, 2005)

Detailný účinok nitrofenolátov na molekulárne, metabolické a fyziologické procesy nie je v súčasnosti známy. V literatúre sa popisuje, že nitrofenoláty sú prírodné látky stimulujúce rast rastlín (*i*) zmenou aktivity antioxidantných enzýmov superoxid dismutázy, katalázy a peroxidázy., ktoré sú zapojené do detoxikácie reaktívnych foriem kyslíka (DJANAGUIRAMAN et al., 2004), (*ii*) zvyšujú fotosyntetickú aktivitu (GUO, OOSTERHUIS, 1995), (*iii*) zvyšujú aktivitu nitrátreduktázy (SHARMA et al., 1984) a (*iv*) zlepšujú stabilitu biomembrán (GUO, OOSTERHUIS, 1995).

Cieľom práce bolo kvantifikovať účinok nitrofenolátov prípravku ATONIK na antioxidačnú kapacitu buniek asimilačného aparátu čakanky obyčajnej a popísať vzťah medzi nitrofenolátmi, antioxidačnou kapacitou a výslednou zlepšenou toleranciou voči stresovým situáciám.

Materiál a metódy

Rastliny čakanky obyčajnej (*Cichorium intybus* L.) odrody Maurane boli pestované v polyfaktorových poľných experimentoch uskutočnených vo vegetačných rokoch 2006 a 2007. Základné hnojenie bolo vykonané bilančnou metódou na základne agrochemického rozboru pôdy, vzoriek odoberaných do hĺbky 0-0,6 m (kolorimetricky), so súčasným stanovením P, K, Ca, Mg (výluh Mehlich II). Foliárne v dvoch termínoch (pred uzatvorením riadkov a na súvislý rastlinný pokryv, 2 - 4 týždne po zakrytí riadkov) bol aplikovaný postrek morforegulátorom ATONIK v dávke 0,6 l.ha⁻¹.

Biologický materiál pre hodnotenie fyziologických a biochemických parametrov bol plne hydratovaný destilovanou vodou a uskladnený pri teplotách 4 °C po dobu prepravy do laboratórnych podmienok na ďalšiu analýzu. Pre biochemické analýzy boli z rastlín dekapitované 5 listy. Koncentrácia asimilačných pigmentov (chlorofylu *a*, *b* a celkových karotenoidov) bola stanovená podľa LICHTENTHALER (1987) a celkový proteín podľa BRADFORD (1976). Celkovú aktivitu SOD sme stanovili podľa MADAMANCHI et al. (1994), aktivitu CAT podľa AEBI (1984) a aktivitu POX podľa CHANCE a MAEHLI (1955) s malými úpravami. Peroxidácia lipidov bola hodnotená meraním úrovně malondialdehydu (MDA) podľa HODGES et al. (1999). Membránová stabilita bola meraná konduktometricky podľa TRIPATHY et al. (2000). Koncentrácia prolínu a rozpustných sacharidov bola stanovená podľa BATES et al. (1973) a DUBOIS et al. (1956) spektrofotometricky.

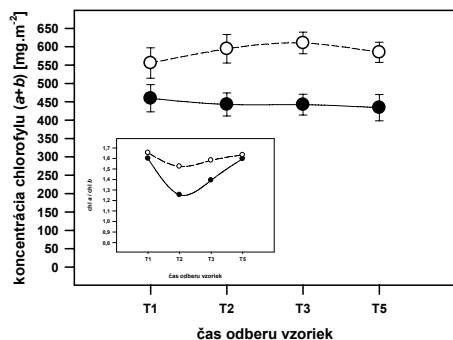
Štatistická analýza experimentálnych údajov bola hodnotená prostredníctvom štandardných grafických a štatistických metód programového balíka Excel a Sigma Plot.

Výsledky a diskusia

Rastliny sú v prirodzených podmienkach prostredia často vystavované súčasnému pôsobeniu rôznych stresových činiteľov abiotického a/alebo biotického charakteru, ktoré v konečnom dôsledku limitujú rast a produktivitu. Vo všeobecnosti je možné rozlíšiť dva prístupy eliminácie stresových situácií, a to (*i*) konštrukciou nového, tolerantnejšieho biologického materiálu s udrжанím kvantitatívnych a kvalitatívnych

parametrov produkcie a/alebo (ii) účinnou, biologicky precíznou aplikáciou agrotechnických zásahov, využívajúc okrem konvenčných postupov aj fyziologicky účinné látky, tzv. morforegulátory rastu (BYNUM et al., 2007).

Prípravok ATONIK, obsahujúci biologicky aktívne zložky zo skupiny mono-nitrofenolátov, je možné pre jeho indukciu antioxidačnej kapacity zaradiť medzi antistresové látky. Potenciálny antistresový efekt prípravku ATONIK bol sledovaný prostredníctvom zmien antioxidačnej kapacity buniek, ktorej výsledkom je udržanie ich fyziologickej aktivity v podmienkach stresu. V literatúre už dávnejšie bol popísaný vzťah medzi antioxidačnou kapacitou bunky a výsledným stresovým poškodením (SMIRNOFF, 1993).



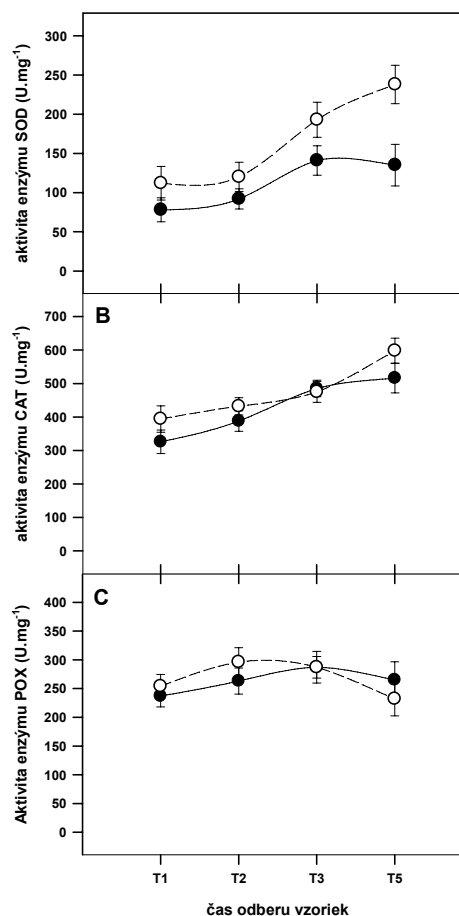
Obrázok 1: Zmena koncentrácie chlorofylu (a+b) a pomeru chl a / chl b (vo vnútri obrázku) počas ontogenézy rastlín čakanky. (●-kontrola; ○-ATONIK). n=4±SE.

nadbytočná energia je prenesená na kyslík. Najčastejšie je prvým takýmto produktom superoxidový anión. Enzým superoxidodismutáza (SOD) katalyzuje premenu superoxidového aniónu na peroxid vodíka. Vzniknutý peroxid vodíka je následne detoxikovaný enzýmom kataláza (CAT) a/alebo peroxi-dázovým systémom (POX). Potenciálny nárast antioxidačnej kapacity prostredníctvom foliárne aplikovaného prípravku ATONIK na listy rastlín čakanky by sa mal, podobne ako v prípade rastlín cukrovej repy (ČERNÝ, PAČUTA, 2003), bavlníka (BYNUM et al., 2007)] alebo rajčiaka (FERNANDEZ, CORREA, 2005) odraziť na zvýšenej aktivite jednotlivých antioxidačných enzýmov. Z prezentovaných výsledkov je možné konštatovať, že foliárna aplikácia prípravku ATONIK spôsobuje v rastlinách čakanky signifikantný nárast aktivity enzýmu SOD (obr. 2A). V detoxikačnej kaskáde ROS sme však nepozorovali signifikantne zvýšenú aktivitu enzýmov CAT a POX v porovnaní s foliárne neošetrenými rastlinami (obr. 2B a 2C). Uvedený jav môže spôsobiť hromadenie toxického peroxidu vodíka, najmä v chloroplaste, čo môže spôsobiť zvýšenie citlivosti fotosyntézy k stresovým faktorom a tým indukovať fotopoškodenie (SMIRNOFF, 1993).

Prekvapujúco, napriek zisteným nesignifikantným efektom prípravku ATONIK na antioxidačný metabolizmus čakanky sme pozorovali zvýšenie membránovej stability buniek (údaje nie sú ukázané). Tento výsledok koreluje zo zistením, že v bunkách nedochádza k hromadeniu peroxidových produktov lipidov, vyjadrených koncentráciou MDA (údaje nie sú ukázané). Z tohto dôvodu nás zaujímalo, ktoré metabolické dráhy sú ďalej ovplyvnené prípravkom ATONIK. Zamerali sme sa na osmoticky aktívne látky sacharidovej (glukóza a fruktóza) a aminokyselinovej (prolín) povahy, o ktorých existujú dôkazy, že prispievajú k expresii osmotického prispôsobenia. Naše

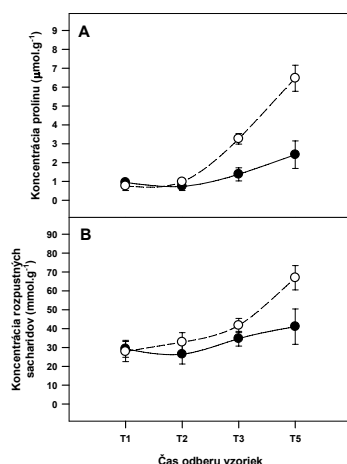
Počas vegetačného obdobia sme pozorovali klasickú fyziologickú zmenu koncentrácie asimilačných pigmentov v listoch čakanky, kedy sa postupne s ontogenézou rastlín koncentrácia chlorofylu a, chlorofylu b a celkových karotenoidov zvyšovala a následne, k terminálnemu obdobiu vegetačného obdobia vplyvom senescencie klesala (obr. 1). Pozorovali sme, že aplikácia prípravku ATONIK spomaľuje rozpad chlorofylu (najmä chlorofylu a) v porovnaní s neošetrenými rastlinami a tak odďaľuje senescenciu listov. Výsledkom je predĺženie aktivity fotosyntetického aparátu, ako bolo dokumentované dynamickými parametrami rastovej analýzy (výsledky nie sú ukázané).

Tvorba aktívnych foriem kyslíka, spôsobujúca oxidačné poškodenie buniek, je spätá najmä s energetickými ohranami bunky (chloroplast, mitochondria). Ich produkcia sa zvyšuje vtedy, keď nie je možné využiť energiu biochemickými procesmi a táto



Obrázok 2: Zmena aktivity enzýmov SOD (A), CAT (B) a (POX (C) počas ontogenézy rastlín čakanky. (●-kontrola; ○-ATONIK). n=4±SE.

výsledky ukazujú, že aplikácia prípravku ATONIK spôsobuje nárast koncentrácie voľného prolínu, ako aj koncentrácie rozpustných sacharidov (obr. 3).



Obrázok 3: Zmena koncentrácie prolínu (A) a celkových rozpustných sacharidov (B) počas ontogenézy rastlín čakanky. (●-kontrola; ○-ATONIK). n=4±SE.

Záver

Na základe našich prvých experimentov uskutočnených v prirodzených podmienkach prostredia, práca sumarizuje metabolické zmeny v rastlinách čakanky, foliárne ošetrenej prípravkom ATONIK, ktorý sa zaraďuje do skupiny morforegulátorov rastu a používa sa v manažmente produkcie mnohých plodín. Na základe zmien koncentrácie asimilačných pigmentov môžeme konštatovať, že rastliny ošetrenej prípravkom ATONIK sú dlhšiu dobu fotosynteticky aktívne, pretože nitrofenoláty odďaľujú senescenciu listov. Pozorovali sme významné zvýšenie aktivity antioxidantného enzýmu SOD. Na druhej strane musíme konštatovať, že aktivita ďalších enzýmov antioxidantnej kaskády (CAT a POX) nebola aplikáciou prípravku ATONIK zvýšená, čo bolo v kontraste s predpokladom a experimentálne dokázanými výsledkami popísanými v literatúre pri iných plodinách. Napriek tomu rastliny ošetrenej prípravkom ATONIK sa vyznačovali vyššou stabilitou biologických membrán, čo korelovalo aj s menším množstvom MDA v porovnaní s neošetrenými rastlinami. Tento jav môže byť spôsobený vyššou koncentráciou osmoticky aktívnych látok v bunke ošetrovaných rastlín, najmä prolínu a glukózy. V ďalšom výskume sa

zameriame na detailnejšie popísanie účinku prípravku ATONIK na kľúčové enzýmy biosyntézy sacharidov, čo prispieje k poznaniu mechanizmu účinku nitrofenolátov pri zlepšovaní tolerance rastlín voči stresovým činiteľom a stabilizácii úrod.

Literatúra

- EVANS, L.T. 1993. Crop evolution, adaptation and yield. Cambridge Univ. Press, 1993, 486 p.
- RICHARDS, R.A. 1999. Plant responses to cellular dehydration during environmental stress. (Eds: Close, T.J. – Bray, E.A.), *Am. Soc. Plant Physiol.*, Rockville, 1999, p. 211-223.
- OOSTERHUIS, D.; ROBERTSON, W. 2000. *Proceedings of the 2000 Cotton Research Meeting*, 2000, 22-32.
- ČERNÝ, I.; PAČUTA, V. 2003. *Journal Central European Agriculture*, 2003, 4: 419-426.
- BYNUM, J.B.; COTHREN, J.T.; LEMON, R.G. 2007. *Journal Cotton Science*, 2007, 11: 20-25.
- FERNANDEZ, C.J.; CORREA, J.C. 2005. *Proc. Beltwide Cotton Conf.*, 2005, 2075-2077.
- DJANAGUIRAMAN, M.; DEVI, D.; SHEEBA, J.; BANGARUSAMY, U.; BABU, R. 2004. *Trop. Agric. Res.*, 2004, 16: 25-36.
- GUO, C.; OOSTERHUIS, D.M. 1995. *Proc. Beltwide Cotton Conf.*, 1995, 1086-1088.
- SHARMA, R.; SHARMA, B.; SINGH, G. 1984. *Phyton*, 1984, 44: 185-188.
- SMIRNOFF, N. 1993. *New Phytol.* 125, 1993, 27-58.
- LICHTENTHALER, H. 1987. *Meth. Enzymol.*, 148, 1987, 350-382.
- BRADFORD M.M. 1976. *Anal. Biochem.*, 72, 1976, 319-321.
- MADAMANCHI, N.R.; DONAHUE, C.L.; CRAMER, R.G. 1994. *Plant Mol. Biol.*, 26, 1994, 95-103.
- AEBI, H. 1984. *Meth. Enzymol.*, 105, 1984, 121-126.
- CHANCE, B.; MAEHLY, A.C. 1955. *Meth Enzymol.*, 2, 1955, 764-817.
- HODGES, D.M.; DELONG, J.M.; FORNEY, C.F.; PRANGE, R.K. 1999. *Planta*, 207, 1999, 604-611.
- TRIPATHY. 2000. *TAG*, 100, 2000, 1197-1202.
- BATES, L.S.; WALDREN, R.P.; TEARE, J.D. 1973. *Plant Soil*, 39, 1973, 205-207.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. 1956. *Anal. Chem.*, 28, 1956, 350-356.

Pod'akovanie

MK ďakuje M. Liozinovej za precíznu laboratórnu prácu. Práca bola finančne podporená projektom VEGA číslo 1/3461/06.

Adresa autorov:

Marek KOVÁR, Katedra fyziológie rastlín, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra; e-mail: kovar@afnet.uniag.sk

Ivan ČERNÝ, Katedra rastlinnej výroby, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra.

ÚČINOK POSTUPNEJ DEHYDRATÁCIE NA VYBRANÉ FYZIOLOGICKÉ PARAMETRE HRACHU SIATEHO (*PISUM SATIVUM L.*) THE EFFECT OF GRADUAL DEHYDRATATION ON SOME PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF PEA (*PISUM SATIVUM L.*)

Eleonóra KRIVOSUDSKÁ – Marián BRESTIČ – Miroslav DOBRODENKA – Jozef
ŠTEFANKA

There are characteristics of four genotypes (Xantos, Svit, Debrecényi Galamb, Novozélandský) of pea (Pisum sativum L.). Among tested genotypes , cultivar Xantos a Svit showed the highest free proline and RWC vallues after 17 days without watering. This suggest on higher capacity for osmotic adjustment in these cultivars.

Key words : genotypes, water stress, pea, breeding

Úvod

Problematika sucha a suchovzdornosti je veľmi komplexná a je daná širokým spektrom faktorov. Voda, jej dostatok, či nedostatok je hlavným limitujúcim faktorom vysokej produktivity plodín.

Využitie vhodných genotypov patrí nielen k riešeniam, ktoré môžu priniesť významný ekonomický efekt, a teda stabilitu úrod, ale aj ekologickú stabilitu prostredia. Je treba poznamenať, že otázky zvyšovania tolerancie na sucho sú u poľnohospodárskych plodín diskutované desaťročia. Napriek mnohým známym poznatkom o mechanizmoch tolerancie rôznych poľnohospodárskych druhov sa ani existujúci potenciál suchovzdornosti nevyužíva dostatočne, t.j. pri pestovaní aktuálnych genotypov bývajú zohľadňované skôr iné kritériá, čo svedčí o tom, že vplyv prostredia nepresiahol prah citlivosti a ekonomickej neefektívnosti výberu pestovaných odrôd.

Medzi najstaršie pestované plodiny zaraďujeme strukoviny. Práve hrach je jednou z najstarších kultúrnych plodín a má veľké nároky na vlhu. Najvyššiu potrebu vody má v čase kvitnutia a po odkvitnutí. Nedostatok vody v prvej časti vegetácie spôsobuje nízky vzrast rastlín, čo nie je žiaduce, najmä pri hrachoch zrnového typu. Nedostatok vlhy v čase kvitnutia a v čase po kvitnutí má za následok malé nasadenie strukov.

Cieľom práce bolo preto sledovať schopnosť osmotickú adjustáciu rôznych genotypov hrachu siateho počas dehydratácie a poukázať na význam výberu tolerantného genotypu.

Materiál a metódy

V pokusnom roku 2006 boli založené na Katedre fyziológie rastlín nádobové pokusy štyroch genetických zdrojov hrachu siateho (Xantos, Svit, Novozélandský a Debrecényi Galamb). Prvé dve odrody boli vyšľachtené na Šľachtiteľskej stanici v Hornej Strede a patria k semileafless (bezlistovým) odrodám. Zahranické genotypy Novozélandský (vysokého vzrastu) a Debrecényi Galamb (nízkeho vzrastu) patria medzi tzv. olistené typy.

Výsev semien hrachu sa uskutočnil v prvej dekáde apríla. Vo fenofáze kvitnutia bol u 50% rastlín indukovaný vodný stres prerušením dodávky vody. Zvyšných 50% rastlín bolo kontrolných a zalievaných počas celého trvania pokusu.

Na stresovaných aj kontrolných rastlinách (v najmladších plne vyvinutých dospelých listoch) boli sledované nasledovné parametre: relatívny obsah vody v listoch, obsah voľného prolínu v listoch, osmotický potenciál. Relatívny obsah vody (RWC) v % bol stanovený gravimetricky a obsah voľného prolínu v listoch refraktometricky metódou podľa BATES et al. (1973) spektrofotometricky ninhydrínovou metódou. Osmotický potenciál (Ψ_s) bol stanovený psychometricky (Wescor, Logan, Utah, USA).

Výsledky a diskusia

Poľné plodiny, resp. ich odrody môžu reagovať na stres rozdielnymi reakciami. Preto experimentálna determinácia a kvantifikácia vlastností biologického materiálu môže byť významná nielen pre ich toleranciu, adaptabilitu a rezistenciu, ale aj z hľadiska ďalšieho možného rozvoja biotechnologických metód a šľachtenia (KOSTREJ et al., 2000).

V súčasnosti je známych viacero obranných mechanizmov, ktorými rastliny prekonávajú vodný deficit, limitujúci produkčný proces. Medzi kľúčové patrí osmotická adjustácia (OA) (NILSEN, ORCUTT, 1996).

Bilanciu vody odráža parameter - relatívny obsah vody (RWC). Pokles hodnôt RWC pod 90% znamená iniciovanie zatvárania prieduchov, pokles pod 80% znamená iniciovanie metabolických mechanizmov, ako je osmotické prispôsobenie a pokles pod 70% už často predstavuje významný zásah do metabolizmu základných fyziologických procesov (BRESTIČ, OLŠOVSKÁ, 2001).

Keďže rok 2006 bol ovplyvnený nepriaznivým priebehom počasia, aj rastliny sledovaných genotypov reagovali na deficit vody rôzne. Výrazný pokles obsahu vody v listoch nastal na 17. deň vodného stresu. Najvyšší obsah vody si ku koncu dehydratácie udržali genotypy Svit a Xantos.

Akumulácia prolínu je takmer univerzálnou reakciou rastlín na vodný deficit (HARE et al., 1999). Jeho obsah môže byť podmienený odrodou a zdá sa, že prolín zohráva špecifické úlohy v ochrane fotosyntetického aparátu pred negatívnymi účinkami stresu (ŽIVČÁK, 2006). V našich pokusných meraniach bola najvýraznejšia akumulácia voľného prolínu pri genotypy Svit a Xantos.

Jedným z ďalších prejavov nedostatku vody je aj zníženie osmotického potenciálu. Ku koncu dehydratácie bola najnižšia hodnota osmotického potenciálu práve pri vyššie spomenutých odrodách Svit a Xantos.

Záver

V práci bol sledovaný vplyv postupnej dehydratácie (začiatok kvitnutia) na relatívny obsah vody – RWC, obsah voľného prolínu štyroch genotypov hrachu siateho (Xantos, Svit, Debrecényi Galamb, Novozélandský). Spomedzi testovaných genotypov si na 17. deň dehydratácie najvyšší obsah vody v listoch (RWC) udržal genotyp Xantos a Svit a zároveň aj akumulácia voľného prolínu bola najvýraznejšia, čo naznačuje vyššiu schopnosť osmotickej adjustácie u týchto odrôd.

Literatúra

1. BATES, L. S. – WALDREN, R. P. – TEARE, J. D.: Rapid determination of proline for water stress studies. In: *Plant and Soil*, roč. 39, 1973, s. 205 – 207.
2. BRESTIČ, M. – OLŠOVSKÁ, K.: Vodný stres: príčiny, dôsledky, perspektívy. Nitra: SPU, 2001, 149s. ISBN 80-7137-902-6.
3. HARE, P.D.: Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. In: *Journal of Experimental Botany*, 1999, 50, 333, 413-434.
4. KOSTREJ, A. et al.: Ekofyziológia produkčného procesu porastu a plodín. Nitra: SPU, 1998, s.140-147. ISBN 80-7137-528-4.
5. NILSEN, E. T. – ORCUTT, D. M.: Physiology of plants under stress. Abiotic factors. John Wiley & Sons, 1996, 689 p. ISBN 0-471-03512-6.
6. ŽIVČÁK, M.: Využitie diverzity fyziologických reakcií pre skríning genotypov pšenice tolerantných na sucho (Dizertačná práca), Nitra: SPU, 2006, 158 s.

PodĎakovanie

Práca bola podporená prostredníctvom finančnej podpory AV 1109/2004 MŠ SR G-201: „Klimatická zmena a sucho v SR: dopady a východiská pre udržateľné poľnohospodárstvo, produkciu a kvalitu“.

Adresa autorov :

Ing. Eleonóra Krivosudská, PhD., doc. Ing. Marián Brestič, CSc., Katedra fyziológie rastlín, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, e-mail: Eleonora.Krivosudska@uniag.sk

Ing. Miroslav Dobrodenka, Ing. Jozef Štefanka, Šľachtiteľská stanica Horná Streda, a.s.

IZOLÁCIA GÉNU CHITINÁZY Z ROSIČKY OKRÚHLOLISTEJ (*DROSERA ROTUNDIFOLIA* L.) POMOCOU GENOME WALKINGU THE ISOLATION OF CHITINASE GENE FROM SUNDEW (*DROSERA ROTUNDIFOLIA* L.) USING GENOME WALKING

Jana LIBANTOVÁ – Jana MORAVČÍKOVÁ – Ildikó MATUŠÍKOVÁ

Chitinases are enzymes belonging to pathogenesis-related (PR) proteins that are attractive for biotechnology due to their inhibitory activities against different phytopathogens. Here the isolation of an 1410 bp long genomic sequence encoding chitinase from the insectivorous sundew (Drosera rotundifolia L.) using degenerative PCR approach and Genome Walking kit is presented. The sequence comparison using Blastx revealed the presence of two introns of 110 bp and 552 bp length. The highest similarity on protein level (65% identities, 74% positives) was found to basic chitinase isolated from carnivorous plant Nepenthes khasiana. The sundew chitinase gene is one of the first nucleic sequences from this particular plant that in addition encodes for a putative plant defense gene.

Keywords: gene isolation, chitinase, primary structure, sundew

Úvod

Patogénne huby, ich adaptabilita na chemické fungicídy a zvýšený záujem verejnosti o škodlivý vplyv týchto zlúčenín na životné prostredie a ľudské zdravie, má za následok upriamenie pozornosti na bezpečnejšie, a teda prijateľnejšie alternatívne riešenia z hľadiska životného prostredia, ktoré zahrňujú aj hľadanie nových prírodných látok s antifungálnou aktivitou. Obmedzenia vplyvu rôznych škodcov na kultúrne rastliny pomocou biologicky aktívnych látok sa javí ako sľubná alternatíva ku chemickým pesticídom (MELCHERS a kol., 2000). Revolúcia v biotechnológiách priniesla značný záujem o identifikáciu a izoláciu génov, ktoré kódujú biologicky aktívne látky. Medzi takéto gény sa zaraďuje aj skupina génov kódujúcich hydrolytické enzýmy, glukanázy a chitinázy, ktorých jedna z funkcií spočíva v degradácii bunkovej steny patogénnych húb, čím dochádza k redukcii ich rastu (JOOSTEN a kol., 1995). Medzi málo preskúmané rastlinné druhy so silným antifungálnym potenciálom patrí mäsožravá rastlina rosička okrúhlostá (*Drosera rotundifolia* L.) z rodiny *Droseraceae*, genus *Drosera*. Z tohoto dôvodu, našu pozornosť sme zamerali na izoláciu sekvencie chitinázy z mäsožravej rastliny rosičky okrúhlostej, ktorá je bohatým zdrojom látok s antifungálnou aktivitou.

Materiály a metódy

Vnútroňný fragment chitinázy z rosičky okrúhlostej sme izolovali pomocou PCR s degenerovanými primermi FOR 5' TTGGICA(AG)ACI(AT)(GC)ICA(CT)GA(AG)AC 3' a REV 5' ATGGTACC(CG)(AT)CATCCA(AG)AACCAIA(ATG)IGCTG. PCR program zahrňoval 1 cyklus 94°C 2 min; 35 cyklov [94°C 30 s, 53°C 40 s; 72°C 90 s] 72°C 10 min.

Pomocou Genome Walking™ Kitu (Clontech) sme následne pomocou špecifických primerov pre chitinázu navrhnutých na základe parciálnej sekvencie chitinázy a adaptorových primerov nested PCR reakciou vyizolovali 5' upstream a 3' downstream fragmenty chitinázy. V prípade 5' upstream sekvencie sme najprv genómovú DNA štiepili restriktčnou endonukleázou *Pvu* II. Po ligácii adaptoru k restriktčným fragmentom sme 0.075 µg DNA použili na amplifikáciu fragmentu v PCR reakcii, kde sme ako forwardový primer použili primer navrhnutý v sekvencii adaptoru výrobcom kitu a reverzný špecifický primer so zložením: Chit REV 5' ATATGGACCATCTGGTGCAGTTGG 3'.

PCR program zahrňoval 1 cyklus 94°C 3 min; 35 cyklov [94°C 25 s, 62°C 30s, 72°C 90s;] 72°C 10 min. V prípade 3' downstream sekvencie sme najprv genómovú DNA sme štiepili restriktčnou endonukleázou *Stu* II.

Po ligácii adaptoru k restriktčným fragmentom sme 0.075 µg DNA použili na amplifikáciu fragmentu v PCR reakcii, kde sme ako reverzný primer použili primer navrhnutý v sekvencii adaptoru výrobcom kitu a forwardový špecifický primer so zložením: Chit FOR 5' GCATCCGAATGATAATGACAGTGG 3'. PCR program zahrňoval 1 cyklus 94°C 3 min; 35 cyklov [94°C 25 s, 62°C 30s, 72°C 90s;] 72°C 10 min.

Následne sme produkty PCR reakcií izolovali z gélu pomocou Gél extrakčného kitu firmy QIAGEN, klonovali do pGem-T vektorového Systému II (Promega), a komerčne sekvenovali pomocou M13 primerov. Získanú sekvenciu sme analyzovali pomocou programov GENSCANW <http://genes.mit.edu/GENSCAN.html> a BLAST <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>.

Výsledky a diskusia

Prítomnosť chitináz v sekréte tráviacich žliaz mäsožravej rastliny *Drosera rotundifolia* predpokladá prítomnosť a aktivitu týchto enzýmov tak pri procesoch trávenia hmyzu, ako aj pri obrane rastliny voči fytopatogénnym hubám či baktériám (JUNIPER a kol., 1989). Experimenty sme preto zamerali na izoláciu a identifikáciu génu pre chitinázu v rosičke okrúhlostej s cieľom v budúcnosti ju podrobnejšie charakterizovať, prípadne využiť na cieľnú transgenózu.

V prvom kroku PCR reakciou s degenerovanými primermi, ktoré boli navrhnuté v konzervatívnej oblastiach rastlinných chitináz, sme amplifikovali 987 bp DNA fragment. Po jeho klonovaní do pGem-T vektora, sekvenácii a následne pomocou BLAST analýzy sme odhalili, že DNA fragment kóduje časť sekvencie chitinázy.

Na základe získanej DNA sekvencie sme navrhli nové špecifické primery a pomocou Genome Walking™ Kitu v PCR reakciách sme amplifikovali DNA fragmenty zodpovedajúce 5' a 3' DNA koncovým sekvenciám príslušného génu.

Ďalšie analýzy ukázali, že získaná genómová chitináza izolovaná z mäsožravcej rastliny *Drosera rotundifolia* je kódovaná 1410 pármí báz. Porovnaním preloženej sekvencie s databázou proteínov v Blastx sme zistili, že sekvencia obsahuje dva intróny o veľkosti 110 a 552 bp. Najväčšiu zhodu na proteínovej úrovni (65% identít a 74% pozitív) vykazuje izolovaná chitináza s bázickou chitinázou mäsožravcej rastliny *Nepenthes khasiana*.

Nukleotidová sekvencia kóduje proteín zložený z 269 aminokyselín. Proteínová sekvencia obsahuje Chitin viažúcu doménu, ktorá zohráva úlohu pri väzbe chitínových subjednotiek a glykozid hydroláza „family“ 19 chitinázovú doménu. Hoci predbežná analýza pomocou GENSCANu (<http://genes.mit.edu/GENSCAN.html>) naznačila, že izolovaná sekvencia obsahuje kompletnú sekvenciu od translačného štartovacieho kodónu po stop kodón, porovnaním sekvenčnej homológie s inými chitinázami z Génovej banky <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> sme zistili, že pravdepodobne časť 3' sekvencie z kompletného chitinázového génu chýba. Následne preto svoju pozornosť upriamime na izoláciu chýbajúcej časti génu pomocou novo navrhnutých špecifických primerov a Genome Walking™ Kitu.

Záver

Izolovaný gén kódujúci chitinázu z *Drosera rotundifolia* predstavuje jeden z prvých génov izolovaných z genómovej DNA tohto rastlinného druhu. Po kompletizácii génu sa sústreďíme na izoláciu cDNA klonu, jeho klonovanie do expresného vektora a enzýmovú a antifungálnu charakterizáciu príslušného proteínu.

Literatúra

1. MELCHERS, L.S. – Stuiver, M.H.: Novel genes for disease-resistance breeding. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3, 2000, 147-152.
2. JOOSTEN, M.H.A.J. – VERBAKEL, H.M. – NETTEKOVEN, M.E. – Van LEUWEN, J. - Van Den VOSSSEN, R.T.M. – De WIT, P.J.G.M.: The phytopathogenic fungus *Cladosporium fulvum* is not sensitive to the chitinase and β -1,3-glucanase defence proteins of its host, tomato. *Physiol.Mol. Plant Pathol.* 46, 1995, 45-49.
3. JUNIPER, B.E. – ROBINS, R.J. – JOEL, D.M.: The carnivorous plants. Academic Press, London, 1989, 1-392

Práca bola vypracovaná v rámci projektu VEGA 2/5034/25.

Adresa autora:

Ing. Jana Libantová, CSc. Ústav genetiky a biotechnológií rastlín SAV, Akademická 2, P.O. Box 39A, 950 07 Nitra

PŠENICE (*TRITICUM AESTIVUM* L.) SE TŘEMI PESTÍKY V KVÍTKU WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) WITH THREE PISTILS IN A FLORET

Petr MARTINEK – Zheng-Song PENG

*Literature sources and description of the wheat (*Triticum aestivum* L.) producing three pistils in a floret (three pistils mutant – TP) are presented. The TP that can form up to three kernels in a floret was obtained in China in 2004. A dominant character of the three pistils trait was confirmed. The TP yielded only 44 % in comparison with check cultivars of spring wheat ‘Vánek’, ‘Granny’ and ‘SW Kadrlj’, registered in the Czech Republic. It exhibited low resistance to fungal pathogens, low 1000-kernel weight (TKW), low volume weight and lower germination vigour. The TP was crossed to significant cultivars of winter wheat aiming to transfer the gene encoding three pistils (*Pis1*) to the genetic background of currently grown cultivars. TKW of the harvested F_1 plants was around the average of parents. Possibilities of employment of the TP as an alternative gene resource to increase reproduction spike capacity (a kernel number per spike) are discussed.*

*Key words: *Triticum aestivum*, three-pistils, floret, kernel weight*

Úvod

Pšenice jako jedna z nejvýznamnějších plodin zaujímala významnou úlohu v rozvoji lidské populace. Značné požadavky na její produkci vedou při nemožnosti podstatného zvyšování pěstební plochy (podle FAO pšenice zaujímala největší plochu v roce 1981, kdy jí bylo na Zemi pěstováno 239 milionů hektarů) k orientaci genetiků a šlechtitelů na zvyšování genetického výnosového potenciálu (VP) pšenice (EVANS & FISCHER, 1999). Investice vynakládané do genetického výzkumu a do šlechtění přináší z ekonomického pohledu výraznější a rychlejší profit než mnohem vyšší a dlouhodobé investice do agronomického prostředí, kde se VP realizuje formou produkce (SATORRE & SLAFER, 2000).

Zvyšování VP je doprovázeno zvyšováním hodnot sklizňového indexu (poměru hmotnosti zrna k hmotnosti nadzemní biomasy), zatímco množství vyprodukované biomasy zůstávalo šlechtitelskou činností téměř neovlivněno. O tom svědčí výsledky srovnávacích pokusů nových a starých odrůd pšenice (SIDDIQUE & WHAN, 1994). Proto období výrazného vlivu šlechtitelské činnosti na VP (které je často označováno jako ‘zelená revoluce’) lze považovat především za období, které bylo doprovázeno hlavně výraznými změnami morfologických proporcí rostlin ve prospěch klasu (zvýšení hmotnosti zrna klasu, zkrácení délky stébla a zlepšení odolnosti k poléhání, zvýšení hustoty porostu a podobně) tak, aby porost byl schopen dosahovat co nejvyšší výnos.

Vzhledem k tomu, že fotosyntetickou výkonnost porostů v přepočtu na jednotku plochy se nedařilo šlechtitelskou činností výrazně zlepšovat (o čemž svědčí jen nepatrný nárůst sušiny nadzemní biomasy porostu u nových odrůd), lze očekávat, že budoucí šlechtitelský progres u pšenice bude navazovat na stávající trendy morfologických a fyziologických změn (ARAUS, 1996; REYNOLDS et al., 1996).

Určitý význam může v tomto smyslu mít morfologická struktura klasu, zvláště pak geny přímo ovlivňující produkci zrna v klasu (MILLET, 1988). Klasifikaci známých genetických odchylek v morfologické struktuře klasu nastínil MARTINEK et al. (2005), kteří z hlediska uspořádání klásků na klasovém větenu rozlišují dvě základní skupiny: a) standardní klasy, kde na jeden nodus klasového větenu připadá jeden klásek a b) nadpočetné klásky, kde z jednoho nodu klasového větenu vyrůstá více než jeden klásek. Kromě těchto dvou skupin, jež způsobují výrazné rozdíly ve vzhledu klasů, existují ještě další dvě skupiny, které se bezprostředně netýkají uspořádání klásků klasu: c) šroubovitost klasového větenu a d) kvítka se třemi pestíky. Projev tří pestíků v kvítku může u pšenice vést k vytvoření až tří fertálních zrn (obilek) v kvítku. Přestože u běžných odrůd pšenice se standardními klasy není zdaleka ještě vyčerpán potenciál zakládaných reprodukčních orgánů (o čemž svědčí výrazný vzestup počtu zrn v kláscích u moderních odrůd), může být užitečné zabývat se vývojem alternativních genových zdrojů s principiálně úplně novou genetickou variabilitou, umožňující zvyšování počtu zrn v klasu.

Zřejmě první literární zmínku o existenci tří pestíků v kvítku uvádějí CHEN et al. (1983), kteří našli spontánní třípestíkovou ‘three pistils’ (TP) mutaci v populaci čínské krajové odrůdy. TP mutant se vyznačoval normálním uspořádáním klásků klasu (jeden klásek na jeden nodus klasového větenu), ale vytvářel tři pestíky v kvítku, které produkovaly až tři obilky v kvítku. TP mutant tedy má potenciál vytvářet tři zrna v kvítku a tím výrazně zvyšovat počet zrn v klasu. Znak TP byl rovněž nazýván v různých pracích různým způsobem. Například: mnohočetné semeníky (multi-ovary), trojzrnky (tri-grain), mnohočetná zrna (multi-grain) nebo mnohočetné plodolisty (multi-gynoecia) – soubor plodolistů je latinsky *gynaeceum*. Vzhledem k nejednoznačnosti názvosloví jsou v následujícím textu zachovány názvy použité citovanými autory. TONG & TONG (1984) studovali morfologický význam vlastnosti ‘multi-ovary’ a příslušné lokusy pro tento znak u pšenice. WANG et al. (1991) studovali vývoj embrya a endospermu u znaku ‘tri-grain’. SHEN et al. (1992) zjistili že znak ‘multi-ovary’ je kontrolován komplementárním působením genu *m1* na krátkém ramenu chromosomu 5D a genu *m2* na krátkém ramenu chromosomu 6B. Lokalizaci provedli pomocí studia způsobu segregace znaku ‘multi-ovary’ u série kříženců s monosomií a ditelosomií, odvozenými od odrůdy Chinese Spring. Rovněž uvádějí, že cytoplasma rodičů ovlivňuje expresi tohoto znaku u F_1 a F_2 kříženců. WU et al. (2000) našli, že fenotyp znaku ‘multi-ovary’ je odlišný mezi

reciprokými F₁ hybridy, avšak že tento znak je podmíněn jen jedním recesivním genem, což potvrdil monohybridní způsob segregace v F₂. MURAI et al. (2002) zjistili, že jaderně-cytoplasmatické interakce mohou u pšenice vyvolat přeměnu prašníků na pestíky a tento jev nazvali termínem 'pistillody'. Konverze prašníků na pestíky byla rovněž nalezena u mutace indukované radioaktivním zářením u ječmene (MOH & NILAN 1953). Expres TP je však odlišná od projevu 'pistillody' protože u TP vytvářející tři prašníky a tři pestíky v kvítku jsou schopny vytvářet normální fertillní gamety.

PENG (2003) zjistil, že TP mutant je podmíněn jedním dominantním genem. PENG et al. (2004) označili tento gen názvem *Pis1* a lokalizovali ho na chromosomu 5B za pomoci série křížení s Chinese Spring - *Lophopyrum elongatum* substitučními liniemi, kde každý chromosom z A, B, a D genomových párů Chinese Spring byl nahrazen homeologickým párem chromosomu z E^c genomu *L. elongatum* (Host) Löve. (Host). /syn. *Elytrigia elongata* (Host) Nevski/. Přestože počet zrn v klasu u TP mutanta byl vyšší, hmotnost jednotlivých zrn byla nižší. WANG et al. (2005) detekovali pomocí RAPD marker, který byl ve vazbě s dominantním genem pro znak 'multi-ovary' u pšenice. WANG et al. (2007) provedli mapování genu pro 'multi-grain' a zjistili, že se nachází na chromosomu 2D.

Do České republiky přivezl vzorek TP pšenice Martinek v roce 2004, který ho získal od profesora Zheng-Song Penga během služební cesty do Číny (MARTINEK, 2004) (obr. 1). Tento vzorek jarní pšenice byl dále využit pro genetické mapování znaku TP pomocí mikrosatelitních markerů (na pracovišti v Ibaraki University v Japonsku) týmem profesora Nobuyoshi Watanabe v rámci mezinárodní spolupráce (PENG et al., 2007). Zajímavé bylo, že gen *Pis1*, nebyl ve vazbě s žádným polymorfickým mikrosatelitním markerem pro chromosom 5B při studiu F₂ populace křížence Novosibirskaya 67/TP mutant. To ovšem nesouhlasí s předchozím zjištěním, které provedli PENG et al. (2004). Tato skutečnost vedla k následnému ověření jiných publikovaných výsledků (WANG et al. 2007; SHEN et al. 1992). Byla vytvořena genetická mapa a bylo zjištěno, že gen *Pis1* se nalézá mezi dvěma mikrosatelitními geny *Xgwm539* a *Xgwm349* na dlouhém ramenu chromosomu 2D (PENG et al., 2007). Toto bylo v souladu se zjištěním, ke kterému dospěli nezávisle WANG et al. (2007). Současně nebyla potvrzena spojitost s geny *m1* a *m2*. Lze předpokládat, že některé výše uvedené rozdíly ve způsobu genetického založení fenotypového projevu tří pestíků v kvítku budou rovněž způsobeny rozdílným původem analyzovaných genotypů.

Materiál a metody

Je provedeno předběžné hodnocení TP mutanta získaného z Číny. Po namnožení byl TP mutant přiřazen do běžných výnosových pokusů s jarní pšenicí a byl hodnocen v Kroměříži ve výnosových parcelách 1 x 10m² v roce 2006 a 4 x 10m² v roce 2007 (tab. 1). Pokusy byly založeny po předplodině ozimé řepce při výsevu 5 milionů klíčivých zrn na hektar při dávce dusíku 80 kg.ha⁻¹ aplikované ve dvou dávkách. TP mutant byl rovněž křížen s vybranými odrůdami ozimé pšenice a některými donory odolnosti k houbovým chorobám. Bylo provedeno porovnání hmotnosti 1000 zrn (HTS) použitých rodičovských genotypů se znem sklizeným z F₁ rostlin příslušných kříženců (embrya zrn z rostlin F₁ představují z genetického pohledu již generaci F₂) v podmínkách nevytápěného skleníku (tab. 2). Výsev byl proveden do půdy ve stejném termínu na podzim 2006.

Výsledky a diskuse

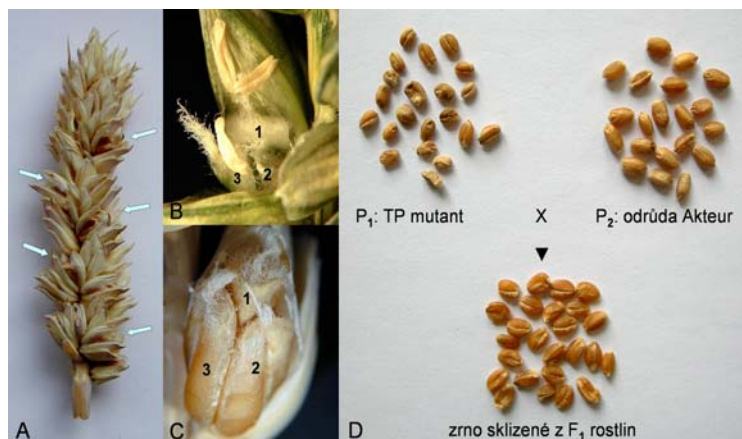
TP mutant vytvářel téměř ve všech kvítcích tři pestíky a v některých kvítcích až 3 zrna. Nevytvářel tři pestíky v terminálních kvítcích klásku, které jsou i u běžné pšenice nedostatečně vyvinuté. Omezený prostor v kvítcích způsobuje zploštění zrn (obrázek 1), v některých případech dvojice a trojice zrn mají tendenci držet slabě srostlé pohromadě bazální částí. TP mutant představuje jarní formu pšenice převážně s bezosinnými klasy. U jednotlivých rostlin v porostu se však rovněž vyskytly třípestíkové rostliny s krátce osinatými a osinkatými klasy.

TP mutant dosáhl pouze 44 % výnosu ve srovnání s kontrolními odrůdami jarní pšenice Vánek, Granny a Kadrlj. Vyznačoval se nízkou odnožovací schopností, nízkou odolností k houbovým patogenům, nízkou objemovou hmotností zrn a nízkou hmotností 1000 zrn, (tab. 1), která měla rovněž nízkou klíčivost.

TP mutant byl křížen s některými odrůdami ozimé pšenice s cílem přenést gen *Pis1* do genetického pozadí současných evropských odrůd, což by teoreticky mohlo umožnit vzniknout odrůdě ozimé pšenice s se zvýšeným počtem zrn klasu. Byl potvrzen dominantní charakter projevu tří pestíků u recipročných křížení, nebyl však proveden podrobný rozbor frekvence výskytu většího počtu zrn v kvítcích recipročných kříženců. Porovnání HTS TP mutanta s některými rodičovskými odrůdami ozimé pšenice použitými do křížení ukázalo, že HTS sklizených zrn z F₁ rostlin přibližně odpovídá průměru HTS použitých parentálních genotypů (tab. 2). Otázkou je, jestli křížení TP mutantu s odrůdami ozimé pšenice s vysokou HTS (jakou je například odrůda Rheia) povede k vytvoření linií s přijatelnou HTS pro potřeby praxe.

Obrázek 1.

A – TP mutant pšenice získaný z Číny (šipkami jsou označeny některé kvítky obsahující tři zrna),
 B – tři pestíky v kvítku,
 C – skupina tří zrn v kvítku,
 D – zrna rodičovských genotypů a jejich křížence (malý prostor pro vývoj zrn způsobuje jejich zploštění)



Tabulka 1: Porovnaní TP mutantu se standardními odrůdami jarní pšenice v polních výnosových pokusech 2007

Název	Výnos		Datum metání	Datum zralosti	Padlí travní (9-1)	Rez pšeničná (9-1)	Fuzárium klas (9-1)	Výška porostu (cm)	HTS (g)	Objem. hmotnost (kg.hl ⁻¹)
	(t.ha ⁻¹)	na kont. (%)								
TP mutant	2,85	44	28.5.	16.7.	5	5	6	71	27,9	74,5
Vánek	6,49	100	31.5.	23.7.	7	7	8	88	47,5	81,1
Granny	6,22	96	30.5.	22.7.	8	8	8	85	42,0	80,9
SW Kadrijl	6,68	103	2.6.	23.7.	7	9	8	85	43,5	81,3
Průměr kont.	6,46	100			7	8	8	86	44,3	81,1

Tabulka 2: Hmotnost 1000 zrn (HTS) TP mutantu a jeho kříženců s odrůdami ozimé pšenice ve skleníku 2007

P ₁ matka (♀)		P ₁ otec (♂)		Průměr rodičů (A)	Zrno z F ₁ rostlin (B)	Rozdíl HTS B - A
Název	HTS (g)	Název	HTS (g)	HTS (g)	HTS (g)	(%)
TP mutant	31,3	Akteur	41,7	36,5	37,2	2
		Rheia	52,7	42,0	42,6	1
		Globus	48,3	39,8	37,2	-7
		KM 823-4-01	40,2	35,8	35,9	0
		Iridium	41,2	36,3	31,6	-13
		Pannonia	50,6	41,0	44,2	8
Akteur	41,7	TP mutant	31,3	36,5	37,2	2
Rheia	52,7			42	43,6	4
Simila	45,2			38,3	36,5	-5
Průměr				38,7	38,4	-1

Hmotnost zrn obecně závisí na velikosti prostoru v květní dutině (MILLET, 1986). Lze předpokládat, že růst centrálního zrna je u TP omezován v růstu dvěma bočními zrny a prostorem vymezeným pluchou (lemma) a pluškou (palea). Pravděpodobně nedokonalý vývin většího počtu zrn v některých kvítcích může způsobovat nižší klíčivost zrna TP mutantu oproti normálním odrůdám. To může snižovat potenciální zemědělskou využitelnost genu *Pis1* pro praxi. Lze předpokládat, že opakovaným zpětným křížením na odrůdy pšenice bude možné poměrně snadno převést gen *Pis1* do intenzivních odrůd, zvláště pak do ozimých forem. Pro exaktní studium významu genu *Pis1* by bylo dobré vytvořit téměř isogenní linie, lišící se navzájem pouze přítomností tohoto genu.

Znak způsobující větší počet pestíků v kvítku byl rovněž nalezen u jedné linie nově vytvořeného druhu *Tritipyrum*, vytvořeného na základě křížení *Triticum durum* a *Thinopyrum bessarabicum* v důsledku vzájemného působení dvou recesivních genů – jednoho z pšenice tvrdé a druhého z *Th. bessarabicum* (MILLER et al. 2000).

Závěr

Z literatury je zřejmé, že mohou existovat tři odlišné genové zdroje pšenice (*T. aestivum* L.) s rozdílným způsobem genetického založení projevu tří pestíků (a potažmo i tří zrn) v kvítku. Vzhledem k trendu šlechtění na zvyšování výnosu, nelze vyloučit, že tento znak může mít šlechtitelský význam. Protože TP mutant pocházející z Číny má řadu nevýhodných vlastností pro přímé využití, bude nezbytné vytvořit cestou zpětných křížení na současně významné odrůdy pšenice šlechtitelsky přijatelný genový zdroj a rovněž vyřešit problém nízké hmotnosti 1000 zrn.

Poděkování

Děkují profesoru Z-S Pengovi za poskytnutí vzorku a profesoru Nobuyoshi Watanabe za možnost spolupráce při studiu genů pro nestandardní morfotypy klasu. Výzkum byl podpořen projektem 03108 Ministerstva školství Čínské lidové republiky a výzkumným záměrem MSM 2532885901 (etapou E) MŠMT České republiky.

Literatura

1. ARAUS, J.L.: Integrative physiological criteria associated with yield potential. In: Reynolds, M. (ed), Increasing Yield Potential in Wheat: Breaking the Barriers. CIMMYT Int. Symp., CIANO, Cd. Obregon, Mexico. CIMMYT, Mexico, D.F., 1996: 150-166.
2. EVANS, L.T. – FISCHER, R.A.: Yield potential: its definition, measurement, and significance. From the symposium „Post Green Revolution trends in crop yield potential: increasing stagnant, or greater resistance to stress?“, held at the annual ASA-CSSA-SSSA meeting, Baltimore, USA, 19 October 1998. Crop Science, 39 (6), 1999: 1544-1551.
3. CHEN, J-S. – ZHANG, L-H. – WU, B-L.: A preliminary report on the discovery and breeding of the “trigrain wheat”. Acta Agronomica Sinica, 9, 1983: 69-72.
4. MARTINEK, P.: Cestovní zpráva. Čínská lidová republika. Kroměříž, Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s.r.o., 2004: 1-12. (uloženo v knihovně ZVÚ Kroměříž, s.r.o.)
5. MARTINEK, P. – WATANABE, N. – PENG, Z-S.: Gene resources of wheat (*Triticum aestivum* L.) with different arrangement of spikelets in spike. 7th Int. Wheat Conference, Mar del Plata, Argentina, 2005: 341.
6. MILLER, T.E. – KING, I.P. – HASSANI, H.S. – CALIGARI, P.D.S. – READER, S.M.: *Tritipyrum*, a potential new cereal with salt tolerance. John Innes Centre & Sainsbury Laboratory Annual Report 1998/1999, 2000: 68-69.
7. MILLET, E.: Relationship between grain weight and the size of floret cavity in the wheat spike. Annals of Botany, 58, 1986: 417-423.
8. MILLET, E.: Grain weight is largely determined by genes for spike morphology. Proc. 7th Int. Wheat Genet. Symp., Cambridge, England, 1988: 593-596.
9. MOH. C.C. – NILAN, R.A.: Multi-ovary in barley. A mutant induced by atomic bomb irradiation. J. Hered., 44, 1953: 183-184.
10. MURAI, K., – TAKUMI, S. – KOGA, H. – OGIHARA, Y.: Pistillody, homeotic transformation of stamens into pistil-like structures, caused by nuclear-cytoplasm interaction in wheat. Plant J., 29, 2002: 169-181.
11. PENG, Z-S.: A new mutation in wheat producing three pistils in a floret. J. Agron. Crop Sci., 189, 2003: 270-272.
12. PENG, Z-S. – MARTINEK, P. – KOSUGE, K. – KUBOYAMA, T. – WATANABE, N.: Genetic mapping of a mutant gene producing three pistils in a floret of common wheat. J. Appl. Genet., 2007 (in press)
13. PENG, Z-S. – YANG, J. – WEI, S-H. – ZENG, J-H.: Characterization of common wheat (*Triticum aestivum* L.) mutation line producing three pistils in a floret. Hereditas, 141, 2004: 15-18.
14. REYNOLDS, M.P. – van BEEM, J. – van GINKEL, M. – HOISINGTON, D.: Breaking the barriers in wheat: A brief summary of the outcomes of an international consultation. In: Reynolds, M. (Ed.), Increasing Yield Potential in Wheat: Breaking the Barriers. CIMMYT Int. Symp. CIANO, Cd. Obregon, Mexico, CIMMYT, Mexico, D.F., 1996: 1-10.
15. SATORRE, E.H. – SLAFER, G.A.: Wheat ecology and physiology of yield determination. New York, Food Products Press, 2000: 1-503.
16. SHEN, G-H. – TONG, Y-Z. – SHEN, G-Z.: Localization of the ‘multi-ovary’ gene on chromosome and chromosomal arm of common wheat using monosomic and ditelosomic analyses. Chinese Journal of Genetics, 19, 1992: 335-338.
17. SIDDIQUE, K.H.M. – WHAN, B.R.: Ear:stem ratios in breeding populations of wheat: significance for yield improvement. Euphytica, 73, 1994: 241-254.
18. TONG, Y-Z. – TONG, P-D.: Studies on the multi-ovary character to wheat. I. The morphological appearance and gene loci of multi-ovary wheat. Journal of Shanghai Normal University, 2, 1984: 48-53.
19. WANG, Y-Z. – DING, H-B. – CHEN, C. – CHEN, J-S.: The development and abnormality of embryo and endosperm in trigrain wheat. Acta Botanica Sinica, 33, 1991: 176-180.
20. WANG, J-W. – ZHANG, G-S. – LIU, H.W. – SONG, Y-Z. – NIU, N.: Detection of a RAPD marker linked to dominant multi-ovary gene in wheat (*Triticum aestivum*). J. Agric. Biotech., 13, 2005: 553-556.
21. WANG, Z-G. – XU, D-H. – LI, J-M. – WANG, J. – LI, W-G.: Mapping of multi-grain trait in common wheat. In Abstracts of the 111th meeting of Japanese Society of Breeding, Mito, Ibaraki, Japan, 30-31 March 2007. Breed. Res., 9 (extra issue 1), 2007: 295.
22. WU, J. – LI, B-Q. – ZHAO, J-X.: Genetic analysis of multi-ovary character of trigrain wheat. Acta Univ Agriculture Boreali-occidentalis, 28, 2000: 58-60.

Adresy autorů:

Ing. Petr Martinek, CSc., Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787, 767 01 Kroměříž, Czech Republic, tel.: +573 317 158, fax.: +573 339 725, e-mail: martinek.petr@vukrom.cz,
Prof. Zheng-Song Peng, China West Normal University, Nanchong, Sichuan, 637002, P. R. China, e-mail: pzs8833@163.com

DYNAMICS OF THE STEM-BASE DISEASES DEVELOPMENT ON WHEAT DYNAMIKA VÝVOJE CHOROB PAT STÉBEL NA OZIMÉ PŠENICI

Pavel MATUSINSKY – Renata MIKOLASOVA – Tomas SPITZER

*Cultivars of winter wheat (Sulamit, Ebi, Drifter and Bill), farming practices (organic and conventional), soil management (ploughing compared to min- and no-tillage) and the preceding crop (cereal, maize and oilseed rape) were studied as factors affecting the incidence of stem-base pathogens. The stem-base diseases were assessed by molecular methods (PCR) at four growth stages. The dynamics of the stem base colonization by these fungi over the growing season were observed, and the association between individual pathogenic fungi was also evaluated. In addition, the fungal leaf sheaths penetration, which can cause physical disturbance, was assessed. The asymptomatic presence of fungal DNA in wheat tissue was confirmed. *Microdochium nivale* was found on the stem bases most frequently. Other fungi, such as *Oculimacula* spp., *Rhizoctonia cerealis* and *Fusarium* spp., were presented considerable less frequently. The statistical significant association was confirmed only between *M. nivale* var. *nivale* and *M. nivale* var. *majus*. Out of these, *M. nivale* tended to decrease in summer season, the frequency of occurrence of *Oculimacula* spp. and *R. cerealis* increased at later growth stages. Along with this, these species infected only plants previously colonized by *M. nivale*. The comparison of organic and conventional farming practices did not result in large differences in the relative incidence of stem-base pest species over the period of this study; nevertheless, a higher frequency of positive detection was recorded for three organisms (*O. aciformis*, *O. yallundae* and *M. nivale* var. *nivale*) under conventional farming. Other factors had none or only partial effects. Soil management didn't affect the stem-base pathogens incidence significantly. The preceding crop maize reduced the incidence of *M. nivale* var. *majus*.*

Key words: brown foot rot, eyespot, PCR diagnostics, sharp eyespot

Introduction

Complex of wheat stem base diseases includes fungal species *Oculimacula yallundae* and *O. aciformis* (anamorph: *Pseudocercospora herpotrichoides*), *Ceratobasidium cerealis* (anamorph: *Rhizoctonia cerealis*), two varieties of *Monographella nivalis* (anamorphs: *Microdochium nivale* var. *nivale* and *M. nivale* var. *majus*) and species of the genera *Gibberella* and *Fusarium*. The first three pathogens cause diseases with symptoms of distinct lesions on the stem base just above the crown. When they are severe, the plants are killed or break down at the base. A complex of several species of the fungi *Gibberella*, *Fusarium* and *Monographella* attack wheat plants causing foot and crown rot, by growing from crop residue. The fungus continues to grow into the crown tissue, rotting the crown and destroying the plant tissues responsible for transporting water from the roots to the above-ground parts of the plant (DRAPER et al., 2000). This study is aimed at the dynamics of colonizing wheat stem bases by species of phytopathogenic fungi and associations among these species. Winter wheat cultivars and farming practice was evaluated as a factor affecting incidence of stem-base diseases. Likewise, the other factors such as soil management and preceding crop were studied.

Materials and method

Four winter wheat cultivars (Sulamit, Ebi, Drifter and Bill) were conventionally cultivated after a cereal crop in small-plot field experiments. Certified seed, chemically treated with Vitavax 2000 (Carboxin 200 g l⁻¹ and Thiram 200 g l⁻¹), was used for sowing. Mineral fertilizers (regeneration and production rates of 30 kg N ha⁻¹ each in the form of ammonium nitrate with limestone) were applied to the stands. Treatment with herbicides was carried out in the autumn. A system of fungicidal treatments against leaf and ear diseases was applied (stem-base diseases were not chemically controlled). The same method of growing, i.e. conventional farming practice, was used to lay out experiments - always with one winter wheat cultivar (Sulamit) preceded by maize and oilseed rape. In addition to this, experiments under various practices of soil tillage were conducted: medium (22 cm), shallow (15 cm), and no-tillage. This soil management experiment was conducted under conventional farming practice.

In the system of organic farming, small-plot experiments were conducted with four winter wheat cultivars (Sulamit, Ebi, Drifter and Bill) in eight-course crop rotation after the preceding crop red clover according to IFOAM guidelines. The field in which the experiments were laid out has been maintained using the system of organic farming since 1991, i.e. for more than 15 years.

All plots (2 x 5 m) were arranged in randomized blocks and four replications. The cultivars chosen had different susceptibilities to eyespot according to the Central Institute for Supervising and Testing in Agriculture of the Czech Republic (CISTA) resistance ratings. These were Drifter and Bill with low resistance to stem-base diseases and Sulamit and Ebi with moderate resistance. There are no fully resistant cultivars in the Czech Republic.

Samples were taken from the small plots at four growth stages (GS): tillering (GS 21), jointing (GS 32), heading (GS 51), and waxy maturity (GS 85). Twenty-five plants per replication were taken from each plot, i.e. a sample of 100 plants per variant.

Results and discussion

Molecular diagnostic methods were employed for nine species and varieties of pathogenic fungi. In samples, *Oculimacula* spp. DNA with balanced proportions of both species *O. acuformis* and *O. yallundae* was present (2.21 % and 1.77 %, respectively). The most frequent positive detected species was *M. nivale*, at approximately balanced proportions of varieties, *nivale* and *majus* (50.88 % and 53.98 % samples, respectively). Further, samples contained DNA of *R. cerealis* (3.54 %) and in three cases also *F. avenaceum*. The species *F. graminearum*, *F. culmorum* and *F. poae* were not detected at all in the samples from our experiments in 2006.

The two species of the eyespot fungus *Oculimacula* occurred in variants evaluating effects of the farming practice and preceding crop. They occurred at quite similar incidence. *O. acuformis* was detected at the last two times of assessment (GS 51 and GS 85) and *O. yallundae* at GS 85 only. Both of them were detected only under conventional farming, not under organic.

The sharp eyespot fungus *R. cerealis* was detected in samples at a relatively low level. In the variant of soil management; this species was found only on the final assessment (GS 85).

The predominant foot rot-causing species was *M. nivale*. Both varieties showed a significant time effect in the variant of soil management where the positive detection frequency of *M. nivale* var. *majus* was higher at GS 51 and GS 85 compared with the first two assessments (GS 21 and GS 32) and the detection frequency of *M. nivale* var. *nivale* was the highest at GS 51, whereas it declined at the following assessment time (GS 85). The incidence of the variety *nivale* was also influenced by the wheat cultivar and farming practice. Cv. Sulamit was infected by *M. nivale* var. *nivale* more frequently. Under conventional farming, the incidence of this variety was more frequent than under organic. The frequency of *M. nivale* var. *majus* detection in samples was significantly lower after the preceding crop maize than after cereal and oilseed rape.

According to the dynamics of colonization of wheat stem bases, we can divide the mentioned species into those which were present throughout the whole growing season at relatively high levels and those that colonize stem bases with successive ageing process of host. In the first group mentioned, there are two varieties of *M. nivale*, whose frequency of incidence gave prevalence over other species at all terms of assessment. Other species - namely *Oculimacula* spp. and *R. cerealis*, can be put into the second group. The moderate decrease of incidence of *M. nivale* at last term of assessment can be caused by competitive species from the second group. The statistical significant association was confirmed only between two varieties of *M. nivale*. No relationship was confirmed between other species studied.

Relatively high amount of samples contained no DNA from any of the studied species. The highest number of samples contained DNA of one and two pathogens and only several of them contained DNA of three pathogens. No samples containing DNA of more than three of the examined species were found. If two pathogenic organisms occurred on a stem base, these were mostly *M. nivale* var. *nivale* and *M. nivale* var. *majus*. The occurrence of this pathogen with *Oculimacula* spp. was sporadic only. In the case that three organisms were present on one stem base, these were always *M. nivale* vars *majus* and *nivale* plus the third species that was either *F. avenaceum*, *R. cerealis* or species of *Oculimacula*.

Leaf sheaths enclosing the stem at the height of about 1-5 cm above ground examined 220 days after sowing (16 May 2006) contained only DNA of *M. nivale* var. *nivale* and *M. nivale* var. *majus*. DNA of both varieties was also detected, even though at less extent, in the stem without leaf sheaths.

DNA of both varieties of *M. nivale* was found in a relatively high amount of samples without any visual infection symptoms (brown discoloration, spots, etc.). However, the frequency of the samples with the pathogen DNA content that simultaneously exhibited symptoms was significantly higher than in asymptomatic occurrence. There was a significant relationship between visual infection symptoms and the incidence of *M. nivale* vars *nivale* and *majus*. No significant relationship was found between the DNA presence in other examined species and stem-base disease symptoms.

Acknowledgements

This work was supported by GACR project no. 522/06/P103.

References

DRAPER, M. A. – STYMEIST, C. – JIN, Y. 2000: *Common root and crown rots of wheat in South Dakota*. SDSU Extension Extra. 2 pp.

Adresa autora:

Pavel MATUSINSKY, Renata MIKOLASOVA, Tomas SPITZER, Agricultural Research Institute Kromeriz, Havlickova 2787, 767 01 Kromeriz, email: matusinsky.pavel@vukrom.cz

VPLYV PRÍDAVKOV MÚKY Z POHÁNKY A PROSA NA KVALITU CHLEBA INFLUENCE OF INCORPORATION OF BUCKWHEAT AND MILLET ON THE QUALITY OF BREAD

Ľubomír MENDEL – Iveta ČIČOVÁ – Jarmila DROBNÁ – Magdaléna BIELIKOVÁ –
Katarína ZIRKELBACHOVÁ – Dalibor JEŠKO – Michaela HAVRELETOVÁ

The objective of the study was to determine the bread-making performance of blends of the flours from buckwheat and millet at 10, 15, 20, 25 % levels to wheat bread and to investigate the effect of the blends on the chemical characteristics, rheological characteristics and sensory quality of bread. The chemical composition and functional properties of wheat flour and their blends were determined. Two flours samples added to the blends were analyzed for crude protein, wet gluten, starch, fat, crude fiber, dietary fiber, macro nutrients and ash contents. The farinograph characteristics of composite flour (water absorption, dough development time, dough stability) were determined. Breads prepared from the blends were evaluated for physical characteristics (bread volume, high, width and spread ratio) and sensory characteristics (color of crust, color of crumb, crumb texture, flavor, taste and total sensory score was calculated). The flour blends had higher protein, fat, crude fiber, dietary fiber and ash contents than wheat flour. The level of these nutrients was improved with increased amounts of the blends. Water absorption capacities of the flour blends increased and dough development time decreased with increased level of blends. The dough stability decreased with increased amounts of the blends. Bread volume and spread ratio decreased significantly with increased addition of all blends. Sensory scores differed significantly amongst them color, flavor and overall acceptability. A substitution level 10% and 15% of used flours to bread flour produced acceptable bread. Bread prepared by supplementation with up to 15 % buckwheat flour showed high level of acceptability when compared to all tested breads.

Key words: Bread; Flour blends, Food quality; Sensory analysis

Úvod

Na Slovensku sa chlieb výraznou mierou podieľa na zložení jedálneho lístka väčšiny populácie. Úprava nutričnej hodnoty chleba celozrnnými obilninami prípadne ďalšími semenami prináša už veľakrát dokumentované zdravie prospešné účinky ako sú napr. redukcia krvného cholesterolu, ochrana pred srdcovocievnyimi ochoreniami (MIALON a kol., 2002; KIHLEBERG a kol. 2005). V súčasnosti možno zaznamenať zvýšený záujem konzumentov o potraviny so zlepšeným efektom pre zdravie, napriek tomu senzorická kvalita stále zohráva veľmi dôležitú úlohu v správaní sa väčšiny konzumentov. Vplyv celého spektra prídavkov z tradičných aj netradičných plodín na výslednú technologickú a senzorickú kvalitu chleba bol študovaný množstvom autorov (HEINIO a kol., 2003; BARCENAS a ROSELL, 2005; PLESSAS a kol., 2005).

Semená pohánky a prosa zo skupiny tzv. pseudoobilnín sú významnými zdrojom hodnotných ľahko stráviteľných bielkovín, s vysokým podielom lyzínu, neobsahujú lepok, vitamínov skupiny B, vlákniny, minerálnych látok, ale aj antioxidantov (flavonoid - rutín a fenolové kyseliny), ktorých obsah narastá k periférnym častiam zrna (obalom). Použitím prídavku múky z pohánky sa v chlebe významne zvýšil obsah bielkovín, vitamínov, potravinovej vlákniny, rutínu, znížil sa glykemický index a zlepšili sa senzorické parametre chleba (SKRABANJA kol., 2001). Proso taktiež neobsahuje lepok a vďaka nízkemu glykemickému indexu je vhodné aj pre diabetikov (PATHAK a kol., 2000).

Cieľom úlohy bolo overiť možnosti aplikácie prídavkov múky z pohánky a prosa na zlepšenie nutričného profilu chleba a na základe parametrov pekárskej kvality a senzorických vlastností stanoviť optimálne zloženie funkčného podielu jednotlivých zložiek zmesi.

Materiál a metódy

Na prípravu chleba bola použitá základná pšeničná múka, hladká špeciál: vlhkosť 14,8 %, popol 0,48 %, granulácia 99/88, mokrý lepok 31,4 %, pádové číslo 244 s, dodávateľ PENAM a.s., Mlyn Trnava. Ako prídavky boli použité múky z pohánky (*Fagopyrum esculentum*) a prosa (*Panicum miliaceum*). Múka bola získaná mletím na laboratórnom mlyne Quadrumat junior (Brabender) resp. šrotovaním na šrotovníku Laboratory mill 3100 (Perten). V jednotlivých múkach boli analyzované dusíkaté látky podľa Dumasa, CNS 2000 (LECO Corp.), bielkoviny (N% \times 5,7), škrob podľa Ewersa - polarimeter T 3001 RS (Grüss), celková potravinová vláknina enzymaticky (K-TDFR, TDF 10/99, Megazyme Ltd., minerálne látky metódou ICP-AES. V jednotlivých múkach bol stanovený obsah mokrého lepku, napučíavanie lepku, sedimentačný index podľa Zelenyho, číslo poklesu. Vytvorené kombinácie zmesí múk sa nechali 14 dní odležať. Boli stanovené reologické vlastnosti cesta: väznosť múky, vývin cesta, stabilita cesta, mäknutie cesta, číslo kvality, Farinograf-E (Brabender). Vzorky chleba boli upečené v elektrickej stovebnicovej peci (Marton) v laboratóriu kvality vo VÚRV Piešťany. Stanovená bola objemová výdatnosť chleba a pomer výška/šírka chleba. Senzorické hodnotenie chleba bolo vykonané 4 hodiny a 24 hodín po upečení. V hedonickom 5 bodovom systéme (POKORNÝ, 1997) bol 7 členným panelom zhodnotený objem chleba, tvar chleba, kôrka (farba, hrúbka, tvrdosť), striedka (farba, tvrdosť, veľkosť a pravidelnosť pórov, lepivosť), vôňa a chuť chleba.

Výsledky a diskusia

Zo zmesi základnej pšeničnej múky a prídavkov 10%, 15%, 20% a 25% múky z pohánky a prosa bolo vytvorených 8 kombinácií chleba a kontrola z 100% základnej pšeničnej múky. Bol študovaný vplyv prídavkov múky z pohánky a prosa na chemické, technologické a senzorické vlastnosti chleba. Najlepšiu technologickú kvalitu dosiahli kombinácie zmesi múk: pšenica a pohánka 90% + 10% a pšenica a pohánka 85% + 15%, svojimi parametrami dosahovali úroveň kontroly 100 % pšeničného chleba. Všetky kombinácie pšenica a proso sa ukázali z technologického hľadiska za menej vyhovujúce, nakoľko výsledné chleby boli menej klenuté a drobivé. S narastajúcim zastúpením prídavkov múk sa mierne znižovala väznosť múky a čas vývinu cesta sa so zvyšujúcim sa množstvom prídavkov prudko klesal. Objemová výdatnosť chleba sa so zvyšujúcim sa množstvom prídavkov znižovala. Žiadny z vytvorených chlebov nedosiahol úroveň objemovej výdatnosti kontroly 100% pšeničná múka 325 ml, avšak kombinácia pšenica a pohánka 90% + 10% bola zhruba na úrovni kontroly 311 ml. V senzoričkom bodovom systéme bol zhodnotený objem, tvar, kôrka, striedka, vôňa a chuť a bochníkov. Podľa výsledkov senzorickej analýzy bol stanovený najvhodnejší pomer múk na výrobu zdravého chleba s vyhovujúcimi senzoričnými parametrami a to: pšenica a pohánka 90% + 10%, pšenica a pohánka 85% + 15% a pšenica a proso 90% + 10%. Najmenšie rozdiely boli zaznamenané v tvrdosti kôrky a naopak najväčšie rozdiely boli zaznamenané vo farbe kôrky a chuti chleba. Senzoricky najvhodnejšie kombinácie boli dosiahnuté predovšetkým v zmesi múk s pohánkou, ktorá má v porovnaní s pšenicou vynikajúci potenciál práve pri formovaní diéty s nízkym glykemickým indexom, vhodným najmä pre diabetikov (SKRABANJA a kol., 2001). Z výsledkov vyplýva, že prídavky 10% a 15% múky z pohánky a prosa sú technologicky a hlavne senzoričky akceptovateľné so zdravotným benefitom pre spotrebiteľa. Všeobecne možno konštatovať, že prídavky

Záver

Na základe výsledkov 8 kombinácií zmesi základnej pšeničnej múky a prídavkov múky z pohánky a prosa môžeme konštatovať, že najlepšiu technologickú kvalitu mali kombinácie zmesi múk: pšenica a pohánka 90% + 10% a pšenica a pohánka 85% + 15%. Zo senzoričného hľadiska bol zhodnotený objem, tvar, kôrka, striedka, vôňa a chuť chleba a taktiež bol stanovený najvhodnejší hmotnostný pomer múk na výrobu chleba a to: pšenica a pohánka 90% + 10%, pšenica a pohánka 85% + 15% a pšenica a proso 90% + 10%. Vo všeobecnosti prídavky 10% a 15% múky z pohánky a prosa v zmesi sú zo senzoričného hľadiska akceptovateľné na úpravu nutričných vlastností chleba.

Tento príspevok bol vypracovaný v rámci rezortnej úlohy výskumu a vývoja MP SR UO 27/091 05 01/091 05 11 "Biologické faktory podmieňujúce efektívnu a konkurencieschopnú rastlinnú výrobu".

Literatúra

1. BARCENAS, M.E.- ROSELL, C.M.: Effect of HPMC on the microstructure, quality and aging of wheat bread. *Food Hydrocoll* 2005, 19:1037-1043.
2. HEINIO, R.L. - LIUKKONEN, K.H - KALINA, K. - MYLLYMAKI, O. - POUTANEN, K.: Milling fractionation of rye produces different sensory profiles of both flour and bread. *Lebens-Wiss U-Technol.*, 2003, 36(6) 577-583.
3. KIHLEBERGK, I. - JOHANSSON, L. - LANGSRUD, O. - RISVIK, E.: Effects of information on liking of bread. *Food Qual Pref*, 2005, 16:25-35.
4. MIALON, V.S. - CLARK, M.R. - LEPPARD, P.I. - COX, D.N.: The effect of dietary fibre information on consumer responses to breads and "English muffins: a cross-cultural study. *Food Qual Prefer*, 2002, 13:1-12.
5. PATHAK, P. - SRIVASTAVA, S. - GROVER, S.: Development of food products based on millets, legumes and fenugreek seeds and their suitability in the diabetic diet. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 51(5), 2000, 409-414.
6. PLESSAS, S. - PHERSON, L. - BEKATOU, A. - NIGAM, P. - KOUTINAS, A.A.: Bread making using kefir grains as baker's yeast. *Food Chem* 2005, 93:585-589.
7. POKORNÝ, J.: Metody senzoričkej analýzy potravín a stanovení senzoričkej jakosti. ÚZPI, Praha 1997, 196 s.
8. SKRABANJA, V. - LILJEBERG, ELMSTAHL, H.G.M. - KREFT, I., BJORCK, I.M.E.: Nutritional Properties of Starch in Buckwheat Products: Studies in Vitro and in Vivo. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(1), 490-496.

Adresa autorov:

Lubomír Mendel, Iveta Čičová, Jarmila Drobňá, Magdaléna Bieliková, Katarína Zirkelbachová, Dalibor Ješko, Michaela Havrlentová, Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu, Výskumný ústav rastlinnej výroby, Bratislavská 122, Piešťany, 921 68, tel. 033/7722326, mendel@vurv.sk

DETECTION OF CHITINASE ACTIVITIES IN COLD-HARDENED AND NON-HARDENED CULTIVARS OF WINTER TRITICALE (X *TRITICOSECALE* WITTM.)

DETEKCIA CHITINÁZOVÝCH AKTIVÍT V KULTIVAROCH ZIMNÝCH ODRÔD TRITIKALE (X *TRITICOSECALE* WITTM.) PO PÔSOBNÍ CHLADU AKO STRESOVÉHO FAKTORA

Gabriela GOLEBIOWSKA – Jana MORAVCIKOVA – Elzbieta GOLEMIEC – Iwona ZUR – Jan SALAJ

According to the regular reports, Microdochium nivale is the most widespread snow mould fungus in Europe. Among other, it infects winter triticale, new cereal with growing economic importance. Previous studies indicate that resistance of plants to M. nivale is coupled to proper period of cold acclimation probably by producing special proteins. Many of them are grouped as a Pathogenesis Related Proteins (PR proteins). Plant chitinases (PR 3 group) belong to relatively large gene families subdivided in classes that suggest class-specific functions. They are commonly expressed upon viral, bacterial and fungal infection, by various stress signals such as wounding, drought, cold, ozone, heavy metals as a part of plant defence mechanism. To investigate a possible role of chitinases in defence response against M. nivale, one susceptible and one resistant cultivar of winter triticale, both cold-hardened and non-hardened were subjected to chitinolytic activity assays toward three substrates: glycolchitin and two fluorogenic 4-methylumbelliferyl- β -D-N,N'-diacetylchitobioside [4-MU-(GlcNAc)₂] and 4-methylumbelliferyl- β -D-N,N',N''-triacetylchitotrioside [4-MU-(GlcNAc)₃].

Keywords: chitinase, chitinolytic activity, defence response, PR proteins, Microdochium nivale, snow mould, SDS-PAGE triticale

Introduction

According to the regular reports, *Microdochium nivale* is the most widespread snow mould fungus in Europe (TRONSMO et al., 2001). It is the most virulent at 0-2°C, due to its cold-active enzymes. Among other, it infects winter triticale (x *Triticosecale* Wittm.), new cereal with growing economic importance thus the quality and quantity of its yield is often under the threat of *M. nivale* infection. Seven winter triticale cultivars were subjected to an artificial infection with *M. nivale* mycelium by the „cold chamber” method at controlled conditions. After triple screening, one resistant and one susceptible cultivar were selected for further studies: appropriately cvs. Hewo and Magnat. Non hardened infected plants of both cultivars, Hewo and Magnat, were entirely damaged after incubation with *M. nivale* and the regrowth period, while control plants regenerated completely. This result indicates that resistance to *M. nivale* is coupled to proper period of cold acclimation. Nevertheless, the resistance could depend on metabolic mechanism different from the one responsible for plant cold hardiness itself (TRONSMO et al., 2001).

Plant chitinases belong to group of pathogenesis-related proteins (PR-3 proteins). They are classified according to characteristics of their sequences into six classes that include N-terminal sequence, localization of the enzyme, isoelectric pH, signal peptide and the inducers (PATIL et al., 2000). They are commonly expressed upon viral, bacterial and fungal infection, by various stress signals such as wounding, drought, cold, ozone, heavy metals as a part of plant defence mechanism (GRAHAM and STICKLEN, 1994). In general, chitinases are categorized into two major categories. Endochitinases (EC 3.2.1.14) which hydrolyze chitin randomly at internal sites and exochitinases that can be divided into two subcategories: chitobiosidases (E.C.3.2.1.29) which catalyze the release of diacetylchitobiose unit from chitin chain, and chitobiasases (EC3.2.1.30) which cleave the oligomeric products of endochitinases and chitobiosidases generating monomers of GlcNAc (COHEN-KUPIEC and CHET, 1998).

To gain better understanding of the role of chitinases in defence response against fungal pathogen *M. nivale*, one susceptible and one resistant cultivars of winter triticale, both cold-hardened and non-hardened were subjected to chitinolytic activity assays toward three substrates: glycolchitin and two fluorogenic 4-methylumbelliferyl- β -D-N,N'-diacetylchitobioside [4-MU-(GlcNAc)₂] and 4-methylumbelliferyl- β -D-N,N',N''-triacetylchitotrioside [4-MU-(GlcNAc)₃].

Material and Methods

Plant material

Two commercial winter triticale cultivars (Hewo and Magnat) previously tested as susceptible or relatively resistant in the field conditions to *M. nivale* infection were selected for the experiment. Healthy seedlings were grown in pots in climatic chamber at temperature 16°C /12°C, 12h/12h light, and RH = 60-67 % for 14 days. Then plants were subjected to a prehardening period (12°C/12°C, 10h/14h light, 7 days) and hardening (2°C/ 2°C, 8h/16 h light, 28 days). Non-hardened plants were grown at 16°C /12°C, 12h/12h light for 21 days.

Detection of chitinolytic enzymes in activity gel

Crude proteins were isolated from cold-hardened and non-hardened plants (Hewo and Mangnat) using extraction buffer containing 0.1 mol/l sodium acetate pH 5.0 and 0.02% (v/v) β -mercaptoethanol. Protein concentration was determined according to BRADFORD (1976). Protein samples (10 μ g) were separated on a 12.5% (w/v) SDS-containing polyacrylamide slab gels (LAEMMLI, 1970) with glycol chitin (0.01%) incorporated as enzyme substrate. No heat treatment of the samples was performed prior to loading. Chitinase activity was detected by staining with 0.01% Fluorescent Brightener 28 and UV-illumination (MATUSIKOVA et al., 2005). Coomassie Brilliant Blue R 250 and the molecular weight of the re-natured chitinases was estimated by comparison with protein ladder (Mark 12 Unstained Standard, Invitrogen).

Chitinolytic activity towards fluorogenic substrates

The fluorimetric assays were used to detect chitobiosidase and endochitinase activities in crude protein extracts using two synthetic substrates: 4-methylumbelliferyl- β -D-N,N'-diacetylchitobioside [4-MU-(GlcNAc)₂] and 4-methylumbelliferyl- β -D-N,N',N''-triacetylchitotrioside [4-MU-(GlcNAc)₃] according to Eilenberg et al. (2006). Crude proteins were isolated from cold-hardened and non-hardened plants (Hewo and Mangnat) using extraction buffer containing 20% (v/v) glycerol, 1.5% (v/v) polyvinylpyrrolidon 40, 0.1 M Tris-Cl pH 8.5, 1 mmol/l PMSF and 0.02% (v/v) β -mercaptoethanol. Chitinase activity was calculated as picomoles of released 4-MU generated per hour per microgram of soluble protein at 37°C. The standard deviation, P value and Duncan test (STATISTICA version 7.1) were selected to check statistical significance of the results.

Results and Discussion

Recent reports show that higher plants produce special proteins in defense response to fungal attack (Van LOON & Van STRIEN, 1999). Many of them are now grouped as a Pathogenesis Related Proteins (PR proteins). PR- proteins can have a potential role in defense response to *Microdochium nivale* infection in winter cereals. This includes: chitinase, endochitinase, 1,3- β glucanase in winter rye (HIILOVAARA-TEIJO et al., 1999); chitinase, endochitinase, 1,3- β glucanase, PR1-a protein and peroxidase in winter wheat (ERGON et al., 1997) and winter wheat thaumatin - like proteins (KUWABARA et al., 2002). Predicted molecular mass for those proteins range from 20 to 36 kDa. Northern Blott method was previously applied for winter wheat PR protein transcripts analysis (ERGON et al., 1998; GAUDET et al., 2000; KUWABARA et al., 2002).

For the purpose of described research the hypothesis was built, that PR proteins might play a defence role during *Microdochium nivale* infection in triticale and that they appear during cold-hardening in the resistant cultivars at increased levels comparing to their levels in susceptible cultivars. Results obtained from chitinase gel assay show that during cold-hardening period one additional endochitinase (MW 25 kDa) hydrolysing glycolchitin (long polymer) was detected in protein samples of both resistant and also sensitive cultivars. Chitinolytic activity towards fluorogenic substrate [4-MU-(GlcNAc)₃] (short oligomers) does not differ significantly between cold hardened and non hardened plants from resistant cultivar Hewo. In plants from susceptible cultivar Magnat this activity slightly increases in cold hardened plants in comparison to non hardened plants. Chitinolytic activity towards fluorogenic substrate [4-MU-(GlcNAc)₂] in both cultivars decreases twice after cold hardening period.

In conclusion, the expressed chitinases showed the endochitinase activities hydrolysing long polymers (glycolchitin) and short oligomers [4-MU-(GlcNAc)₃], and some level of chitobiosidase activity [4-MU-(GlcNAc)₂]. The different substrate specificity probably coincides with specific roles chitinases during plant life cycle and as well as with availability of endogenous substrates. One additional isoform of endochitinase (glycolchitin as a substrate) in resistant and sensitive (both) cold-hardened cultivars is probably linked to the appearance of cold-induced chitinase.

Acknowledgment

The research was supported by the IPP PAS - IPGB SAS bilateral project no. 27: "Studies of selected physiological and molecular parameters involved in plant resistance to fungal pathogens" and Slovak Grant Agency VEGA (No. 2-5034-27).

Literature

1. BRADFORD, M.M. (1976) Anal. Biochem 72: 248-54
2. COHEN-KUPIEC, R. – CHET I. (1998) Curr Opin Biotech 9: 270-277
3. EILENBERG H., PNINI-COHEN S., SCHUSTER S., MOVTCAN A., ZILBERSTEIN A. (2006) J Exp Bot 57: 2775-2784
4. ERGON, Å. – KLEMSDAL, S. – TRONSMO, A.M. (1998) Physiol. Mol. Plant Pathol. 53: 301-310
5. GAUDET, D.A. – LAROCHE, A. – FRICK, M. – DAVOREN, J. – PUCHALSKI, B. – ERGON, Å. (2000) Physiol. Mol. Plant Pathol. 57: 15-24
6. GRAHAM, L.S. – STICKLEN, M.B. (1994) Can J Bot 72: 1057-1083

7. HIILOVAARA-TEIJO, M. – HANNUKKALA, A. – GRIFFITH, M. – TU, X-M. – PIHAKASKI-MAUNSBACH, K. (1999) *Plant Physiol.* 121: 665-673
8. KUWABARA, C. – TAKEZAWA, D. – SHIMADA, T. – HAMADA, T. – FUJIKAWA, S. – ARAKAWA K. (2002) *Physiol. Plantarum* 115: 101-110
9. LAEMLI, U.K. (1970) *Nature* 227: 680-685
10. MATUŠÍKOVÁ, I. – SALAJ, J. – MORAVČÍKOVÁ, J. – MLYNÁROVÁ, L. – NAP, J.P. – LIBANTOVÁ J. (2005) *Planta* 222: 1020-1027
11. PATIL, R.S. – GHORMADE, V. – DESHPANDE, M.V. (2000) *Enzyme Microb Technol* 26: 473-483
12. TRONSMO, A.M. – HSIANG, T. – OKUYAMA, H. – NAKAJIMA, T. (2001) In: Iriki N., Gaudet D.A., Tronsmo A.M., Matsumoto N., Yoshida M., Nishimune A. (Eds) *Low Temperature Plant Microbe Interactions Under Snow*, pp. 75-86
13. Van LOON, L.C. – Van STRIEN, E.A. (1999) *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 55: 85-97

Adresa autorov:

Gabriela GOLEBIEWSKA, Elzbieta GOLEMIEC, Iwona ZUR

Department of Cell Biology, Institute of Plant Physiology, Polish Academy of Sciences, Kraków, Niezapominajek 21, 30-239 Poland, e-mail: golebiowska@ifp-pan.krakow.pl

Jana MORAVČIKOVÁ, Jan SALAJ

Institute of Plant Genetics and Biotechnology, Slovak Academy of Sciences, Akademická 2, P.O.B. 39A, SK-95007 Nitra 1, Slovak Republic

VYUŽITIE GENETICKÝCH ZDROJOV PŠENICE LETNEJ F. OZIMNEJ S *GLU-1B* 17+18 V ŠĽACHTENÍ NA POTRAVINÁRSKU KVALITU EXPLOITATION OF WINTER WHEAT GENETIC RESOURCES POSSESSING *GLU-1B* 17+18 IN BREEDING FOR BREAD-MAKING QUALITY

Darina MUCHOVÁ¹ – Edita GREGOVÁ² – František ONDREJČÁK¹ – Mária LICHVÁROVÁ¹ – Miroslava HOCHMUTHOVÁ¹

The improvement of the bread-making quality is the main aim of wheat breeding. The paper is focused on detection of high molecular weight glutenin alleles 17+18 of B genome, which may be donors for improvement of bread making quality. Electrophoretic analyses of glutenins and gliadins were applied during 2001-2006 years for investigation more than 700 genotypes, which are used as genetic resources in the breeding workplaces of RIPP Piešťany. There were found only very small numbers of genotypes (6.3 %) possessing allelic combination 17+18 at 1B. A set of 15 winter wheat genotypes from them were selected and tested for agronomic traits in the trials under field conditions of Malý Šariš during seasons 2005-2007. The obtained knowledge from this research can help to breeders in appreciating of genetic resources for hybridization programmes to make high quality, healthy, adapted and high yielding genotypes.

Key words: wheat breeding, genetic resources, bread-making quality, glutenins, *Glu-1B* 17+18

Úvod

Jedným z významných faktorov, ktorý určuje pekársku akosť pšenice je prítomnosť špecifických bielkovín, ktoré sú spájané s dobrou kvalitou. Spomedzi nich kľúčovú úlohu zohráva prítomnosť glutenínov s vysokou molekulovou hmotnosťou (HMW-GS), ktoré sú kódované alelami lokusu *Glu-1D* 5+10. Pozitívny vplyv na chlebopekársku kvalitu majú aj alely 1 a 2* *Glu-1A* a 17+18, 7+9, resp. 7+8 z lokusu *Glu-1B*. Predpoklad kladnej transgresie v pekárskej akosti možno očakávať aj pri zastúpení gliadínového bloku *Gli-1B1*.

Aj napriek známej skutočnosti, že spomedzi alel lokusu *Glu-1B* má najväčší vplyv na chlebopekársku kvalitu nepochybne alelický blok 17+18 (MARTÍNEZ et al., 2006), jeho zastúpenie v európskych odrodách pšeníc je pomerne vzácne a v súčasných odrodách slovenskej proveniencie sa nevyskytuje vôbec. Len 3 odrody zo 65, zapísaných v Listine registrovaných odrôd v SR v roku 2006 boli nositeľmi alel 17+18 - Sulamit, Rapsodia a Charger. V prípade posledných dvoch odrôd sa priaznivý efekt *Glu-1B* 17+18 fenotypovo nemôže prejaviť na výslednej kvalite v dôsledku jeho kombinácie s génmi lokusu *Glu-1D* 2+12, ktoré majú na kvalitu negatívny vplyv (SHEWRY et al. 1992). Aj v krajových a starých európskych odrodách pšenice bola kombinácia alel 17+18 zriedkavá (DOTLAČIL et al., 2002).

Cieľom výskumu bola detekcia, hodnotenie a charakterizácia genetických zdrojov pšenice letnej f. ozimnej s *Glu-1B* 17+18 na základe analýz glutenínového a gliadínového spektra a ich testovania v poľných podmienkach.

Materiál a metóda

V rokoch 2001-2006 boli analyzované gluteníny a gliadíny genotypov pšenice letnej f. ozimnej, využívaných ako genetické zdroje na šľachtiteľských pracoviskách VÚRV Piešťany. Detekcia gliadínového a glutenínového spektra bola uskutočnená metódou polyakrylamidovej gélovej elektroforézy v kyslom prostredí (A-PAGE) a v prítomnosti dodecylsulfátu sodného (SDS-PAGE) vo VÚRV Piešťany. Bodová hodnota alel pre HMW-GS (*Glu*-skóre) bola stanovená podľa publikovaných výsledkov (PAYNE a LAWRENCE, 1983).

Zo širšieho súboru genotypov s detekovanými alelami 17+18 lokusu *Glu-1B* sme uskutočnili výber 15 genetických zdrojov, ktoré boli v priebehu rokov 2005-2007 testované na VŠS Malý Šariš z hľadiska ich hospodárskych vlastností. Boli študované agronomické znaky a odolnosť proti chorobám a poľehaniu. Pre porovnanie boli v pokuse vysievané 2 kontrolné odrody Ilona a Torsya.

Z kvalitatívnych parametrov bolo stanovené akostné číslo pšenice (AČP). K jeho výpočtu boli využité hodnoty Pelshenkeho testu, charakterizujúceho silu cesta spolu s hodnotami o obsahu lepku a jeho napúčavosti podľa nasledujúceho postupu:

$$\text{AČP} = (\text{obsah mokrého lepku} \times 25) + (\text{napúčavosť lepku} \times 100) + (\text{Pelshenkeho test v minútach} \times 50)$$

Na základe akostného čísla môžeme pšenice rozdeliť do 9 tried, a to podľa uvedeného kľúča: hodnotám nad 9000 odpovedá AČP 9, hodnotám nad 8000 odpovedá AČP 8 atď.

Výsledky a diskusia

Elektroforetickou analýzou glutenínov 750 genetických zdrojov pšenice letnej f. ozimnej sme zistili, že najviac frekvencovanými alelickými kombináciami podjednotiek glutenínov na 1B chromozóme boli 7+9 (298 x), 7+8 (168x) a 6+8 (168x). Alelický pár 17+18 bol detekovaný v 47 prípadoch, čo predstavuje len 6,3 % z analyzovaných genotypov. Z nich bol užší súbor 15 genotypov následne podrobený testom na hospodársku hodnotu a technologickú kvalitu.

Prehľad glutenínového a gliadínového spektra vybraných genotypov je uvedený v tab. 1. spolu s hodnotením ich technologickej kvality. Výsledky potvrdzujú, že pozitívny vplyv *Glu-1B* 17+18 na pekársku akosť nie je jednoznačný, ale treba ho posudzovať v súvislosti s genetickým pozadím ďalších glutenínových

a gliadínových podjednotiek. Priaznivé alelické kombinácie sa vyskytli pri genotypoch s *Glu-ID* 5+10 a s *Glu*-skóre 8 a viac bodov, čo korešponduje s výsledkami viacerých autorov (PAYNE et al., 1987) a boli reprezentované odrodami Altos, Bohemia, Grisby, Haldor, Komfort, Shamrock, Smuggler, Sulamit a SW Topper. Vysokým hodnotám *Glu*-skóre, resp. ražného skóre odpovedalo aj vysoké akostné číslo pšenice. Kombinácia *Glu-1B* 17+18 s *Glu-ID* 2+12 viedla k nízkym hodnotám *Glu*-skóre a k nízkej technologickej akosti (AČP = 6 a menej).

Pri výbere rodičovských partnerov na kríženie sú dôležité nielen detailné poznatky o ich kvalitatívnych vlastnostiach, ale aj informácie o ich hospodárskych vlastnostiach, prehľad ktorých je uvedený v tab. 2. Široká variabilita v hospodárskych znakoch dáva predpoklady pre vzájomné kombinovanie navzájom komplementárnych odrôd.

Záver

Analýza výsledkov potvrdila pozitívny efekt alelického bloku 17+18, lokalizovaného na 1 B chromozóme, na pekársku akosť pšenice v kombinácii s alelickým párom 5+10 na D chromozóme. Na základe týchto údajov ako aj výsledkov poľného testovania vybraných genetických zdrojov bola v roku 2007 vytvorená široká škála východiskových biologických materiálov so zakomponovanými glutenínovými alelami 17+18 ako donormi vysokej pekárskej kvality pšenice.

Práca bola podporená MP SR (projekt č. 2006 UO27/0910501/0910511) a Agentúrou pre vedu a techniku SR (projekt č. SK-MAD-03206).

Literatúra

1. DOTLAČIL, L. - GREGOVÁ, E. - HERMUTH, J. - STEHNO, Z. - KRAIC, J.: Diversity of HMW-*Glu* alleles and evaluation of their effects on some characters in winter wheat landraces and old cultivars. In: Czech J. Genet. Plant Breed., 38, 2002, s. 109-116.
2. MARTÍNEZ C. E. - ESPITIA, R. E. - BENÍTEZ, R. I. - PEÑA, R. J. - SANTACRUZ, V. A. - VILLASEÑOR, H. E.: Effect of different high molecular weight glutenin alleles of A and B genomes of bread wheat on rheological properties and bread volume of bread wheat. In: Agrobiencia, 41, 2007, s. 153-160.
3. LISTINA REGISTROVANÝCH ODRÔD. In: Vestník Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky, roč. 38, čiastka 11, 2006, s. 22-24.
4. PAYNE, P. I. - LAWRENCE, G. A.: 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., 11, 1983, s. 29-34.
5. PAYNE, P. I. - NINHTINGALE, M. A. - KRATTIGER, A. F. - HOLT, L. M.: The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties. In: J. Sci. Food Agric., 40, 1987, s. 51-65. Theor. Appl. Genet., 68, 1984, s. 327-334.
6. SHEWRY, P. R. - HALFORD, N. G. - TATHAM, A. S.: The high molecular weight subunits of wheat glutenin. In: J. Cereal Sci., 15, 1992, s. 105-120.

Tabuľka 1: Výsledky analýzy glutenínov a gliadínov a stanovenia akostného čísla súboru genetických zdrojov pšenice letnej f. ozimnej

Odroda	Štát	Lokusy				Skóre		Akostné číslo pšenice			
		<i>Glu-1A</i>	<i>Glu-1B</i>	<i>Glu-1D</i>	<i>Gli-1B</i>	Glu	Ražné	Suma	Bodové hodnotenie	Suma	Bodové hodnotenie
								2005	2005	2006	2006
Altos	DEU	0	17+18	5+10	1B1	8	8	7650	7	10125	9
Bastide	FRA	0	17+18	2+12	iný	6	6	4475	4	4525	4
Bohemia	CZE	0	17+18	5+10	iný	8	8	-	-	8450	8
Grisby	FRA	1	17+18	5+10	1B3	10	8	7525	7	8100	8
Haldor	DEU	0	17+18	5+10	1B4	8	8	9075	9	10300	9
Charger	GBR	0	17+18	2+12	iný	6	6	4375	4	6950	6
Komfort	AUT	1	17+18	5+10	1B3	10	8	9800	9	11750	9
Manhattan	DEU	0	17+18	2+12	iný	6	6	3525	3	3875	3
Orton	GBR	1	17+18	2+12	1B3	8	6	5650	5	6125	6
Rapsodia	CZE	0	17+18	2+12	1B3	6	4	3825	3	3900	3
Richmond	GBR	0	17+18	2+12	iný	6	6	9875	9	10825	9
Shamrock	GBR	0	17+18	5+10	iný	8	8	7000	7	11775	9
Smuggler	GBR	1	17+18	5+10	iný	10	10	7025	7	11275	9
Sulamit	CZE	0	17+18	5+10	iný	8	8	8075	8	12175	9
SW Topper	DEU	0	17+18	5+10	iný	8	8	-	-	8625	8
Ilona - K	SVK	2*	7+9	5+10	1B1	9	9	8125	8	10900	9
Torysa - K	SVK	0	7+8	2+12	iný	6	6	3550	3	4175	4

Kontroly: Ilona - potravinárska , Torysa - nepotravinárska pšenica

Tabuľka 2: Priemerné hodnoty hospodársky významných znakov – roky 2005-2007

Odroda	Odolnosť proti napadnutiu chorobami				Odolnosť proti poľehaniu	Výška rastlín	Klasenie	Hmotnosť 1000 zrn		Úroda zrna	
	MúTr	HrPš	LiŠk	SeKl				g	% k x	g.m ⁻²	% k x
	9-1	9-1	9-1	9-1				m	dni od 1.5.		
Altos	6,7	6,0	5,7	5,3	8,3	0,91	36	40,4	109	811	111
Bastide	5,3	6,0	5,7	5,7	9,0	0,72	30	30,7	83	728	100
Bohemia	6,7	9,0	7,0	4,0	9,0	0,78	39	32,6	88	631	87
Grisby	6,3	6,0	5,3	6,0	8,7	0,96	35	40,5	110	803	110
Haldor	7,3	8,0	6,7	6,3	9,0	0,73	32	30,9	84	716	98
Charger	7,7	7,3	6,3	5,3	9,0	0,79	33	36,0	97	704	97
Komfort	7,0	7,3	7,0	5,7	8,7	0,93	35	39,1	106	870	119
Manhattan	6,3	7,7	7,0	5,0	9,0	0,74	35	37,9	102	767	105
Orton	6,7	8,0	6,3	5,0	9,0	0,77	35	35,4	96	746	102
Rapsodia	6,3	7,7	6,7	6,7	8,7	0,79	37	33,9	92	798	109
Richmond	7,5	4,5	6,0	6,0	8,0	1,02	29	45,5	123	656	90
Shamrock	7,3	3,3	7,3	6,3	9,0	0,68	38	29,4	80	523	72
Smuggler	6,3	8,3	7,0	5,7	9,0	0,78	38	31,8	86	695	95
Sulamit	6,0	3,3	6,3	6,0	9,0	0,92	35	40,3	109	729	100
SW Topper	7,5	5,5	5,0	6,0	8,5	0,89	34	40,4	109	615	84
Ilona - K	5,7	5,7	4,0	5,3	7,7	0,82	28	35,1	95	631	87
Torysa - K	5,0	5,0	5,7	6,7	6,3	0,95	33	48,6	131	966	133
Priemer (x)	6,6	6,4	6,2	5,7	8,6	0,83	34,3	37,0	100	728,7	100

Vysvetlivky:

MúTr - múčnatka trávová, HrPš - hrdza pšenícová, LiŠk - listové škvrnitosti, SeKl - septoriózy v klase

* bodové hodnotenie 9-1: 9 – najlepšie, 1 – najhoršie hodnotenie

Adresy autorov:

¹ SCPV - VŠS Malý Šariš, 080 01 Prešov, muchova@vurv.sk

² SCPV - VÚRV Piešťany, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, gregova@vurv.sk

REGENERACE KALUSŮ Z MEZOFYLOVÝCH PROTOPLASTŮ *CUCUMIS SATIVUS* CALLUS REGENERATION FROM MESOPHYLL PROTOPLASTS OF *CUCUMIS SATIVUS*

Božena NAVRÁTILOVÁ – Dagmar SKÁLOVÁ – Jana GAJDOVÁ

Isolated protoplast are a unique system for studying the structure and function of cell organelles, cytoplasmic membrane transport in plants and cell wall formation. Another using of isolated protoplasts is fusions to overcome barriers existing between plant species. The aim of this work is study of the calli regeneration from mesophyll protoplasts. These obtained results can be used for asymmetric protoplasts fusion with irradiated protoplasts of Cucumis wild species, because cucumber is attacked by various diseases and wild species possess resistance to some diseases.

Mesophyll protoplasts were isolated from leaves of 4-week-old in vitro cultured plants of Cucumis sativus (09H390768). Protoplasts were isolated by enzymatic mixture of 1% Cellulase Onozuka R-10 and 0.25% Macerozyme R-10 in Pgly solution (DEBEAUJON and BRANCHARD, 1992). Isolation and cultivation to microcalli forming as described by GAJDOVÁ et al. (2007). In culture protoplasts of used genotype were observed growing cells, regenerating cell walls, dividing cells and forming calli on media with various concentration of growth regulators (BA, KIN).

Key words: callus formation, cytokinins, Cucumis sativus, mesophyll protoplast, regeneration

Úvod

Zástupci rodu *Cucumis* patří mezi významné zemědělské plodiny, tyto druhy však postrádají odolnost vůči významným hospodářským chorobám (např. *Pseudoperonospora cubensis*, *Erysiphe cichoraceum*), nejsou mrazuvzdorné a mají omezenou toleranci k suchu. U některých planých druhů se vyskytují rezistence k chorobám a škůdcům i odolnost vůči abiotickým stresům. Proto je žádoucí přenést tyto vlastnosti do kulturních plodin. Protoplastové kultury a následné fáze protoplastů jsou jednou z biotechnologických metod pro překonání bariér klasického křížení.

Introdukce genů pro rezistence vůči chorobám je jedním z několika důležitých cílů ve šlechtění užitkových rostlin, u rodu *Cucumis* se jedná hlavně o přenos rezistence k původcům některých hospodářsky významných chorob z planých druhů, u kterých byly zjištěny užitečné agronomické vlastnosti, včetně rezistence k chorobám a hmyzím škůdcům, např. *Pseudoperonospora cubensis* (GAJDOVÁ a kol., 2004, 2007).

Materiál a metody

Rostlinný materiál

Zdrojem mezofylových protoplastů byly mladé, plně vyvinuté listy 4-týdenních *in vitro* rostlin *Cucumis sativus* linie SM 6514 (09H390768) rostoucích na médiu MS (1962) doplněném 0.01 mg BA; 0.01 mg/l IBA a 20 mg/l kys. askorbové v plastových boxech (100 ml média).

Izolace a kultivace protoplastů

Mladé listy (0.5 g) byly nařezány a umístěny v enzymatické směsi (5 ml) obsahující 1% celulasu Onozuka R-10 a 0.25% macerozym R-10 v promývacím roztoku Pgly (DEBEAUJON a BRANCHARD, 1992). Po dobu 18 hodin byly segmenty listů umístěny ve tmě v termostatu při 27 °C. Po inkubaci byly suspenze protoplastů purifikovány filtrací přes nylonové sítko (72 μm), centrifugovány 800 ot/min po dobu 5 min a přečištěny na 20% sacharosovém gradientu.

Purifikované protoplasty byly resuspendovány na hustotu 10⁵ na 1 ml protoplastové suspenze v tekutém médiu LCM1 (DEBEAUJON a BRANCHARD, 1992). Životnost protoplastů stanovovaná po izolaci pomocí FDA (fluoresceindiacetát).

Po izolaci byly protoplasty kultivovány 2 týdny ve tmě v termostatu při 27 °C v tekutém médiu LCM1, poté byly přeneseny do kultivační místnosti (16/8 den/noc, 22 ± 2 °C) a přidáno tekuté médium LCM2 (DEBEAUJON a BRANCHARD, 1992). Mikrokalusy byly transportovány na pevné médium MS doplněno s 1% sacharosu, 0.1 mg/l NAA a cytokininem (benzyladenin - BA a kinetin - KIN, Tab. 1). Rostoucí kalusy byly pasážovány na stejné svěží médium každé 2 týdny.

V průběhu kultivace byla sledována resyntéza buněčné stěny pomocí CW (Calcofluor white), buněčné dělení, tvorba mikrokalusů a kalusů. Mikrokalusy byly pasážovány na pevná média (A-G) s různými kombinacemi cytokininů (bylo vysazeno min. 40 mikrokalusů na jedno médium).

Výsledky a diskuse

Bezprostředně po izolaci byly protoplasty nepoškozené, životaschopné a stanovená životnost byla vždy vyšší než 70 %. Po 24 hodinách byla pozorována resyntéza buněčné stěny (Obr. 1) a po 4 - 5 dnech první dělení. Stejná pozorování popsali BURZA a MALEPSZY (1995) u *Cucumis sativus* cv. Borszagowski. Mikrokalusy byly získány po 4 týdnech kultivace (Obr. 2). Bylo získáno 512 mikrokalusů, které byly pasážovány na média s různými koncentracemi BA a KIN podle tabulky 1.

Při nízké koncentraci cytokininů (0.1 mg/l) byl růst pomalý a kalusy byly světlé. Nebyly pozorovány výrazné rozdíly ve vzhledu kalusů rostoucích na médiu se stejnou koncentrací BA nebo KIN. Rostoucí kalusy s koncentrací 1 mg/l BA nebo KIN byly rychle rostoucí kompaktní a zelené (Obr. 3). Vyšší procento rostoucích kalusů bylo získáno na médiu G (0.1NAA + 1.0 BA + 1.0 KIN mg/l) a F (0.1 NAA + 1.0 KIN mg/l). Vyšší koncentrace BA nebo KIN v médiu se nelišily významně růstem kalusů od koncentrace 1 mg/l, kalusy byly více vitrifikované, tyto vyšší koncentrace (2.5 a 5.0 mg/l) nejsou v tabulce uvedeny.

Závěr

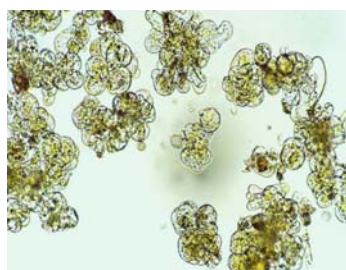
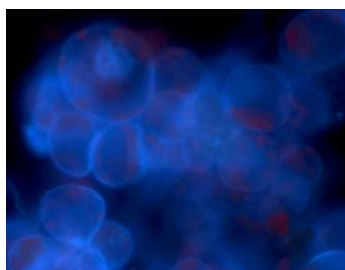
Vybraný genotyp a metoda izolace byly pro naše experimenty vyhovující. Byla pozorována regenerace do stádia kalusů, které byly získány na médiích s různými koncentracemi BA a KIN. Jako optimální média byla vybrána média F a G. Naše experimenty pokračují a jsou zaměřeny na regenerace rostlin ze získaných kalusů.

Literatura

1. BURZA W. - MALEPSZY S. 1995. Plant Cell Tissue and Organ Culture 41 (3):259 - 266
2. DEBEAUJON I. - BRANCHARD M. 1992. Plant Cell Reports 12: 37 – 40
3. GAJDOVÁ J. - LEBEDA A. - NAVRÁTILOVÁ B. 2004. In: Lebeda A. and Paris H.S. (Eds.): Progress in Cucurbit Genetics and Breeding Research. Proceedings of Cucurbitaceae 2004, The 8th Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding. Palacký University in Olomouc, Czech Republic, 441 – 454
4. GAJDOVÁ J. - NAVRÁTILOVÁ B. - SMOLNÁ J. - LEBEDA A. 2007. Journal of Applied Botany and Food Quality 81, 2007, 1 - 6

Tabulka 1: Procento rostoucích mikrokalusů na médiích obsahujících různé koncentrace cytokininů

	BA mg/l	KIN mg/l	% rostoucích kalusů	Poznámky
A	0.1	-	2.7	<i>Pomalu rostoucí, světlé</i>
B	0.5	-	32.5	<i>Zelené, rostoucí</i>
C	1.0	-	40.1	<i>Rostoucí, zelené</i>
D	-	0.1	7.6	<i>Pomalu rostoucí, světlé</i>
E	-	0.5	55.4	<i>Kompaktní, zelené, rostoucí</i>
F	-	1.0	63.9	<i>Kompaktní, zelené, rostoucí</i>
G	1.0	1.0	64.6	<i>Tmavě zelené, rostoucí</i>



Obr.1(vlevo) Resyntéza buněčné stěny po 24 hodinách (OLYMPUS BX 60, 400x)

Obr.2 (střed) Mikrokalusy v tekutém médiu před pasáží na pevné médium (OLYMPUS CK 40)

Obr.3 (vpravo) Kalusy na médiu obsahujícím 1 mg/l BAP (OLYMPUS Camedia C-5050 ZOOM)

Poděkování: Tato práce byla podporována projektem NAZV MZe ČR QF 4108.

Semenný materiál byl poskytnut Genovou bankou VÚRV Praha – Ruzyně, pracoviště Olomouc.

Adresy autorů:

RNDr. Božena Navrátilová, Ph.D., Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc, bozena.navratilova@upol.cz

RNDr. Dagmar Skálová, Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc, dagmar.skalova@upol.cz

Mgr. Jana Gajdová, Ph.D., Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc, jana.gajdova@seznam.cz

**VARIABILITA OBSAHU XANTHOTHUMOLU A
DESMETHYLXANTHOTHUMOLU U SAMČÍCH GENOTYPŮ CHMELE
(*HUMULUS LUPULUS L.*)
VARIABILITY OF XANTHOTHUMOL AND DESMETHYLXANTHOTHUMOL IN
MALE GENOTYPES OF HOP (*HUMULUS LUPULUS L.*)**

Vladimír NESVADBA – Karel KROFTA

We selected 28 male hop plants of our breeding material. With the help of liquid chromatography we analyzed male flowers. The results show that male flowers show xanthohumol contents in the range of 0,015 % to 0,17 %. Desmethylxanthohumol contents varied from 0,004 % till 0,076 %. Contents of the determined compounds are in the correlation with alpha and beta acids contents.

Key words: hop, Humulus lupulus L., male plants, xanthohumol, desmethylxanthohumol, breeding material.

Úvod

Prenylované flavonoidy chmele jsou v posledních letech středem zájmu lékařského výzkumu, protože u nich byly objeveny významné antioxidační, protizánětlivé, protivirové a antikarcinogenní účinky (ANDERSON, 2000). S ohledem na uvedené skutečnosti lze očekávat, že množství chmele, které se využívá mimo pivovarský průmysl, bude mít do budoucna rostoucí trend. Chmelařský institut s.r.o. Žatec řeší od roku 2006 výzkumný projekt podporovaný MŠMT ČR 2B06011 s cílem získat nové genotypy chmele s vysokým obsahem xanthohumolu a desmethylxanthohumolu. Základem tvorby nových genotypů je křížení vhodných rodičovských komponentů (NESVADBA, 2001). Chmel je dvoudomá rostlina a proto je nutné stanovit i obsah požadovaných látek u samčích genotypů. Obsah xanthohumolu u samičích rostlin publikovala řada výzkumných pracovníků (BRENDL, 2003; KROFTA, 2003). Bohužel do současné doby nebyly publikovány obsahy xanthohumolu a desmethylxanthohumolu u samčích rostlin chmele.

Materiál a metodika

Chmelařský institut s.r.o. Žatec disponuje šlechtitelskou školkou samčích rostlin. Z vybraného souboru samčích rostlin byly v době uvolňování pylu odebrány samčí květy, které byly usušeny. Tyto květy byly dle metodiky stanovení obsahu chmelových pryskyřic analyzovány HPLC metodou EBC 7.7 (1997). Xanthohumol byl ze chmele a upravených chmelových výrobků extrahován směsí diethyléter-methanol. Získaný extrakt se dělil na chromatografické koloně NUCLEOSIL RP C₁₈, 5 µm, 250 x 4,6 mm. Xanthohumol eluovaný z kolony byl spektrometricky detekován při vlnové délce 370 nm. Statistické zpracování experimentálních dat bylo provedeno pomocí programu QC.Expert 2.5 (TriloByte s.r.o., Pardubice).

Výsledky a diskuse

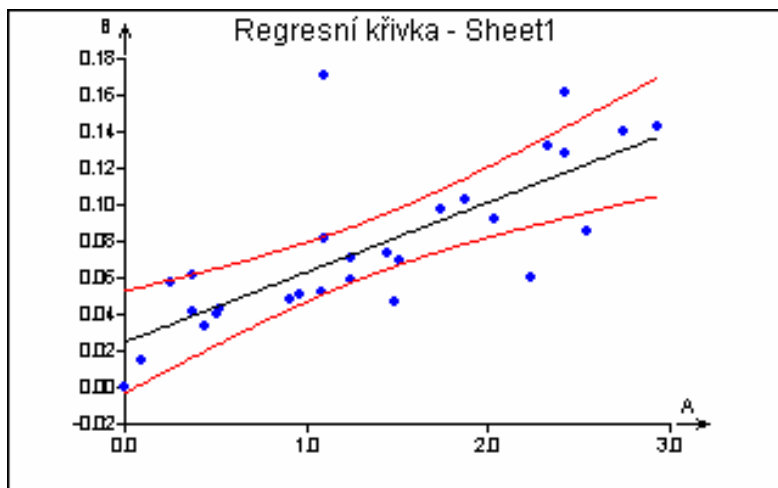
Chmel je dvoudomá rostlina a samčí rostlina netvoří hlávky, proto do křížení vstupuje jako téměř neznámý opylovač. Řešitelskému týmu se podařilo provést chemické analýzy u květů samčích rostlin. Kapalinovým chromatografem se podařilo stanovit jak obsah chmelových pryskyřic, tak i obsah xanthohumolu a DMX. Dosažené výsledky již byly využity ke křížení v roce 2006 a budou základem šlechtění chmele na obsah xanthohumolu a DMX (v dalších letech budou analyzovány nové samčí rostliny). Samčí rostliny vykazují nižší průměrný obsah xanthohumolu ($x = 0,078$) i DMX ($x = 0,029$) než samičí genotypy. To je dáno nižším obsahem chmelových pryskyřic u samčích rostlin. Z výsledků je dále patrné, že genotypy s nejvyšším obsahem xanthohumolu vykazují i vysoký obsah DMX.

Lineární regrese byla stanovena jak vzájemná závislost obsahu xanthohumolu a DMX, tak jejich trend závislosti na výši obsahu alfa i beta hořkých kyselin.

Z grafu 1 je patrné, že genotypy s vyšším obsahem alfa hořkých kyselin vykazují i vyšší obsah xanthohumolu. Tento trend potvrzuje i vysoký korelační koeficient ($r = 0,77$). Tato korelace je nižší než u samčích rostlin, kde byl stanoven korelační koeficient ($r = 0,86$). Tento rozdíl není výrazný a je pravděpodobně způsoben nižším počtem hodnocených samčích rostlin. Z tohoto pohledu je velmi zajímavý vzorek s nejvyšším obsahem xanthohumolu (00/6), který vykazuje nižší obsah alfa hořkých kyselin. Obdobné výsledky byly charakterizovány i u hodnocení samičích rostlin. Téměř shodný trend lineární regrese i korelace ($r = 0,83$) vykazuje vliv beta hořkých kyselin na obsah xanthohumolu jako bylo stanoveno u alfa hořkých kyselin.

Genotypy s vyšším obsahem alfa hořkých kyselin vykazují i vyšší obsah DMX. Tento trend potvrzuje korelační koeficient ($r = 0,73$), který je téměř na shodné úrovni jako u samičích rostlin ($r = 0,73$). Dále je zřejmé, že obsah beta hořkých kyselin má větší vliv na obsah DMX než obsah alfa hořkých kyselin, protože vykazuje vyšší těsnost závislosti ($r = 0,90$). Je pravděpodobné, že obsah DMX bude shodně závislý na obsahu alfa i beta hořkých kyselin.

Byl stanoven trend lineární regrese obsahu xanthohumolu a DMX. Korelační koeficient vykazuje těsnost závislosti ($r = 0,90$).

Graf 1: Trend lineární regrese obsah xanthohumolu/obsah alfa hořkých kyselin u samců

Poznámka: korelační koeficient $r = 0,77$; koeficient determinace $r^2 = 0,59$

Závěr

Dosažené výsledky analýz, trendů a korelace u samčích genotypů mají informativní význam, protože se jedná o malý soubor dat, který byl hodnocen pouze v jednom roce. Přesto mají získané výsledky pro řešení projektu velký význam, protože je možné používat vhodné rodičovské komponenty, které vykazují (pouze informativně) vysoký obsah xanthohumolu nebo DMX.

Literatura

1. Analytica EBC, Metod 7.7 European Brewery Convention, Getränke Fachverlang, 1997
2. BRENDL, M.: Xanthohumol – Content in hops. Hopcey-Rundschau Int. 2002/2003.
3. HANDERSON, M. C. et al.: In vitro inhibition of human P 450 Enzymes by prenylated flavonoids from hop, *Humulus lupulus*. *Xenobiotica* 30, 2000.
4. KROFTA, K.: Obsah xanthohumolu v českých chmelech. *Kvasný průmysl* 49, 2003.
5. NESVADBA, V.: Dědičnost kvalitativních znaků chmele. Disertační práce, ČZU AF Praha, 2001

Poděkování

Tento příspěvek byl zpracován v rámci výzkumného projektu 2B06011 Vývoj genotypů chmele pro biomedicínální a farmaceutické účely, který podporuje MŠMT ČR.

Adresa autora:

Vladimír Nesvadba, Chmelařský institut, Kadaňská 2525, 438 46 Žatec, Czech Republic. E-mail: v.nesvadba@telecom.cz

VYUŽITÍ DNA MARKERŮ PRO PREDIKCI REZISTENCE K FUZÁRIOVÉMU VADNUTÍ KLASŮ U VYBRANÝCH GENOTYPŮ OZIMÉHO JEČMENE

THE USE OF DNA MARKERS FOR PREDICTION OF FUSARIUM HEAD BLIGHT RESISTANCE IN CHOSEN WINTER BARLEY GENOTYPES

Zdeněk NESVADBA - Tomáš VYHNÁNEK - Ivana JEŽÍŠKOVÁ - Ludvík TVARŮŽEK
- Ivana POLIŠENSKÁ

A test of a set of winter barley genotypes artificially infected in field trials by fusaria was carried out. Based on the results from field and laboratory evaluation and deoxynivalenol (DON) content, barley genotypes with different responses to FHB were selected. The genotypes were hybridized and doubled haploid (DH) lines were derived in F₁ generation using the in vitro androgenesis method. Original parental components and derived DH lines were tested for fusarium infection and DON content. Based on analyses of 80 RAPD primers in a set of parental genotypes of winter barley, primer H15 was selected that provides specific product at the size of 650bp for moderately resistant winter barley genotypes. In consecutive detection, this specific product was found in 4 DH lines.

Keywords: winter barley, Fusarium head blight, deoxynivalenol, doubled haploid lines, DNA markers

Úvod

Infekce ječmene některými druhy rodu *Fusarium* způsobuje zhoubnou chorobu označovanou jako fuzáriové vadnutí klasů (FHB), jejímž výsledkem je pokles výnosu a snížení kvality zrna ječmene. Ohrožena může být rovněž zdravotní nezávadnost získaného zrna a to díky kumulaci mykotoxinů v obilkách, tj. produktů sekundárního metabolismu hub. Kontaminace potravinových komodit fuzáriovými mykotoxiny je tak sledována jako závažný zemědělský problém, který výrazně ovlivňuje ekonomiku, mezinárodní obchod, zdraví lidí a zvířat. Ochrana před FHB může být nejlépe prováděna přes integrovaná pěstitelská opatření, aplikací fungicidů a zaváděním nových odolnějších odrůd. Při tvorbě odolnějších odrůd lze dobře uplatnit nejen tradiční šlechtitelské postupy, ale také nově využití analýzy na úrovni molekulárních markerů. Jejich využitím lze dosáhnout zefektivnění screeningu a tvorby nových genotypů v kratším čase. Cílem práce bylo ověřit diverzitu mezi odrůdami ozimého ječmene s různou citlivostí k FHB a nalézt RAPD markery, které umožní odlišení náchylných genotypů od středně rezistentních.

Materiál a metodika

Rostlinný materiál

V letech 2004 - 2005 bylo prováděno testování na 7 výchozích odrůdách a novošlechtěných dvouřadého ozimého ječmene s perspektivou sladovnického využití a 17 dihaploidních linií (Tab. 1). DH linie byly vytvořeny metodou androgenese *in vitro* po hybridizaci mezi výchozími rodiči podle VAGERA a OHNOUTKOVÁ (1993).

Polní pokusy

Pokusy byly založeny a vedeny metodou znárodných dílců na pozemcích Zemědělského výzkumného ústavu Kroměříž, s.r.o. Každá varianta byla tvořena dvěma opakováními o rozměrech parcely 1 m². Parcely byly v době plného kvetení (DC 65) uměle inokulovány suspenzí konidií *Fusarium culmorum* (izolát FC-417/02). Koncentrace inokula byla 6 milionů konidií na 1 ml. Vizualní hodnocení bylo provedeno 21 dní po inokulaci dle stupnice Horsfall-Barretta, jako procentický podíl zaschlých klásků po napadení chorobou.

Hodnocení odolnosti k FHB

Metodika laboratorního testování zrna na papírových roládách, stanovení obsahu DON pomocí ELISA, RAPD a AFLP analýz včetně statistického vyhodnocení získaných výsledků je uvedena v práci NESVADBA et al. (2006).

Výsledky a diskuze

Na základě dosažených výsledků byly zkoušené odrůdy ozimého ječmene rozděleny do dvou skupin. Odrůdy Tiffany, Vanessa a Duet byly charakterizovány jako středně odolné k fuzáriovému vadnutí klasů. Do druhé skupiny náchylných odrůd byla zařazena linie BR 2611m a odrůdy Leonie, Clara a Ladoga. Výchozí rodičovské genotypy byly analyzovány metodou AFLP. Po vyhodnocení 84 polymorfních markerů byly genotypy rozděleny do 2 clusterů. V prvním clusteru se nachází středně rezistentní odrůdy Duet a Tiffany. Druhý cluster je tvořen středně rezistentní odrůdou Vanessa a náchylnými genotypy Clara, Ladoga, Leonie a BR 2611m.

Po statistickém zpracování výsledků AFLP analýz u rodičovských odrůd a 7 vybraných DH linií byl sestaven dendrogram podobnosti pomocí software FreeTree a FreeView (Nei a Li koeficient podobnosti). V dendrogramu se vytvořily zřetelné tři clustery. V prvním se nachází DH linie 545 a 684 se společným náchylným rodičem Clara, ve druhém DH linie 664 a 675 se společným náchylným rodičem Ladoga. Třetí cluster je tvořen třemi DH liniemi (658, 514 a 610), přičemž nižší variabilita DNA je u DH linií 514 a 610 se společným středně rezistentním rodičem Duet. Třetí DH linie 658 tohoto clusteru má společného rodiče Br 2611m s DH linií 610. Shluková analýza odráží původ DH linií. V případě využití androgenese *in vitro* ve šlechtitelském procesu je důležitým faktorem rezpozibilita jednotlivých genotypů. Rozdíly v regeneraci a výtěžnosti, označované jako tzv. genotypová specifita, jsou vysvětleny rozdílnou rezpozibilitou rodičovských genotypů (MACHII et al., 1998). HOU et al. (1994) zjistili, že u DH linií ječmene odvozených z F₁, F₂ a F₃ generace vyznačujících se vyšší rezpozibilitou bylo vyšší zastoupení genů rezpozibilního rodiče.

Na základě analýz 80 RAPD primerů v souboru rodičovských genotypů byl vybrán primer H15 poskytující specifický produkt o velikosti 650 bp pro středně rezistentní genotypy ozimého ječmene. Detekce tohoto specifického produktu byla následně provedena u DH linií odvozených z křížení rodičovských genotypů. Specifický produkt pro středně rezistentní genotypy byl nalezen jen u DH linií 565, 610, 686 a 790. U zbývajících DH linií odvozených z křížení středně rezistentních genotypů s náchylnými tento specifický produkt nebyl detekován. Nízký stupeň napadení při polním hodnocení (11 %), nejnižší procento napadení zrna v laboratorních testech (24 %) a nejnižší obsah DON (4,20 mg.kg⁻¹) byl zjištěn v tomto souboru u linie DH 790, která vznikla hybridizací genotypů Clara x Tiffany. Tato úroveň reakce k FHB korespondovala i s výsledky RAPD analýzy. U zbývajících DH linií, kde byla potvrzena přítomnost specifického produktu a tedy střední stupeň resistance byl zjištěn nízký stupeň napadení v polních podmínkách, ale vysoké procento výskytu fuzárií v laboratorním testu a rovněž vysoký obsah DON.

Tabulka 1: Hodnocení DH linií ozimého ječmene ve srovnání s výchozími kontrolními odrůdami

Odrůda/ linie	Původ/ Pedigree	Polní hodnocení (%)	Laboratorní test (%)	DON (mg.kg ⁻¹)	Přítomnost spec. produktu
Vanessa	DEU	14	33	6,76	1
Duet	GBR	15	50	16,24	1
Tiffany	DEU	18	14	3,16	1
Clara	DEU	20	5	3,76	0
Leonie	DEU	24	5	6,74	0
BR 2611m	DEU	47	14	8,37	0
Ladoga	DEU	22	42	15,27	0
DH 514	Vanessa x Duet	12	55	8,48	0
DH 543	Vanessa x Clara	25	39	7,37	0
DH 545	Vanessa x Clara	35	29	15,42	0
DH 565	Br 2611m x Duet	18	58	11,84	1
DH 610	Br 2611m x Duet	9	51	12,81	1
DH 657	Br 2611m x Leonie	13	64	54,62	0
DH 658	Br 2611m x Leonie	12	54	10,72	0
DH 664	Ladoga x Tiffany	17	53	28,66	0
DH 665	Ladoga x Tiffany	18	33	42,19	0
DH 666	Ladoga x Tiffany	13	52	40,40	0
DH 673	Ladoga x Vanessa	17	69	20,74	0
DH 674	Ladoga x Vanessa	15	76	24,92	0
DH 675	Ladoga x Vanessa	17	59	13,58	0
DH 684	Clara x Tiffany	20	56	5,29	0
DH 686	Clara x Tiffany	14	56	14,72	1
DH 687	Clara x Tiffany	12	52	6,57	0
DH 790	Clara x Tiffany	11	24	4,20	1

Vysvětlivky: 1 - přítomnost specifického produktu (středně odolný), 0 - absence specifického produktu (náchylný)

Literatura

- HOU, L., ULLRICH, S. E., KLEINHOF, A., 1994: Inheritance of Anther Culture Traits in Barley. *Crop Science*, 34: 1243-1247.
- MACHII, H., MIZUNO, H., HIRABAYASHI, T., LI, H., HAGIO, T., 1998: Screening Wheat Genotypes for High Callus Induction and Regeneration Capability from Anther and Immature Embryo Cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 53: 67-74.
- NESVADBA, Z., VYHNÁNEK T., JEŽÍŠKOVÁ, I., TVARŮŽEK, L., ŠPUNAROVÁ, M., ŠPUNAR, J. 2006: Evaluation of Spring Barley Genotypes with Different Susceptibility to Fusarium Head Blight Using Molecular Markers. *Plant, Soil, Environment* 52, (11): 485-491.
- VAGER, J., OHNOUTKOVÁ, L., 1993: *In Vitro* Production of Androgenesis in Wheat and Barley. *Rostlinná výroba*, 39: 97 – 114.

Práce vznikla za finanční podpory projektů MSM 2532885901 a GAČR 521/03/0938.

Kontaktní adresy:

Ing. Zdeněk Nesvadba, Ph.D., Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787, 767 01 Kroměříž, Česká republika,
Tel.: +420 573 317 182, fax: +420 573 339 725, e-mail: nesvadba.zdenek@vukrom.cz, www.vukrom.cz

Ing. Tomáš Vyhnánek, Ph.D., Mendelova zemědělská a lesnická univerzita Brno, Ústav biologie rostlin, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, tel: +420 545 133 185, e-mail: vyhnanek@mendelu.cz, www.mendelu.cz

APLIKACE SSR MARKERŮ U TRITIKALE* APPLICATION OF SSR MARKERS IN TRITICALE*

Eva NEVRTALOVÁ – Kateřina SLEZÁKOVÁ - Tomáš VYHNÁNEK

*Genetic variability of 16 genotypes of triticale (*XTriticosecale* Wittmack., $2n = 6x = 42$, BBAARR) was studied using the SSR method. SSR markers localized on chromosomes of A, B, D and R genome were chosen from the literature for the analysis. Based on 30 SSR markers a dendrogram was calculated, which highly significantly differentiates the Valentine-90 genotype from all other 15 genotypes splitted into two sub-clusters.*

Key words: triticale, genetic variability, polymorphism of DNA, SSR, marker

Úvod

Pro detekci genetické variability je v současné době k dispozici mnoho metod, např. morfologická charakteristika, analýza rodokmenů, biochemické markery především bílkoviny a jejich různé izoenzymové varianty, molekulární (DNA) markery atd. V případě DNA markerů je velmi vhodnou metodou detekce variability mikrosatelitů (SSR) (GARG et al., 2001).

Cílem práce byla detekce genetické variability u vybraných genotypů tritikale pomocí SSR markerů popsaných v literatuře u pšenice a žita.

Materiál a metody

Genetická variabilita byla detekována u 16 genotypů tritikale (*XTriticosecale* Wittmack.). Jednalo se o 8 registrovaných odrůdy: ozimá forma – Gutek, Kitaro, Lamberto, Lupus, Presto, Ticino, Tornado a Triamant. Směsné vzorky certifikovaného osiva byly získány z Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského, zkušební stanice Hradec nad Svitavou. V případě analýzy 8 donorů lepší technologické kvality tritikale se jednalo o 7 translokovaných variant odrůdy Presto (Presto 1R.1D; Presto I.R. /linie 3/; Presto I.R. /linie 5/; Presto MA1 /linie 1/; Presto MA1 /linie 2/, Presto Valdy /linie 10/, Presto Valdy LH67) a v Rusku registrovanou odrůdu Valentin-90. Směsné vzorky osiva byly získány od Ing. Petra Martinka, CSc. ze Zemědělského výzkumného ústavu Kroměříž, s. r. o. Jako genetických markerů bylo využito polymorfizmu DNA, který byl detekován metodou SSR. Pro molekulární analýzy byla genomová DNA izolována pomocí izolačního kitu DNAesy Plant Mini Kit (f. Qiagen) z napěstovaných rostlin ve fázi jednoho listu (5-7 dní staré rostliny). Koncentrace DNA ve vzorku byla po izolaci zjištěna spektrofotometricky. Pro SSR analýzy bylo použito 30 SSR markerů popsaných v literatuře u pšenice a žita (DEVOS et al., 1995; RÖDER et al., 1998; KHLESTINA et al., 2004; SOMER et al., 2004; KUELUNG et al. 2006). Reakční směs o celkovém objemu 25 μ l obsahuje: 30 ng templátové DNA, 0,5 U *Taq* polymerázy (Promega, USA), 1x odpovídající pufr, 7,5 μ M každého primeru a 0,1 mM každého dNTP. Teplotní a časový profil reakce byl: 1 cyklus 93°C – 120 s; 30x (93°C – 60 s, 54°C – 120 s, 72°C – 120 s). Pro vizualizaci produktů bylo použito barvení stříbrem (0,2 % AgNO_3) po proběhlé vertikální elektroforéze (při 300 V) na 10 % nedenaturovaném polyakrylamidovém (PAA) gelu v TBE pufru. Před vlastní elektroforetickou separací na PAA gelu byla provedena kontrolní elektroforéza na 1,5% agarozovém gelu (barvení ethidiumbromidem) z části objemu reakce pro kontrolu úspěšnosti/neúspěšnosti reakce. Výsledky molekulárních analýz byly vyhodnoceny pomocí binární matice, kde 1 znamená přítomnost produktu a 0 absenci produktu. Následně byly tyto hodnoty statisticky zpracovány pomocí programu FreeTree a graficky zpracovány do podoby dendrogramu pomocí programu TreeView.

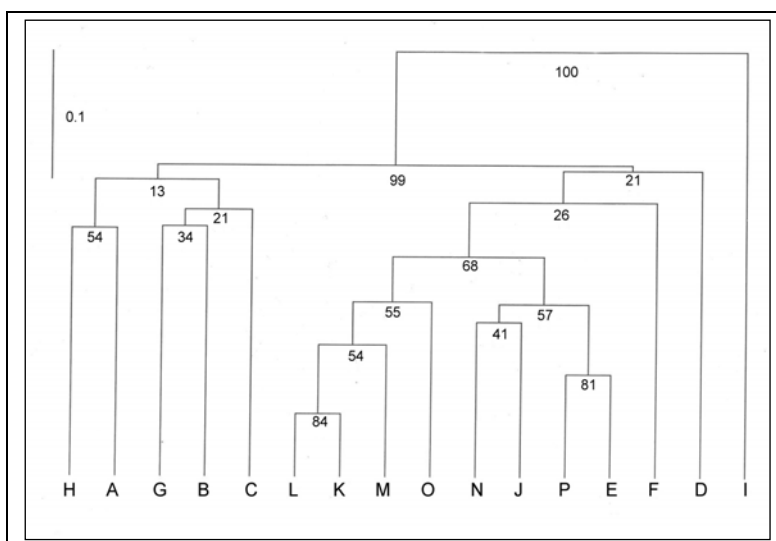
Výsledky a diskuse

Z 30 analyzovaných SSR markerů poskytovaly 4 SSR markery uniformní spektrum (*Xrems1174*, *Xrems1234*, *Xwmc429* a *Xgwm1166*) u všech analyzovaných genotypů tritikale. Ostatní mikrosatelity poskytovaly 2 až 9 alel, včetně výskytu nulových alel u některých mikrosatelitů (*Xrems1303*, *Xrems1253*, *Xrems1167*, *Xwmc216* a *Xgwm861*). Nejvyšší počet alel byl detekován u mikrosatelitů *Xpsp3000* (9 alel) a *Xbarc004* (7 alel). MANIFESTO et al. (2001) zjistili u pšenice v případě SSR markeru *Xpsp3000* 13 alelických variant (213-285 bp) včetně nulové.

Dvě alely v rámci jednoho SSR markeru byly detekovány u odrůdy Tornado (6 mikrosatelitů), Lupus (4 mikrosatelity) a genotypů Gutek, MA1 (linie 1) a Presto Valdy HL-67 u jednoho SSR markeru. U odrůdy Tornado byly pomocí polymorfizmu prolaminových bílkovin detekovány dvě sesterské linie (VYHNÁNEK, BEDNÁŘ, 2003). Izolace DNA byla realizována ze směsného vzorku, a tak není možné rozlišit jestli se jedná o detekci dvou sesterských linií ve vzorku osiva nebo o heterozygotní konstituci genotypu. Pro upřesnění by bylo nutné realizovat analýzy z jednotlivých rostlin. V případě odrůdy Tornado se přikláníme k názoru, že jedná o detekci obou sesterských linií ve směsném vzorku osiva.

Na základě statistického zpracování byl sestaven dendrogram podobnosti (Jaccardův koeficient) analyzovaných genotypů (obr. 1). Z analyzovaného souboru genotypů se podařilo statisticky významně odlišit ruskou odrůdu Valentin-90 od ostatních 15 analyzovaných genotypů, které tvoří dva subklastery. V jednom subklasteru se nachází registrované odrůdy v ČR s výjimkou odrůd Lupus, Ticino a Presto, které tvoří subklaster s translokovanými genotypy tritikale. V rámci translokovaných genotypů tritikale

odvozených ze stejného výchozího genotypu (Presto I.R., Presto MA1 a Presto Valdy – linie vyselektované v ZVÚ Kroměříž, s. r. o.) byla zjištěna určitá variabilita, což je pravděpodobně způsobeno nehomogeností výchozího materiálu (MARTINEK, ústní sdělení). Jednotlivé translokované genotypy nebylo možno rozlišit podle translokovaného 1R chromozomu, ale SSR markery na jiných chromozomech.



Obr. 1: Dendrogram podobnosti analyzovaných genotypů tritikale

Vysvětlivky: A – Gutek, B – Kitaro, C – Lamberto, D – Lupus, E – Presto, F – Ticino, G – Triamant, H – Tornado, I – Valentin-90, J – Presto 1R.1D₅₊₁₀-1 (BC6), K – Presto I.R. (linie 3), L – Presto I.R. (linie 5), M – Presto MA1 (BC3) (linie 1), N – Presto MA1 (BC3) (linie 2), O – Presto Valdy (linie 10), P – Presto Valdy LH-67.

Závěr

V práci jsou prezentovány výsledky detekce polymorfizmu DNA 30 SSR markery u 16 genotypů tritikale, které je možné využít pro detekci genetické variability a rozlišení jednotlivých analyzovaných genotypů tritikale.

Literatura

- DEVOS, K.M. – BRYAN, G.J. – COLLINS, A.J. – STEPHENSON, P. – GALE, M.D. (1995) Application of two microsatellite sequences in wheat storage proteins as molecular markers. *Theor. Appl. Genet.*, *90*: 247-252.
- GARG, M. – SINGH, S. – SINGH, B. – SINGH, K., DHALIWAL, H. S. (2001): Estimates of genetic similarities and DNA fingerprinting of wheats (*Triticum* species) and triticale cultivars using molecular markers. *Indian J. Agric. Sci.*, *71*: 438-433.
- KHLESTKINA, E.K. – THAN, M.H.M. – PESTSOVA, E.G. – RÖDER, M.S. – MALYSHEV, S.V. – KORZUN, V. – BÖRNER, A. (2004) Mapping of 99 new microsatellite-derived loci in rye (*Secale cereale* L.) including 39 expressed sequence tags. *Theor. Appl. Genet.*, *109*: 725-732.
- KUELUNG, C. – BAEZINGER, P.S. – KACHMAN, S.D. – DWEIKAT, I. (2006): Evaluating the genetic diversity of triticale with wheat and rye SSR markers. *Crop Sci.*, *46*: 1692-1700.
- MANIFESTO, M.M. – SCHLATTER, A.R. – HOPP, H.E. – SUAREZ, E.Y. – DUBCOVSKY, J. (2001) Quantitative evaluation of genetic diversity in wheat germplasm using molecular markers. *Crop Sci.*, *41*: 682-690.
- RÖDER, M.S. – KORZUN, V. – WENDEHAKE, K. – PLASCHKE, J. – TIXIER, M.H. – LEROY, P. – GANAL, M.W. (1998) A microsatellite map of wheat. *Genetics*, *149*: 2007-2023.
- SOMERS, D.J. – ISAAC, P. – EDWARDS, K. (2004) A high-density wheat microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.*, *109*: 1105-1114.
- VYHNÁNEK, T. – BEDNÁŘ J. (2003): Detection of the varietal purity in sample of harvested wheat and triticale grains by prolamin marker. *Plant Soil Environ.*, *49*: 95-98.

*Práce vznikla za finanční podpory projektu IGA MZLU v Brně č. 23/2007.

Adresa autorov:

Bc. Eva Nevrtalová, Bc. Kateřina Slezáková, Ing. Tomáš Vyhnánek, Ph.D., Ústav biologie rostlin, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, e-mail: vyhnanek@mendelu.cz

GENETICKÁ DIVETZITA GENOTYPOV *TRITICUM AESTIVUM* L., *TRITICUM SPELTA* L. A *TRITICUM DURUM* DESF. NA ZÁKLADE HMW-GS

GENETIC DIVERSITY OF *TRITICUM AESTIVUM* L., *TRITICUM SPELTA* L. A *TRITICUM DURUM* DESF. GENOTYPES ON THE HMW-GS BASE

Veronika OSLOVIČOVÁ – Eva PALENČÁROVÁ

*The study deals with the identification, differentiation and characterization of different species of wheat (*Triticum aestivum* L., *Triticum spelta* L., *Triticum durum* DESF.) on the base of the high-molecular-weight glutenin subunits (HMW-GS). The detection of HMW-GS by the standard reference method ISTA SDS-PAGE was used and so-called Glu-score was calculated. Results showed, that the highest value of Glu-score (10) in common wheat varieties was achieved by the cultivars Axis, Istra and Solara. The Glu-score of the *Triticum spelta* L. genotypes from 6 to 8 was detected. In the collection of *Triticum durum* DESF. 70,6% of cultivars was characterised by Glu-score 4, what predestinate them for a special bakery purposes. SDS PAGE of HMW-GS can be applied as a screening test for differentiation of wheat genetic resources and prediction of bread-making quality of wheat.*

Key words: Triticum L., HMW-GS, genetic diversity, SDS-PAGE

Úvod

Pri rozlišovaní genotypov obilnín sú najľahšie dostupnými markermi zásobné bielkoviny, extrahované zo zrelého semena a izoenzýmy. Vysoký polymorfizmus zásobných bielkovín pšenice je výsledkom komplexnosti jej genómu. Genóm *Triticum aestivum* L. a *Triticum spelta* L. je zložený z troch samostatných genómov (A, B, D) rôzneho pôvodu, pričom každý prispieva k celkovej bielkovinovej variabilite (KRAIC, 2004). Glutenínové bielkoviny pšenice špeciálne vysokomolekulárna glutenínová frakcia má významný vplyv na pekárenskú kvalitu zrna pšenice t.j. ovplyvňuje stabilitu a elasticitu štruktúry lepku, gluténové proteíny teda zodpovedajú za vizkoelastické vlastnosti cesta. Vysokomolekulárne podjednotky glutenínov (HMW-GS) sú kontrolované kodominantnými alelami Glu-A1, Glu-B1 a Glu-D1, lokalizovanými na dlhom ramene chromozómov 1A, 1B a 1D (KOLSTER et al., 1992). Genóm *Triticum durum* DESF. pozostáva z dvoch genómov, v dôsledku čoho je pšenica tvrdá vhodnou obilninou len na špeciálne pekárské účely.

Cieľom práce bolo identifikovať genotypy troch druhov pšenice (*Triticum aestivum* L., *Triticum spelta* L., *Triticum durum* DESF.) a poukázať na ich genetickú rozmanitosť na základe zastúpenia vysokomolekulárnych glutenínových subjednotiek (HMW-GS).

Materiál a metódy

Analýzovali sme 38 genotypov pšenice letnej, 17 genotypov pšenice tvrdej a 7 genotypov pšenice špaldy, ktoré nám poskytla Génová banka semenných druhov SR SCPV VÚRV v Piešťanoch. Vo vzorkách sme stanovili HMW-glutenínové subjednotky elektroforetickou metódou SDS-PAGE podľa metodiky ISTA (WRIGLEY, 1992). Densitometrické záznamy elektroforetických profilov jednotlivých genotypov pšenice boli vyhodnotené dokumentačným a vyhodnocovacím systémom GelWorks 1D pre Windows. Genetickú interpretáciu alelickej zostavy v lokusoch Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1 a následný výpočet Glu-hodnotenia sme uskutočnili podľa katalógu alel pre HMW-GS (PAYNE et al., 1987).

Výsledky a diskusia

Identifikáciu, diferenciaciu a charakteristiku genotypov obilnín je možné realizovať na základe zastúpenia HMW-GS, ktoré vystupujú ako genetické markery technologickej kvality zrna. Z našich výsledkov vyplýva, že v hodnotenom súbore genotypov *Triticum aestivum* L. sa z lokusu Glu-A1 vyskytovali HMW-GS 0; 1; 2*, pričom 44,7% genotypov obsahovalo podjednotku 0. Z lokusu Glu-B1 sme zistili tri dvojice podjednotiek HMW-GS a to 6+8; 7+8; 7+9, z ktorých najvyššiu frekvenciu vykázali podjednotky 7+9. Na lokuse Glu-D1 sme detegovali taktiež tri typy HMW-GS 5+10, 2+12 a 3+12, pričom najvyššie zastúpenie mala podjednotka 5+10 (23 genotypov), ktorá pozitívne vplyva na pekársku kvalitu pšenice. Na základe zastúpenia HMW-GS je možné predgovať technologickú kvalitu zrna pšenice vypočítaním Glu-score, ktorého hodnota sa môže pohybovať maximálne do 10. Z výsledkov analyzovaného súboru možno konštatovať, že Glu-score zrna pšenice letnej sa pohybovalo od 4 do 10, pričom najvyššie Glu hodnotenie (10) vykázal odrody Axis, Istra a Solara a najnižšie (4) Slovenská 2. Uvedené je v súlade s výsledkami, ktoré dosiahli Starovičová, Gálová, 2002, Chňapek et al. 2006 a ďalší.

V analyzovaných vzorkách *Triticum spelta* L. sme z lokusu Glu-A1 detegovali HMW-glutenínové podjednotky 0; 1 a 2*, pričom podjednotku 0 mal iba novošľachtene Line 3/96. Z lokusu Glu-B1 sme stanovili až štyri dvojice HMW-GS 6 + 8; 7 + 8; 7 + 9, 17 + 18, pričom podjednotka 17 + 18 bola zastúpená len v línii Line 3/96 a podjednotka 7 + 9 len v odrode Renval. Z lokusu Glu-D1 sme zistili pri odrode Rotweil Fruhnkorn podjednotku 5 + 10 a v ostatných analyzovaných genotypoch dvojicu podjednotiek 2 + 12, ktorá je markerom nevhodnej technologickej kvality zrna. Glu-score analyzovaných genotypov *Triticum spelta* L. malo hodnotu od 6 do 8, pričom najvyššie (8) Glu-score vykázali odrody Cv. Baetting Niederuill a Rotweil Fruhnkorn a najnižšie (6) odrody Cv. Fuggers Babenhauser Zuchtveessen, Cv. Weisser Winter-

Granendinkel aus Hohen, Line3/6, a Schwabenkorn. K obdobným výsledkom sa dopracovali aj RODRIGUEZ-QUIJANO et al. (1990), KNOBLOCHOVÁ et al. (2000), GÁLOVÁ et al. (2002) a ďalší. Pre pšenicu špalda je charakteristická viačlíniovosť (RODRIGUEZ-QUIJANO et al., 1990; KNOBLOCHOVÁ et al., 2000), čo sa v nami analyzovaných vzorkách nepotvrdilo.

V zrnie pšenice tvrdej chýba D-genóm, preto je vhodná len na výrobu cestovín. Analyzované genotypy *Triticum durum* DESF. sa vyznačovali tým, že z lokusu Glu-A1 bola detegovaná iba jedna HMW-GS a to 0. Z lokusu Glu-B1 sme zistili tri typy HMW-GS 6 + 8; 7 + 8 a 7 + 9, pričom najvyššie zastúpenie (70,6%) mala podjednotka 7 + 8. Podjednotka 6 + 8 bola zistená len v odrode SO-94-d-201. Glu hodnotenie v analyzovaných vzorkách pšenice tvrdej sa pohyboval od 2 do 4, pričom najnižšie (2) Glu-score mala odroda SO-94-d-201. 70,6% genotypov kolekcie *Triticum durum* DESF. dosiahlo Glu hodnotenie 4. K obdobným výsledkom prišli aj HE et al. (1999), BRITES, CARRILLIO (2001), GÁLOVÁ et al. (2002) a ďalší.

Záver

Na základe zastúpenia HMW-GS je možné identifikovať a charakterizovať genotypy jednotlivých druhov pšeníc. Z dosiahnutých výsledkov pšenice letnej f. ozimnej vyplýva, že najvyššie Glu hodnotenie (10) vykázali odrody Axis, Istra a Solara. Glu-score analyzovaných genotypov *Triticum spelta* L. malo hodnotu od 6 do 8, pričom najvyššie (8) Glu-score boli detegované v genotypoch Cv.Baetting Niederuill a Rotweil Fruhnkorn. V kolekcii kultivarov *Triticum durum* DESF. 70,6% dosiahlo Glu hodnotenie 4, čo ich predurčuje pre špeciálne pekárske účely.

Literatúra

1. BRITES, C. – CARRILLIO, J. : Influence of high molecular weight (HMW) and low molecular weight (LMW) gluten subunits controlled by Glu-1 and Glu-3 loci on durum wheat quality. *Cereal Chem.*, 78, 2001, s. 59-63.
2. GÁLOVÁ, Zdenka - MICHALÍK, Ivan - KNOBLOCHOVÁ, Henrieta - GREGOVÁ, Edita: Variation in HMW glutenin subunits of different species of wheat. In: *Rostlinná výroba*, roč. 48, 2002, č. 1, s. 15-19.
3. HE, G. Y. – ROOKE, L. – STEELE, S. – BÉKÉS, F. – GRAS, P. – TATHAM, A. S. – FIDO, R. – BARCELO, P. – SHEWRY, P. R. – LAZZERI, P. A. : Transformation of pasta wheat (*Triticum durum* L. var. *durum*) with high-molecular-weight glutenin subunit genes and modification of dough functionality. *Molecular Breeding*, 5, 1999, s. 377-386.
4. CHŇAPEK, M. - VIVODÍK, M. - GÁLOVÁ, Z. – GREGÁŇOVÁ, Ž. 2006. Detekcia technologickej kvality pšenice molekulárnymi markermi. In: *Bezpečnosť a kvalita potravín a surovín : Zborník vedeckých prác z II. Vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou*. Nitra : SPU, 2006. s. 174 – 179. ISBN 80-8069- 767-1.
5. KNOBLOCHOVÁ, Henrieta - GÁLOVÁ, Zdenka: High molecular weight glutenin subunits variation and relative quantitation in winter spelt wheat cultivars. In: *Rostlinná výroba*, roč. 46, 2000, č. 6, s. 255-260.
6. KRAIC, J. 2004. *Genetické markery rastlín*. Nitra : SPU, 2004, 67 s. ISBN 80-8069-381-1.
7. KOLSTER, P. – KRECHTING, C. F. – VANGELDER, W. M. J. 1992. Qualification of individual high molecular weight glutemin subunits of wheat using SDS-PAGE and scanning densitometry. In: *J. Cereal*, roč. 15, 1992, s. 49 – 61.
8. PAYNE, P. I. – NIGHTINGALE, M. A. – KRATTIGER, A.F. 1987. The relationship between the HMW glutenin subunit composition and the breadmaking quality of British – grown wheat varieties. In: *Science Food. Agriculture*, roč. 40, 1987, No. 8, p. 51 – 65.
9. RODRIGUEZ-QUIJANO, M. – VÁZQUEZ, J.F. – CARRILLO, J. M. : Variation of high molecular weight glutenin subunits in Spanish landraces of *Triticum aestivum* ssp. *vulgare* and ssp. *spelta*. *J. Genet. Breed.*, 44, 1990, 121-126.
10. STAROVIČOVÁ, M. – GÁLOVÁ, Z. 2002. Charakteristika kolekcie rôznych genotypov pšeníc využitím bielkovinových markerov. In: *Využití molekulárních markerov v biologii, šľachtení a uchovávaní génových zdrojů rostlin*. Agrite Šumperk, 2002, s. 33.
11. WRIGLEY, C. W. 1992. Identification of cereal varieties by gel electrophoretis of the grain proteins. In: *Linkes H. F., Jackson J. F.: Seed analysis*, 1992, p. 17-41

Práca bola riešená za finančnej podpory grantovej výskumnej úlohy VEGA projektu č. 1/3474/06 „Využitie bielkovinových a DNA markerov pri charakteristike genotypov pšenice a jačmeňa“.

Adresa autorov:

Veronika Oslovičová, Eva Palenčárová, Katedra biochémie a biotechnológie, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2, 94901, Nitra, SR e-mail: Veronika.Oslovicova@uniag.sk

BIELKOVINOVÁ CHARAKTERISTIKA LÁSKAVCA (*AMARANTHUS L.*) A CÍCERA (*CICER ARIETINUM L.*) Z HĽADISKA ICH ALERGENICITY PROTEIN CHARACTERISTIC OF *AMARANTHUS L.* AND *CICER ARIETINUM L.* FROM THE POINT OF VIEW THEIR ALLERGENICITY

Eva PALENČÁROVÁ – Veronika OSLOVIČOVÁ – Zdenka GÁLOVÁ

*Coeliac disease is a disorder of the small intestine characterized by villous atrophy, due to an intolerance to dietary gluten in genetically, susceptible individuals, which responds to gluten withdrawal. The study deals with the selection of suitable varieties of pseudocereals from the point of view of non-gluten diet. Content of proteins, fractionation of proteins and electrophoretic separation of storage proteins by the method ISTA SDS-PAGE in the seeds of 26 genotypes *Amaranthus L.* and 16 genotypes *Cicer arietinum L.* were determined. The globulins are the dominant storage protein fraction in analysed varieties of pseudocereals, which introduce them among nutritive valued protein sources in people and animal nutrition. Results showed, that analysed genotypes of amaranth and chickpea are characterised by low content of allergic proteins (1-4%), so they are suitable for gluten-free diet in coeliac disease.*

*Key words: *Amaranthus L.*, *Cicer arietinum L.*, coeliac disease, SDS – PAGE*

Úvod

Rastlinné bielkoviny predstavujú dôležitý zdroj bielkovín vo výžive ľudí a zvierat. Bielkoviny zrna sú utilizované v podobe bielkovinového komplexu, pričom cytoplazmatické bielkoviny (albumíny a globulíny) vykazujú enzymatickú aktivitu, kým prolamíny a gluteníny sú typické zásobné bielkoviny, dôležité z hľadiska technologickej kvality zrna (GÁLOVÁ et al., 2005). Celiakálne ochorenie je spôsobené zvýšenou citlivosťou niektorých jedincov ľudskej populácie na prítomnosť celiakálne aktívnych, prolaminových bielkovín. Celiakia je metabolické ochorenie, pri ktorom dochádza k poškodeniu štruktúry malej intestinálnej sliznice tenkého čreva (BAYER, KUTÍLEK et al., 2002). Táto disfunkcia vedúca k malabsorbácii je príčinne spájaná so zavádzaním potravy obsahujúcej prolamíny obilného zrna ako sú gliadíny pšenice, sekalíny raže, hordeíny jačmeňa, prípadne aveníny ovsu. Po diagnostikovaní ochorenia je bezpečková diéta s vylúčením potravín obsahujúcich glutén jediným spôsobom ako zabrániť ďalšiemu poškodzovaniu črevnej sliznice (BAYER, KUTÍLEK, et al., 2002).

Materiál a metódy

V práci sme analyzovali súbor 26 genotypov láskavca a 16 genotypov cícera, ktoré boli získané z Génovej banky semenných druhov SR SCPV VÚRV v Piešťanoch. V celozrnnom šrote vzoriek bol stanovený celkový dusík podľa Kjeldahla, percentuálne zastúpenie bielkovín (%Nx5,7 pre amarant, %Nx 6,0 pre cícer) a frakčná skladba bielkovín (ICC metóda). Zásobné bielkoviny boli extrahované a separované štandardnou referenčnou metódou podľa metodiky ISTA SDS-PAGE (WRIGLEY, 1992). Densitometrické záznamy elektroforetických profilov jednotlivých genotypov boli vyhodnotené pomocou systému GelWorks 1D pre Windows.

Výsledky a diskusia

Celiakálne ochorenie (celiakálna sprue, gluténová enteropatia, gluténsenzitívna enteropatia detí, idiopatická sprue dospelých) je spôsobené zvýšenou citlivosťou niektorých jedincov ľudskej populácie na prítomnosť tzv. celiakálne aktívnych resp. alergických prolaminových bielkovín. Najtoxickjšou frakciou sa ukázala frakcia alfa-gliadínov o relatívne nízkej molekulovej hmotnosti okolo 30 kDa (PARNELL, CICLITIRA, 1999). Vo všeobecnosti je možné predpokladať, že nízky podiel prolaminových bielkovín na úrovni 4-8%, čo je charakteristické pre bielkovinový komplex viacerých pseudocereálií, vyhovuje potrebám bezpečkovej diéty. Pseudocereálie pre vysoký obsah plnohodnotných bielkovín, tukov a minerálnych látok nachádzajú čoraz väčšie využitie v racionálnej výžive. Do tejto skupiny cereálií možno zaradiť pohánku, mrlík, cirok, láskavec a ďalšie. Láskavec pre svoju vysokú nutričnú hodnotu semien a listov je považovaný za jednu z najvýživnejších rastlín na svete. V porovnaní s obilninami má oveľa vyšší obsah bielkovín (18 %) a vyváženú skladbu aminokyselín. Za jeho nepriaznivú vlastnosť možno považovať vysoký obsah tukov, ktorý sa pohybuje v rozmedzí 7-8 % v sušine semena (MUCHOVÁ et al., 2000). Obdobne cícer z hľadiska nutričných a organoleptických vlastností patrí medzi najkvalitnejšie strukoviny vhodné pre výživu ľudí. Kvalita jeho semien je daná vysokým obsahom cukrov, bielkovín, vlákniny a nenasýtených mastných kyselín. Je bohatým zdrojom vápnika, železa a vitamínu B₁₅. Semená obsahujú 15-30% bielkovín. Bolo dokázané (PETR et al., 2003), že ako láskavec, tak ani cícer nespôsobujú celiakálne ochorenie a môžu byť využité pre prípravu potravín vhodných pri bezpečkovej diéte.

Zo získaných výsledkov vyplýva, že priemerný obsah bielkovín v semenách analyzovaných genotypov amaranta bol 11,3 %, kým v semenách cícera 12,4 %, čo ich zaraďuje k nízko bielkovinovým plodinám. Obsah bielkovín vyšší ako 12 % sme zaznamenali v genotypoch láskavca Fakel, 17 GUA, Koniz a K 436. V semenách cícera bol obsah bielkovín vyšší napr. PK 52 291 (14,3%), AVG 480 (13,5%) a BC 004 233 (13,5%). Obsah cytoplazmatických bielkovín (albumínov a globulínov), ktoré sa vyznačujú najvyššou

nutričnou kvalitou v semenách láskavca varíoval od 46,2% do 60,0%, kým v cíceri 65,8% do 81,1%. Z uvedeného vyplýva, že z výživného hľadiska dosahuje cícer vyššie parametre v porovnaní s láskavcom, čo je v súlade s GÁLOVOU et al. (2005), s Kolektívom autorov (2006) a ďalšími.

Podiel prolaminových bielkovín, zodpovedných za vyvolanie celiakálneho ochorenia, sa v semenách láskavca pohyboval od 2,0% do 3,99 %, glutelínov od 20,0% do 33,2% a nerozpustného zvyšku od 13,9 do 19,4 %. Percentuálne zastúpenie prolaminov v cíceri bolo nižšie ako v amarante, a to 1,4-2,7 %. Zastúpenie glutelínovej frakcie bolo od 9,5% do 15,5 % a nerozpustného zvyšku 7,6% - 15,8%. Medzi genotypy s najnižším percentuálnym zastúpením prolaminov patrili z kolekcie láskavca Lider, A-70, RRC 1386 a z genotypov cícer genotypy Slovák, 87 192 a PK 51 814. Denzitometrickým vyhodnotením elektroforeogramov zásobných bielkovín sa potvrdilo, že zastúpenie prolaminov je v genotypoch láskavca ako aj cícer nízke, čo je v súlade s výsledkami MUCHOVEJ et al. (2003), s Kolektívom autorov (2006) a ďalšími.

Záver

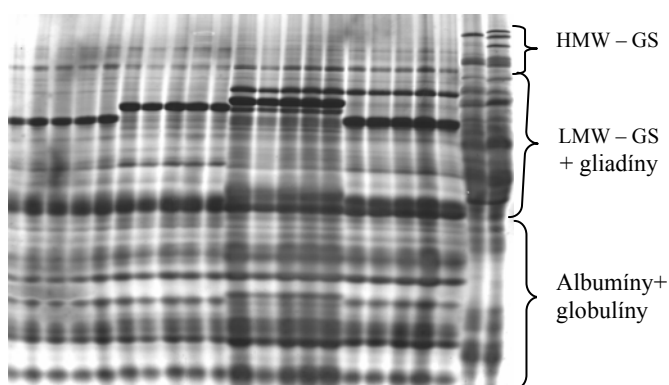
Analyzované genotypy láskavca a cícer sa vyznačujú významnou nutričnou hodnotou a je ich možné odporučiť pre rozšírenie potravinového spektra chorých na celiakiu, nakoľko obsah lepkových bielkovín v ich semenách, vyvolávajúcich alergické reakcie, bol pod limitovanou hranicou (200 mg.kg⁻¹).

Literatúra

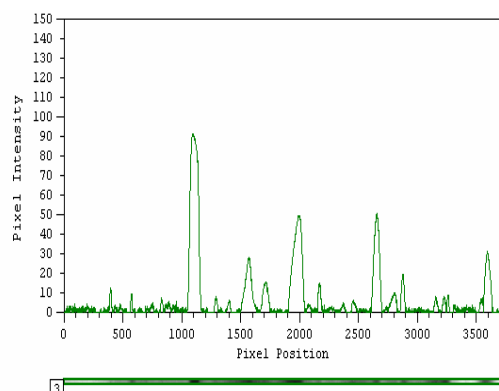
1. BAYER, M. – KUTÍLEK, Š. et al. 2002. Metabolická onemocnění skeletu u dětí. Praha: Grada publishing, 2002. 340 s. ISBN 80-247-0235-5.
2. GÁLOVÁ, Z. et al., 2005. Kvalita pseudocereálií vo vzťahu k celiakii. In Zborník Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín. Nitra: SPU, 2005. s. 17 - 21.
3. MUCHOVÁ, Z. et al., 2000. Bielkovinové frakcie semena láskavca (*Amaranthus SP.*). In Rostlinná výroba, roč. 46, 2000, č.7, s. 331-336.
4. PARNELL, N. D. J. – CICLICHTIRA, P. J. 1999. Review article: celiac disease and its management. *Aliment Pharmacol Ther.*, 1999, vol. 13, p. 1 – 13.
5. PETR, J. - CAPOUCHOVÁ, I. - TLASKALOVÁ-HOGENOVÁ, H. 2003. Extension of the spectra of plant products for the diet in coeliac disease. In *Czech J. Food Scientia*, vol. 21, 2003, No. 2, p. 59 - 70.
6. WRIGLEY, C.W. 1992. Identification of cereal varieties by gel electrophoresis of the grain proteins. In Linskens, H. F. – Jackson, J. F.: seed analysis, Verlin, Heidelberg, Springer - Verlag, 1992, p. 17-41.

Táto práca bola riešená v rámci grantovej výskumnej úlohy VEGA projektu č. 1/3474/06 „Využitie bielkovinových a DNA markerov pri charakteristike genotypov pšenice a jačmeňa“.

Obr. 1: Elektroforetické spektrum zásobných bielkovín amaranta



Obr. 2 Denzitometrický záznam genotypu A47



Adresa autorov:

Eva PALENČÁROVÁ, Veronika OSLOVIČOVÁ, Zdenka GÁLOVÁ, Katedra biochémie a biotechnológie, FBP SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: eva.palencarova@uniag.sk

DIVERZITA MIKROSKOPICKÝCH HÚB OBILNÍN A TRÁV NA SLOVENSKU FUNGAL DIVERSITY OF CEREALS AND GRASSES IN SLOVAKIA

Martin PASTIRČÁK

The present paper deals with about 12 graminicolous pyrenomycetes preliminary found on plant materials of cereals and grass in Slovakia. Abundant dark-pigmented ascomata were observed on plant residues, overwintered inflorescences and senescent leaves or stems plant tissue. Nine genera of parasitic pyrenomycetes (Cochliobolus, Didymella, Gaeumannomyces, Gibberella, Monographella, Mycosphaerella, Phaeosphaeria, Pleospora, Pyrenophora) and three genera saprophytic graminicolous pyrenomycetes (Chaetomium, Gelasinospora, Sordaria) were identified from examined samples. About 14 genera of microscopic fungi, mainly fungi from genus Alternaria, Fusarium, Cladosporium, Epicoccum and Septoria were determined on winter wheat plants.

Key words: Triticum aestivum L., Dactylis glomerata L., mycoflora, seedborne fungi

Úvod

Pšenica letná forma ozimná (*Triticum aestivum* L.) patrí medzi základné plodiny pestované na Slovensku. Pšenica je počas ontogenézy atakovaná abiotickými a biotickými faktormi. Približne 72 % organizmov, ktoré atakujú semeno pšenice patrí k mikroskopickým hubám (RICHARDSON, 1996). Klas a zrno pšenice kolonizujú dve skupiny mikroskopických húb: saprofytické a patogénne (rod *Fusarium*, *Septoria*). Huby rodu *Fusarium* spôsobujú hnilobu klasov *Fusarium head blight* (FHB), jedno z najvážnejších ochorení pšenice letnej formy ozimnej. Okrem izolácie z klasov a zrna pšenice môžeme *F. graminearum* (PASTIRČÁK, 2004) identifikovať aj zo semena divorastúcich tráv napr. reznáčky laločnatej. Teleomorfné štádium *Gibberella zeae* (Schweinitz) Petch zohráva významnú úlohu pri primárnej infekcii na začiatku vegetačného obdobia. SUMMERELL et al. (2003) komplexne spracúvajú problematiku identifikácie a symptomatológie ochorení, ktoré spôsobujú huby rodu *Fusarium*. Huby rodu *Septoria* spôsobujú ekonomicky významné ochorenia klasov a zrna pšenice, ale aj divorastúcich tráv vrátane reznáčky laločnatej. Na obilninách boli zaznamenané tri druhy tohto rodu: *Septoria tritici*, *Stagonospora nodorum* (Berk.) E. Castell. & Germano a *Stagonospora avenae* (A.B. Frank) Bissett. Okrem druhu *Septoria tritici* ide o patogény, ktoré spôsobujú škvrnitosti na listoch a plevách klasov pšenice. Ich teleomorfné štádia patria do rodov *Mycosphaerella* a *Phaeosphaeria* (CUNFER & UENG, 1999). *Septoria nodorum* spôsobuje najčastejšie škvrny na listoch a plevách pšenice a patrí medzi ekonomicky závažné ochorenia, ktoré sú prenášané semenom. Pohlavné štádium pretrváva na pozberových zvyškoch a trávovitých hostiteľoch a v jarnom období sa podieľa na primárnej infekcii listov (SHAH & BERGSTROM, 2000; ARSENIUK et al., 1998). Zrno pšenice a reznáčky môže byť kolonizované mnohými druhmi mikroskopických húb, medzi najčastejšie patria huby rodov *Alternaria*, *Cladosporium*, *Helminthosporium*, *Fusarium*, *Septoria*, *Stagonospora*, *Penicillium*, *Pythium*, *Rhizopus* alebo *Mucor* (DAWOOD, 1982). TANČINOVÁ et al., (2001) študovali druhové spektrum mikroskopických húb na zrnách pšenice v období zberu a počas uskladnenia. Podľa viacerých autorov existuje viac ako 70 druhov semenom prenosných húb. V súčasnosti existujú komplexné mykologické štúdie (CHAMPION, 1997; MALONE & MUSKETT, 1997) v ktorých je systematicky zdokumentované spektrum semenom prenosných húb. Cieľom tohto príspevku je zhodnotiť druhové zloženie mikroskopických vláknitých húb kolonizujúcich vegetatívne a generatívne časti pšenice letnej a reznáčky laločnatej.

Materiál a metódy

Na štúdium sme použili rastlinný materiál získaný z produkčných plôch pšenice letnej formy ozimnej (*Triticum aestivum* L.) a reznáčky laločnatej (*Dactylis glomerata* L.) v roku 2006 na 11 lokalitách situovaných v rôznych častiach Slovenska. Izoláty mikroskopických húb sme kultivovali a determinovali v podmienkach *in vitro* (kultiváciou na umelých živných pôdach SNA, PDA) a *in situ* (na odumretom rastlinnom materiáli) s využitím štandardnej svetelnej mikroskopie (JENAMED2, Carl Zeiss Jena) na základe makroskopických a mikroskopických charakteristík s použitím manuálov v súčasnosti používaných pre identifikáciu mikroskopických húb (rod *Fusarium*: GERLACH & NIRENBERG, 1982; NELSON et al. 1983; ostatné rody: MALONE & MUSKETT, 1997; CHAMPION, 1997).

Výsledky a diskusia

Štúdium mykoflóry pšenice letnej a reznáčky laločnatej zohráva významnú úlohu v poznaní druhovej diverzity parazitických húb v poľnohospodárskom agroekosystéme. Spoločný hostiteľský okruh niektorých významných patogénov zohráva negatívnu úlohu v epidemiológii a ovplyvňuje zdravotný stav porastu po kvalitatívnej a kvantitatívnej stránke. Celková druhová skladba parazitických húb kontaminovaného zrna sa v konečnom dôsledku premietne aj do životaschopnosti a kvality primárneho zdroja vstupujúceho do potravinárskeho priemyslu. Na súkvetí pšenice a reznáčky laločnatej sme identifikovali približne 20 druhov mikroskopických húb. Medzi najčastejšie druhy patrili huby rodu *Stagonospora* (syn. *Septoria*) s tým, že sme zaznamenali výskyt troch druhov: *Septoria tritici*, *Stagonospora nodorum* a *Stagonospora avenae*. Najvyšší výskyt sme zaznamenali pri hubách *Stagonospora nodorum* a *Stagonospora avenae*. Okrem anamorfného

štádia sme na klase zaznamenali výskyt všetkých troch teleomorfnych štádií uvedenej skupiny parazitických húb patriacich do rodov *Mycosphaerella* (*M. graminicola*) a *Phaeosphaeria* (*P. nodorum*, *P. avenae*). Druhým najčastejším rodom, s ktorým sme sa stretli pri mikroskopickej analýze boli huby rodu *Fusarium*. Najčastejšie sme izolovali a determinovali druhy *F. graminearum*, *F. poae*, *F. avenaceum* a *F. culmorum*. Okrem anamorfného štádia sme na väčšine sledovaných lokalitách zaznamenali prítomnosť huby *Gibberella zeae*. Komplex parazitických vreckatých húb bol doplnený zaznamenaním výskytu húb *Pyrenophora tritici-repentis* a *Cochliobolus sativus*, spôsobujúcich škvrnitosť listov ako pšenice, tak aj reznáčky. Výskyt sledovaných vreckatých húb bol zaznamenaný buď iba na jednom hostiteľovi, alebo na viacerých hostiteľoch. Získané údaje o rozšírení a hostiteľskom okruhu boli doplnené štúdiom variability reprodukčných orgánov. Zaznamenané vreckaté štádia sledovaných parazitických húb prežívajú na odumretých rastlinných zvyškoch zimné obdobie a na začiatku vegetačného obdobia predstavujú primárny zdroj infekcie.

Záver

Z rastlinného materiálu sledovaných druhov obilnín a tráv sme izolovali 12 parazitických rodov vreckatých húb. Celkovo sme identifikovali huby z rodu *Gibberella* (1 druh), *Monographella* (1), *Mycosphaerella* (1), *Phaeosphaeria* (4), *Gaeumannomyces* (1), *Cochliobolus* (1), *Pyrenophora* (2), *Pleospora* (1), *Sordaria* (1), *Chaetomium* (1) a *Gelasinospora* (1). Druhové spektrum mikroskopických húb na zrne pozostávalo prevažne z húb imperfektných a s nízkym podielom vreckatých húb. Symptómy napadnutia zrna mikroskopickými hubami sa prejavujú najmä zmenou tvaru a zafarbenia zrna. V podmienkach *in vitro* sme zo zrna pšenice a reznáčky izolovali 19 rodov mikroskopických húb z toho najčastejšie sme izolovali huby *Alternaria* ssp., *Penicillium* ssp., *Rhizopus* ssp., *Fusarium* ssp., *Epicoccum purpurascens*, *Aspergillus* ssp., *Drechslera* ssp., *Bipolaris sorokiana*, *Stemphylium* ssp.

Pod'akovanie

Táto práca bola vypracovaná s podporou grantu Ministerstva pôdohospodárstva SR, číslo 2006 UO 27/091 05 01/091 05 11 a Agentúrou na podporu vedy a techniky na základe Zmluvy č. APVT-27-009904.

Literatúra

1. ARSENIUK, E. – GORAL, T. – SOWA, W. – CZEMBOR, H.J. – KRYSIAK, H. – SCHAREN, A.I. 1998: Transmission of *Stagonospora nodorum* and *Fusarium* spp. on triticale and wheat seed and the effect of seedborne *Stagonospora nodorum* on disease severity under field conditions. J. Phytopathology 146: 339-345.
2. DAWOOD, M.K.M. 1982: Seed-borne fungi, especially pathogens, of spring wheat. Acta Mycologica 18 (1): 83-112.
3. GERLACH, W. – NIRENBERG, H. 1982: The genus *Fusarium* – a pictorial atlas. Mittellungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Heft 209, Paul Parey, Berlin.
4. CHAMPION, R. 1997: Identifier les champignons transmis par les semences. INRA, Paris.
5. MALONE, J.P. – MUSKETT, A.E. 1997: Seed-borne fungi. Description of 77 fungus species. The International Seed Testing Association, 191 pp.
6. NELSON, P.E. – TOUSSON, T.A. – MARASAS, W.F.O. 1983: *Fusarium* species. An illustrated manual for identification. Pennsylvania state University Press.
7. PASTIRČÁK, M. 2004: Vlákňité huby kolonizujúce klas a semeno pšenice letnej f. ozimnej (*Triticum aestivum*). In: Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín: Zborník z 11. odborného seminára, 24.-25. novembra 2004 / Ed. M. Užík.- Piešťany: VÚRV, 137-138.
8. RICHARDSON, M.J. 1996: Seed mycology. Mycol. Res. 100(4): 385-392.
9. SHAH, D.A. – BERGSTROM, G.C. 2000: Temperature dependent seed transmission of *Stagonospora nodorum* in wheat. European Journal of Plant Pathology 106: 837-842.
10. SUMMERELL, B.A. – SALLEH, B. – LESLIE, J.F. 2003: A utilitarian approach to *Fusarium* identification. Plant Disease 87(2): 117-128.
11. TANČINOVÁ, D. – KAČÁNIOVÁ, M. – JAVOREKOVÁ, S. 2001: Natural occurrence of fungi in feeding wheat after harvest and during storage in the agricultural farm facilities. Biologia (Bratislava) 56(3): 247-250.
12. CUNFER, B.M. – UENG, P.P. 1999: Taxonomy and identification of *Septoria* and *Stagonospora* species on small-grain cereals. Annu. Rev. Phytopathol. 37: 267-284.

Adresa autora:

Mgr. Martin PASTIRČÁK, PhD., SCPV – Výskumný ústav rastlinnej výroby, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, pastircak@vurv.sk, uefemapa@hotmail.com

VLÁKNITÉ HUBY KOLONIZUJÚCE MAK SIATY (*PAPAVER SOMNIFERUM* L.) POČAS ONTOGENÉZY

FILAMENTOUS FUNGI ASSOCIATED WITH OPIUM POPPY PLANTS DURING ONTOGENESIS

Martin PASTIRČÁK

*The mycoflora of opium poppy (*Papaver somniferum* L.) plants was determined by using method of surface-treatment of roots, stems and seeds and two culture media. 14 genera of microscopic fungi, mainly fungi from genus *Peronospora*, *Erysiphe*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Helminthosporium*, *Stemphylium* and *Rhizoctonia* were determined on opium poppy plants (including seeds).*

Key words: opium poppy, mycoflora, seedborne fungi, Helminthosporium

Úvod

Na území Slovenska predstavuje mak siaty (*Papaver somniferum* L.) popri repke a slnečnici významnú olejnatú plodinu, pestovanú najmä pre potravinársky a farmaceutický priemysel. V súčasnej dobe sa kladie dôraz na intenzívnejšie odrody maku, ktoré majú poskytovať podstatne vyššie úrody kvalitného semena a majú mať vyššiu odolnosť proti chorobám a niektorým škodcom. Komplexnejšie o hubových ochoreniach maku siateho pojednáva E. Baudyš v druhej časti „Zemědělská fytopatologie“ (BAUDYŠ, 1958), kde medzi najdôležitejšie patogény patria: *Peronospora arborescens* (Berkeley) de Bary, *Pleospora calvescens* (Fries) Tulasne (konidiové štádium *Helminthosporium papaveris* (Hennig)), *Entyloma fuscum* Schröter, *Alternaria brassicae* var. *somniferi* Briard et Hariot a *Erysiphe communis* (Wallr.) Link. Ďalšie hubové ochorenia spôsobujú múčnatka *Erysiphe communis* (Wallr.) Link. alebo *Erysiphe polygoni* (Ascomycetes, *Erysiphales*) (KOTHARI, VERMA, 1972) a hniloba rastlín nazývaná „collar rot“ (TRIVEDI et al., 2005). Hubové ochorenie „collar rot“ je spôsobované hubou *Rhizoctonia solani* Kühn a prejavuje sa v štádiu rastlín s 10-12 listami. Výška mortality pri citlivých genotypoch môže dosiahnuť úroveň vyššiu ako 50%. Odumieranie mladých klíčnych rastlín „damping-off“ sa môže vyskytovať v prípade nepriaznivých klimatických podmienkach. Padanie klíčnych rastlín môže byť spôsobované širším spektrom parazitických húb napr. rodu *Pythium* (*Pythium dissotocum*) (BAJPAI et al., 1999) alebo hubou *Helicobasidium purpureum*. SPITZER (2001) poukazuje na hubové patogény maku v roku 2001 v Českej republike. Okrem huby *Peronospora arborescens* a *Helminthosporium papaveris* upozorňuje aj na hubových patogénov *Sclerotinia sclerotiorum* a *Botrytis cinerea*. Okrem už spomínaných hubových patogénov BOKOR & HUDEC (2002) poukazujú na hubové ochorenie nazývané „čern“, ktoré je spôsobované hubou *Pleospora herbarum* (konidiové štádium *Stemphylium botryosum*). Ochorenie sa prejavuje na makoviciach alebo stonkách tvorbou tmavého, olivovo-čierneho povlaku. Mykoflórou semena maku v spojitosti so štúdiom prítomnosti roztočov pri uskladňovaní semena sa zaoberá HUBERT et al. (2003). LEICHTFRIED et al. (2004) sa zamerali na identifikáciu bakteriálnej a hubovej mykoflóry, ktorá sa uplatňuje v procese degradácie lipidov maku siateho. Zrno maku môže byť kolonizované mnohými druhmi mikroskopických húb, medzi najčastejšie patria huby rodov *Alternaria*, *Cladosporium*, *Helminthosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Pythium*, *Rhizopus* alebo *Mucor*. Cieľom tohto príspevku je zhodnotiť druhové zloženie mikroskopických vláknitých húb kolonizujúcich vegetatívne a generatívne časti (vrátane semena) maku siateho.

Materiál a metódy

Na štúdium sme použili rastlinný materiál získaný z produkčných plôch maku siateho v roku 2006 na 11 lokalitách situovaných v rôznych častiach Slovenska. Izoláty mikroskopických húb sme kultivovali a determinovali v podmienkach *in vitro* (kultiváciou na umelých živných pôdach SNA, PDA) a *in situ* (na odumretom rastlinnom materiáli) s využitím štandardnej svetelnej mikroskopie (JENAMED2, Carl Zeiss Jena) na základe makroskopických a mikroskopických charakteristík s použitím manuálov v súčasnosti používaných pre identifikáciu mikroskopických húb (rod *Fusarium*: GERLACH & NIRENBERG, 1982; NELSON et al., 1983; ostatné rody: MALONE & MUSKETT, 1997; CHAMPION, 1997). Sledované rody sme fotograficky dokumentovali (Olympus CAMEDIA C-4000 ZOOM).

Výsledky a diskusia

Ochorenie maku sa prejavuje širokým spektrom symptomatických prejavov, od odumierania klíčiacych rastlín cez hnednutie listov, stoniek a toboliek, na stebľach a listových pošvách sa objavujú škvrnité lézie rôzneho tvaru. Priamo v poľných podmienkach sme sledovali výskyt a rozsah napadnutia rastlín patogénom *Peronospora arborescens* a múčnatkou rodu *Erysiphe*. Jednotlivé druhy húb sme charakterizovali stupňom individuálneho vývinu. Tieto dva druhy húb sme zaznamenali na všetkých sledovaných lokalitách. Huba *Peronospora arborescens* patrí k agresívnym obligátnym parazitom, ktorý napáda najmä listy mladých rastlín, neskôr infikuje aj dospelých jedincov a podieľa sa na odumieraní listov, esovitom stočení stonky pod tobolkou a infekciou samotnej tobolky. Symptómy ochorenia plne korešpondujú s našimi pozorovaniami zo

sledovaných lokalít. Symptómy napadnutia múčnatkou sa prejavujú pokrytím listov a stoniek bielym povlakom. Symptómy ochorenia spôsobené múčnatkou plne korešpondujú s našimi pozorovaniami zo sledovaných lokalít.

Z listov sme izolovali hubu *Helminthosporium papaveris* spôsobujúcu helmintosporiovú škvrnitosť listov. Výskyt tejto huby sme potvrdili vo vzorkách zo všetkých študovaných lokalít. Z listov a koreňov sme izolovali hubu *Rhizoctonia solani*, a na všetkých študovaných lokalitách sme zaznamenali výskyt huby *Botrytis cinerea*. Okrem fakultatívnych parazitov sme z listov maku siateho izolovali saprofytické, prípadne náhodne parazitické huby z rodov *Alternaria*, *Ulocladium*, *Stemphylium*, *Epicoccum*, *Penicillium*, *Mycosphaerella*, *Sordaria*, *Pleospora*, *Melanospora*, *Rhizopus* a *Mucor*.

Mykologickou analýzou semena maku siateho sme potvrdili prenos huby *Helminthosporium papaveris* z tobolky na semeno, čím predstavuje táto huba riziko pre kľúčne rastliny (FARR et al, 2000; O'NEILL et al., 2000). Semeno maku siateho je najčastejšie kolonizované hubami rodu *Alternaria* a hubou *Helminthosporium papaveri*. Okrem uvedených druhov sme zo semena maku siateho izolovali huby rodu *Fusarium* (*Fusarium poae*, *F. equiseti*), *Penicillium*, *Aspergillum*, *Arthobotrys*, *Botrytis*, *Epicoccum* a *Stemphylium*.

Záver

V predloženom príspevku sme zhodnotili výskyt zastúpenia mikroskopických húb na vegetatívnych a generatívnych častiach (vrátane semena) maku siateho. Zistili sme široké druhové spektrum, ktoré pozostávalo zo 14 rodov mikroskopických húb. Najvyšší podiel sme zaznamenali u húb rodu *Peronospora*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Helminthosporium*, *Stemphylium*, *Erysiphe* a *Rhizoctonia*.

PodĎakovanie

Táto práca bola vypracovaná s podporou grantu Ministerstva pôdohospodárstva SR, číslo 2006 UO 27/091 05 01/091 05 11.

Literatúra

1. BAJPAI, S. – GUPTA, M.M. – KUMAR, S. 1999: Identification of indian landraces of opium poppy *Papaver somniferum* resistant to damping-off and downy mildew fungal diseases. J. Phytopathology 147: 535-538.
2. BAUDYŠ, E. 1958: Zemědělská fytopatologie díl II., Choroby polních plodin. ČSAZV. Praha.
3. BOKOR, P. – HUDEC, K. 2002: Choroby maku siateho. Naše pole 5: 26-27.
4. FARR, D.F. – O'NEILL, N.R. – Van Berkum, P.B. 2000: Morphological and molecular studies on *Dendryphon penicillatum* and *Pleospora papaveracea*, pathogens of *Papaver somniferum*. Mycologia 92(1): 145-153.
5. HUBERT, J. – STEJSKAL, V. – KUBÁTOVÁ, A. – MUNZBERGOVÁ, Z. – VÁŇOVÁ, M., ŽDÁRKOVÁ, E. 2003: Mites as selective fungal carriers in stored grain habitats. Experimental and Applied Acarology 29: 69-87.
6. CHAMPION, R. 1997: Identifier les champignons transmis par les semences. INRA, Paris.
7. KOTHARI, K.L. – VERMA, A.C. 1972: Germination of conidia of poppy powdery mildew (*Erysiphe polygoni* DC.). Mycopathologia et Mycologia applicata 47(3): 253-260.
8. LEICHTFRIED, D. – KRIST, S. – PUCHINGER, L. – MESSNER, K. – BUCHBAUER, G. 2004: Investigations of the natural microflora of poppy seeds (*Papaver somniferum*) and hazelnut kernels (*Corylus avellana*) including microbiological decomposition. Eur. Food Res. Technol. 219: 282-285.
9. MALONE, J.P. – MUSKETT, A.E. 1997: Seed-borne fungi. Description of 77 fungus species. The International Seed Testing Association, 191 pp.
10. NELSON, P.E. – TOUSSON, T.A. – MARASAS, W.F.O. 1983: *Fusarium* species. An illustrated manual for identification. Pennsylvania state University Press.
11. O'NEILL, N.R. – JENNINGS, J.C. – BAILEY, B.A. – FARR, D.F. 2000: *Dendryphon penicillatum* and *Pleospora papaveracea*, destructive seedborne pathogens and potential mycoherbicides for *Papaver somniferum*. Phytopathology 90: 691-698.
12. SPITZER, T. 2001: Choroby máku v roce 2001. Obilnářské listy 9 (6): 105-107.
13. TRIVEDI, M. – DHAWAN, OP. – TIWARI, RK. – SATTAR, A. 2005: Genetic studies on collar rot resistance in opium poppy (*Papaver somniferum* L.). J Appl Genet. 46(3): 279-284.

Adresa autora:

Mgr. Martin PASTIRČÁK, PhD., SCPV – Výskumný ústav rastlinnej výroby, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, pastircak@vurv.sk, uefemapa@hotmail.com

GENETIC VARIABILITY OF WILD HOPS (*HUMULUS LUPULUS* L.) IN CAUCASUS REGION GENETICKÁ VARIABILITA PLANÝCH CHMELŮ (*HUMULUS LUPULUS* L.) NA KAVKAZE

Josef PATZAK – Vladimír NESVADBA – Alena HENYCHOVÁ

Hop (Humulus lupulus L.) is a dioecious perennial climbing plant and only female plants are cultivated for commercial use, mainly in brewing industry and to a smaller extent for pharmaceutical purposes. Female inflorescences, referred to as cones, contain hop bitter resins, essential oils, polyphenols and tannins. The origin of the genus is considered to be China (Neve 1991). Wild hops are distributed throughout the Northern Hemisphere, and have been classified into a number of taxonomic varieties based on their morphology. Historically, hop improvement has been based on European landraces because they provide the flavour qualities preferred by brewers. Wild germplasm provides new genetic resources for breeding to overcome the limited genetic variation present in modern hop breeding programmes. One of the interesting wild hop regions is Caucasus. It is supposed that this region is a half way of cultivated hop from Asia to Europe. In our experiments, we studied the genetic variability of wild hops from this region.

Key words: hop, Humulus lupulus L., wild hop, Caucasus region, hop resins, germplasm

Materials and methods

In 2005 and 2006, we realized successful expeditions for wild hops in Caucasus region. Wild hops were collected from nine localities: 1 – Vladikavkaz, 2 – river Terek, 3 – Zmenskaja, 4 – Sunža, 5 – Gizel, 6 – Komsomolskoje, 7 – Ursdon, 8 – Craj and 9 – Kabardino-Balkar Republic. Samples were transferred as rootstock or dry cones. Dry cones were used for chemical analyses of hop resins. Hop resins were determined according to EBC 7.7. method by HPLC on SHIMADZU LC 10A (Shimadzu, Japan). Wild hop rootstocks were multipropagated in glasshouse and transferred to field condition. DNAs were isolated from young leaves according to PATZAK (2001). For molecular analyses, we used nine SSR (HADONOU et al., 2004; JAKŠE et al., 2002) and three STS (PATZAK et al., 2007) loci. PCR reactions were performed in TGradient thermocycler (Biometra, FRG). The genetic diversity analysis was evaluated by cluster analysis, which was revealed by NTSYS-pc v. 2.11V for WINDOWS (Exeter Software, USA).

Results

Chemical taxonomy is commercially used for evaluation of cultivated hops and control of variety purity and identification. In spite of fact that natural conditions significantly influence the content of hop resins, the contents of cohumulone and colupulone are stable and belong to reliable genetic determined features. We analysed ten different samples of wild hops from Caucasus region and results are shown in Table 1. We found that some samples (2,5,6,7,9) were very similar to old European varieties. In the other hand, samples with higher content of cohumulone and colupulone (3,4) evidence for origin from another germplasm like American. The molecular DNA technology is a useful method for the study of genetic diversity, individual genotyping, population structure and phylogeny. Therefore, we used it for these purposes. In our experiment, we tested nine Caucasus wild genotypes in comparison to Czech, European and American wild hops (totally 150 genotypes). We found that Caucasus wild hops were clustered to European hop germplasm, which is evidently separated from wild American germplasm and *H. japonicus*. Caucasus wild hops were divided to two groups by submerged group of cultivated hops with mixed Euro-American germplasm. From this analysis is evident that Caucasus wild hops include wide genetic diversity with Euro-Asian germplasm and can be promising sources for hop breeding programmes.

Table 1: Analyses of hop resins of samples from different localities

No.	Locality	alfa acids [% of DW]	beta acids [% of DW]	ratio alfa/beta	cohumulone [% of alfa]	colupulone [% of beta]
1	Zmenskaja	5,73	3,65	1,57	20,3	42,1
2	Ursdon	3,15	3,97	0,79	23,7	51,5
3	river Terek	2,82	2,54	1,11	31,7	39,8
4	Gizel	3,71	3,33	1,11	34,1	54,5
5	Komsomolskoje	3,23	3,81	0,85	19,1	41,5
6	Zmenskaja	3,02	3,14	0,96	25,2	48,7
7	Vladikavkaz	3,59	4,08	0,88	22,4	45,6
8	river Terek	4,45	2,47	1,80	19,4	41,5
9	Vladikavkaz	2,83	3,86	0,73	20,8	42,1
10	Zmenskaja	3,46	2,78	1,24	22,8	41,8
	Saaz	3,0 - 6,0	4,5 - 8,0	0,6 - 0,9	23 - 26	39 - 43
	Sládek	4,0 - 8,0	3,5 - 8,0	0,7 - 1,3	25 - 31	45 - 51
	Premiant	7,0 - 11,0	3,5 - 6,0	1,7 - 2,3	18 - 23	39 - 44
	Agnus	11,0 - 15,0	5,0 - 8,0	1,9 - 2,6	29 - 38	51 - 59

References

- HADONOU, A.M. – WALDEN, R. – DARBY, P. 2004. Isolation and characterization of polymorphic microsatellites for assessment of genetic variation of hops (*Humulus lupulus* L.). Mol. Ecol. Notes 4: 280-282.
- JAKŠE, J. – BANDELJ, D. – JAVORNIK, B. 2002. Eleven new microsatellites for hop (*Humulus lupulus* L.). Mol. Ecol. Notes 2: 544-546.
- NEVE, R.A. 1991. Hops. Chapman and Hall, London.
- PATZAK, J. 2001. Comparison of RAPD, STS, ISSR and AFLP molecular methods used for assessment of genetic diversity in hop (*Humulus lupulus* L.). Euphytica 121: 9-18.
- PATZAK, J. – VRBA, L. – MATOUŠEK, J. 2007. New STS molecular markers for assessment of genetic diversity and DNA fingerprinting in hop (*Humulus lupulus* L.). Genome 50: 15-25.

Acknowledgements

This work is supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of CR in project ME832.

Adresa autora:

Josef Patzak, Hop Research Institute Co.Ltd., Kadaňská 2525, 438 46 Žatec, Czech Republic, Tel: +420415732109 Fax: +420415732150 E-mail: j.patzak@telecom.cz

VPLYV GENOTYPU NA KALOGENÉZU STONKOVÝCH A LISTOVÝCH EXPLANTÁTOV CHMEĽU OBYČAJNÉHO (*HUMULUS LUPULUS* L.) THE EFFECT OF GENOTYPE ON CALLOGENESIS OF INTERNODAL AND LEAF EXPLANTS OF HOP (*HUMULUS LUPULUS* L.)

Ivana PŠENÁKOVÁ¹ – Barbora VIDOVÁ^{1,*} – Juraj FARAGÓ^{1,2}

*In this study, the effect of mineral formulation of the tissue culture medium and the plant genotype on the callus formation ability of two types of explants of hop (*Humulus lupulus* L.) incubated in two culture conditions was evaluated. Our results showed, that both the explant types (internodal segments and leaf-blade segments), cultured either in continuous dark or 16 h photoperiod readily produced calli on all the three media, MS, B5 and SH, supplemented with 2 mg.l⁻¹ BAP and 2 mg.l⁻¹ 2,4-D or NAA. MS and B5 media proved to be better for culture of internodal segments, whereas SH medium for leaf-derived explants. Explants on media with BAP+NAA, produced generally faster growing calli comparing with media supplemented with BAP+2,4-D. Comparison of callus forming ability of 10 different genotypes of hops showed little differences in the frequencies of callus formation. Significant differences between genotypes were only observed in the intensity of callus formation and callus growth rate.*

Key words: hops, culture medium, genotype, callus formation, explant type

Úvod

Rastlinné pletivové a bunkové kultúry predstavujú pre rastlinných fyziológov a biochemikov ideálny modelový systém pre štúdium biosyntetických procesov v rastlinách a slúžia tiež ako potenciálny obnoviteľný zdroj pre produkciu fytofarmaceuticky významné zlúčeniny, vône, arómy a farbivá (COLLIN, 2001; HUAN a kol., 2004; RAMACHANDRA RAO, RAVISHANKAR, 2002; VANISREE a kol., 2004). Zo vzrastajúceho komerčného významu sekundárnych metabolitov produkovaných rastlinami vyplýva veľký záujem o štúdium biosyntézy týchto zlúčenín a predovšetkým o možnosti produkcie bioaktívnych metabolitov metódami rastlinných bunkových a orgánových kultúr. Chmeľ obyčajný (*Humulus lupulus* L.) je tradičná pivovarnícka plodina, ktorá však obsahuje z medicínskeho hľadiska veľmi zaujímavé flavonoidné zlúčeniny, u ktorých bola zistená široká škála biologických účinkov, napr. antioxidantné, antiproliferatívne, antikancerogénne, estrogénne, antimikrobiálne a antivírusové (BAGGI a kol., 2000; BUCKWOLD a kol., 2004; LIU a kol., 2007; STEVENS a kol., 2002; STEVENS, PAGE, 2004). V rámci dlhodobého zámeru vyvinúť vhodnú a efektívnu *in vitro* techniku na štúdium biosyntézy a tvorbu bioaktívnych flavonoidov pri chmeli bolo cieľom tejto práce zistiť vplyv druhu živného média a použitého genotypu na tvorbu kalusového pletiva z dvoch druhov explantátov pri 10 genotypoch chmeľu obyčajného.

Materiál a metódy

Východiskovým zdrojom explantátov pre experimenty boli v *in vitro* podmienkach uchovávané výhonkové kultúry bezvirusového meristémového chmeľu obyčajného (*H. lupulus* L.) genotypov K-31/3/7, K-70/4/2, K-71/4/1, K-72/6/13, K-114/24/1, Aromat/4/6, Zlatan/1/2, Siřem/15/4, Lučan/4/3 a Premiant/3. Z výhonkov pestovaných na živnom médiu MSW₀Ph 6-10 týždňov boli odoberané dva druhy explantátov: stonkové (internodálne) segmenty (StS) veľkosti 6±2 mm a segmenty listových čepelí (LS) veľkosti 10-20 mm². Explantáty boli kultivované v dvoch rôznych kultivačných podmienkach, a to buď v nepretržitej tme pri teplote 27±1°C, alebo v podmienkach fotoperiody 16 h svetlo/8 h tma pri teplotách 25°C (svetlo)/20°C (tma). V pokusoch sme sa zamerali na vplyv zloženia základných živných médií MS (MURASHIGE a SKOOG, 1962), B5 (GAMBORG a kol., 1968) a SH (SCHENK, HILDEBRANDT, 1972) a genotypu na schopnosť tvorby kalusového pletiva na listových a stonkových segmentoch chmeľu obyčajného kultivovaných v *in vitro* kultúre. Živné médiá pre indukciu kalogenézy boli obohatené o 2 mg.l⁻¹ 6-benzylaminopurínu (BAP) a buď 2 mg.l⁻¹ kyseliny 2,4-dichlórfenoxyoctovej (2,4-D) alebo 2 mg.l⁻¹ kyseliny naftyloctovej (NAA). Po 14 a 28 dňoch kultivácie explantátov boli vyhodnocované nasledujúce parametre: percento kontaminácií, percento nekroz, percento explantátov tvoriacich kalus, intenzita tvorby kalusu (vizuálne na základe stupnice: žiadna=0, slabá=1, priemerná=3 a intenzívna=5), priemerná intenzita tvorby kalusu ($I_K = (n_0 \times 0 + n_1 \times 1 + n_2 \times 3 + n_3 \times 5) / (n_0 + n_1 + n_2 + n_3)$, pričom n_0, n_1, n_2, n_3 sú počty explantátov tvoriacich kalus na základe horeuvedenej stupnice), tvorba koreňov (vizuálne na základe stupnice: žiadna=0, slabá=1, priemerná=3 a intenzívna=5), priemerná intenzita tvorby koreňov ($I_R = (n_0 \times 0 + n_1 \times 1 + n_2 \times 3 + n_3 \times 5) / (n_0 + n_1 + n_2 + n_3)$, pričom n_0, n_1, n_2, n_3 sú počty explantátov tvoriacich kalus na základe horeuvedenej stupnice) a index rastu kalusov ($I_G = (I_{K(4w)} / I_{K(2w)})$, pričom $I_{K(2w)}, I_{K(4w)}$ sú priemerné intenzity tvorby kalusu (index kalogenézy).

Výsledky a diskusia

Vplyv rôznych minerálnych zložiek troch druhov živných médií (MS, SH a B5) na frekvenciu a intenzitu kalogenézy stonkových a listových explantátov chmeľu obyčajného v podmienkach kontinuálnej tmy alebo 16 h fotoperiody (16 h svetlo/8 h tma) bol testovaný pri genotype K-70/4/2. Najvhodnejšími médiami na indukciu kalogenézy, čo sa týka sledovaných parametrov u oboch typov explantátov v oboch kultivačných podmienkach, boli médiá MS a SH doplnené rastovými regulátormi BAP a NAA; B5 médium doplnené 2,4-

D a BAP podporovalo kalogenézu predovšetkým stonkových segmentov v oboch kultivačných podmienkach, pre listové segmenty bolo médium B5 vhodnejšie s prídavkom auxínu NAA (Tab. 1). Z použitých explantátov bola všeobecne vyššia frekvencia a intenzita tvorby kalusov zaznamenaná pri stonkových segmentoch (StS), iba na médiách SH vykazovali lepšie parametre (najmä čerstvé hmotnosti) kalusy odvodené z listových segmentov (LS). Tvorbu kalusového pletiva na explantátoch sme pozorovali v oboch kultivačných podmienkach, t.j. v nepretržitej tme aj vo fotoperióde 16 h svetlo/8 h tma. Nárast biomasy bol závislý od zdroja zloženia živného média, použitého explantátu, ako aj od kultivačných podmienok. Vyššie čerstvé hmotnosti kalusov po 4 týždňoch kultivácie sme zaznamenali pri použití formulácií MS a B5 v tme aj fotoperióde spravidla pri explantátoch StS, zatiaľ čo pri použití média SH mali vyššiu čerstvú hmotnosť kalusy indukované na médiu SH (Tab. 1). Cytologická analýza ukazovala podobné štruktúrovanie buniek v indukovaných kalusoch oboch genotypov na všetkých testovaných médiách a kultivovaných v oboch kultivačných podmienkach. Rozdiely medzi genotypmi, kultivačnými podmienkami, či použitými rastovými regulátormi spočívali predovšetkým vo veľkosti buniek (výsledky neuvedené).

Tabuľka 1: Vplyv zloženia anorganických solí živných médií na kalogenézu a rizogenézu z dvoch druhov explantátov chmeľu obyčajného genotypu K-70/4/2 pestovaného *in vitro* v rôznych kultivačných podmienkach 28 dní

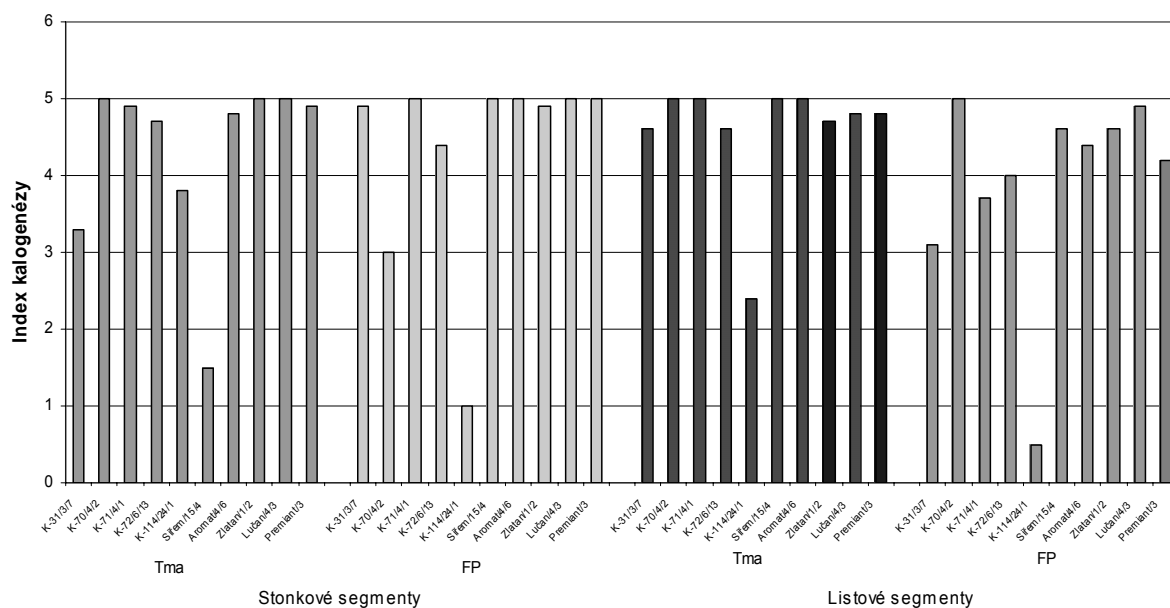
Explantát	Kultivačné podmienky	Živné médium	Koncentrácia rastových regulátorov ⁶ (mg.l ⁻¹)			Frekvencia kalogenézy (%)	Index kalogenézy	Frekvencia rizogenézy (%)	Index rizogenézy	Priemerná čerstvá hmotnosť kalusu (mg)	
			BAP	2,4-D	NAA						
Stonkové segmenty	tma ¹	MS ³	2	2	0	75	2,75	0	0	70	
		MS	2	0	2	100	4,94	28	0,28	144	
		B5 ⁴	2	2	0	100	4,61	0	0	118	
		B5	2	0	2	25	1,19	0	0	152	
		SH ⁵	2	2	0	70	3,30	0	0	47	
		SH	2	0	2	100	5,00	23	0,23	79	
	FP ²	MS	2	2	0	75	3,31	0	0	166	
		MS	2	0	2	100	5,00	16	0,16	109	
		B5	2	2	0	100	4,93	0	0	107	
		B5	2	0	2	100	5,00	37	0,37	124	
		SH	2	2	0	100	4,75	0	0	79	
		SH	2	0	2	71	3,36	0	0	68	
	Listové segmenty	tma	MS	2	2	0	100	4,23	0	0	36
			MS	2	0	2	100	4,33	33	0,33	125
B5			2	2	0	69	2,46	0	0	82	
B5			2	0	2	25	1,19	0	0	91	
SH			2	2	0	100	4,29	0	0	86	
SH			2	0	2	70	3,15	0	0	303	
FP		MS	2	2	0	41	1,74	0	0	111	
		MS	2	0	2	100	3,43	31	0,44	157	
		B5	2	2	0	75	3,37	3	0,03	59	
		B5	2	0	2	100	4,53	10	0,10	111	
		SH	2	2	0	100	4,57	0	0	104	
		SH	2	0	2	100	4,80	0	0	101	

Legenda: ¹ explantáty kultivované v nepretržitej tme; ² explantáty kultivované v podmienkach fotoperiódy 16 h svetlo/8 h tma; ³ živné médium podľa formulácie Murashige a Skooga (1962); ⁴ živné médium podľa formulácie Gamborga a kol., (1968); ⁵ živné médium podľa formulácie Schenka a Hildebrandta (1972); ⁶ BAP = 6-benzylaminopurín; 2,4-D = kyselina 2,4-dichlórfenoxyoctová; NAA = kyselina α -naftyloctová

V ďalšom experimente sme zisťovali vplyv genotypových rozdielov v schopnosti použitých stonkových a listových segmentov chmeľu obyčajného tvoriť kalusové pletivo v podmienkach tmy a 16 h fotoperiódy. Pri použití stonkových segmentov sme nezaznamenali veľké rozdiely vo frekvenciách kalogenézy jednotlivých genotypov na kultivačných médiách doplnených BAP a 2,4-D alebo NAA. Pri troch odrodách, K-114/24/1, Siřem/15/4 a Lučan/4/3, sme však pozorovali závislosť kalogenézy od použitých rastových regulátorov, čo môže byť spôsobené rozdielnou citlivosťou explantátov genotypov na exogénne pridávané auxíny, tzn. vyššou senzitivitou genotypu K-114/24/1 na 2,4-D a genotypov Siřem/15/4 a Lučan/4/3 na NAA. Jednotlivé genotypy sa často líšili len v intenzite kalogenézy (Obr. 1).

Iná situácia bola pri listových segmentoch, kde okrem toho, že tvorili kalus pomalšie a v nižšej frekvencii ako explantáty stonkových segmentov, boli zaznamenané odrodové rozdiely ako vo frekvencii kalogenézy, tak aj v indexoch kalogenézy. Po 4 týždňoch kultivácie sa frekvencie kalogenézy vyrovnali, pričom však odrodové rozdiely zostávali zachované v intenzite kalogenézy. V týchto experimentoch nebol zaznamenaný významný rozdiel medzi frekvenciami a indexmi kalogenézy študovaných odrôd a explantátov na živných médiách obohatených o 2,4-D alebo NAA, okrem už spomenutých genotypov K-114/24/1, Siřem/15/4 a

Lučan/4/3, tzn. médium obsahujúce auxín NAA je rovnako vhodné na indukciu kalogenézy pri chmeli obyčajnom ako médiá obsahujúce 2,4-D.



Obr. 1: Porovnanie indexov kalogenézy dvoch druhov explantátov chmeľu obyčajného kultivovaných na médiu MS doplnenom 2 mg.l⁻¹ BAP a 2 mg.l⁻¹ 2,4-D v dvoch kultivačných podmienkach, kontinuálnej tme, resp. 16 hod. fotoperióde

Literatúra

- BAGCHI, D. - BAGCHI, M. - STOHS, S. J. - DAS, D. K. - RAY, S. D. - KUSZYNSKI, C. A. - JOSHI, S. S. - PRUESS, H. G.: *Toxicology*, 148, 187, (2000)
- BUCKWOLD, V. E. - WILSON, R. J. H. - NALCA, A. - BEER, B. B. - VOSS, T. G. - TURPIN, J. A. - BUCKHEIT III, R. W. - WEI, J. - WENZEL - MATHERS, M. - WALTON, E. M. - SMITH, R. J. - PALLANSCH, M. - WARD, P. - WELLS, J. - CHUVALA, L. - SLOANE, S. - PAULMAN, R. - RUSSEL, J. - HARTMAN, T. - PTAK, R.: *Antiv Res*, 61, 57, (2004)
- COLLIN, H.A.: *Plant Growth Reg*, 34, 119, (2001)
- GAMBORG, O. L. - MILER, R. A. - OJIMA, K.: *Exp Cell Res*, 50, 151, (1968)
- HUAN, L. V. T. - TAKAMURA, T. - TANAKA, M.: *Plant Sci*, 166, 1443, (2004)
- LIU, Y - GU, X., H. - TANG, J.: *J Am Soc Brew Chem*, 65, 116, (2007)
- MURASHIGE, T. - SKOOG, F.: *Physiol Plantarum*, 15, 473, (1962)
- RAMACHANDRA RAO, S. - RAVISHANKAR, G.A.: *Biotechnol Adv*, 20, 101, (2002)
- SCHENK, R. U. - HILDEBRANDT, A. C.: *Can J Botany*, 50, 199, (1972)
- STEVENS, J.F. - MIRANDA, C. L. - WOLTERS, K. R. - SCHIMERLIK, M. - DEINZER, M. L. - BUHLER, D. R.: *J Agric Food Chem*, 50, 3435, (2002)
- STEVENS, J.F. - PAGE, J. E.: *Phytochemistry*, 65, 1317, (2004)
- VANISREE, M., LEE, C. -Y., LO, S. -F., NALAWADE, S. M., LIN, C. Y., TSAY, H. -S.: *Botanic Bull Acad Sinica*, 45, 1, (2004)

Adresa autorov:

¹Univerzita sv. Cyrila a Metoda, Fakulta prírodných vied, Katedra biotechnológie Námestie J. Herdu 2, 917 01 Trnava; ²SCPV, Výskumný ústav rastlinnej výroby, Odd. poľnohospodárskych biotechnológií, Bratislavská cesta 122, 921 68, Piešťany; *Súčasná adresa: Ústav molekulárnej biológie SAV, Dúbravská cesta 21, 845 51 Bratislava; Korešpondencia: Ing. Ivana Pšenáková (E-mail: ivana.psenakova@ucm.sk)

VLIV NAPADENÍ FUSARIÓZOU KLASU (FHB) NA VÝNOSOVÉ A KVALITATIVNÍ PARAMETRY PŠENICE OZIMÉ EFFECTS OF FUSARIUM HEAD BLIGHT ON YIELD AND QUALITY PARAMETERS OF WINTER WHEAT

Karla ŘEHOŘOVÁ – Ondřej VEŠKRNA – Pavel HORČIČKA – Tibor SEDLÁČEK

Fusarium head blight disease causes severe yield losses and decreases baking and food quality. Development of tolerant varieties is the most effective protection against FHB infection and mycotoxin accumulation. Targeted fungicidal treatment highly influence yield and mycotoxin accumulation, however estimation of the application date is doubtful. Non-targeted fungicidal treatment is not explicit. Grading on the 2,2mm sieve cause reduction of the DON content up to 50%. Further manipulation as milling or baking has not so significant influence and major part of DON proceeds to the bread.

Key words: Fusarium head blight, deoxynivalenol, fungicide, yield, quality

Úvod

Závažnost FHB tkví zejména v akumulaci mykotoxinů, a tím ve faktickém znehodnocení produkce pšenice. Nejrozšířenějšími druhy v Evropě jsou *F. graminearum* a *F. culmorum* (LOGRIECO, BOTTALICO, 2001; MESTERHÁZY, 2003). Práce se zabývá touto problematikou v komplexním pohledu: redukce výnosu, akumulace DON, snížení obsahu DON po čištění a třídění fusariózního zrna a po mletí a pečení chleba. Tyto parametry jsou diskutovány jednak z pohledu náchylných a odolných odrůd a jednak při použití různých fungicidních zásahů.

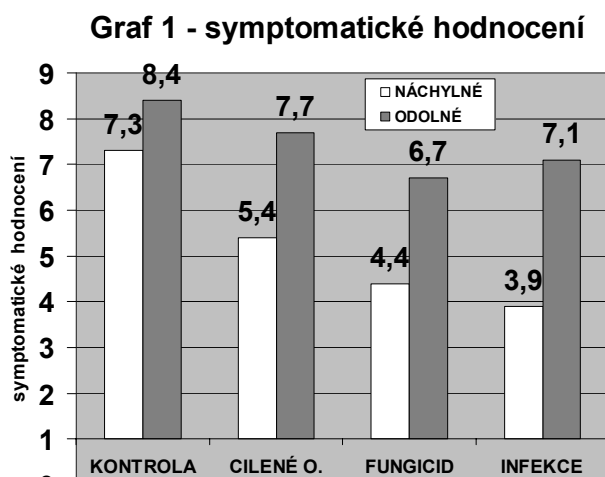
Materiál a metody

Bylo vyseto šest odrůd ozimé pšenice s různým stupněm odolnosti k fusarióze ve třech opakováních a se čtyřmi variantami ošetření fungicidy (K – kontrola, bez ošetření, bez umělé infekce, I – umělá infekce fusáriem, IF - infekce + ošetření fungicidem, IFC – infekce + cílené ošetření fungicidem). U varianty IF byl použit postřik fungicidem Tango Super, u varianty IFC postřik fungicidem Tango Super a cílené ošetření v době začátku kvetení (24 h před infekcí fusariem) přípravkem Caramba.

V laboratoři bylo připraveno inokulum s koncentrací 6-7 spor na mm³. Každá parcelka byla infikována jedním litrem inokula. Infekce proběhla v plném kvetení podle termínu každé testované odrůdy. Symptomatické hodnocení bylo provedeno čtyřikrát v týdenních intervalech od infekce.

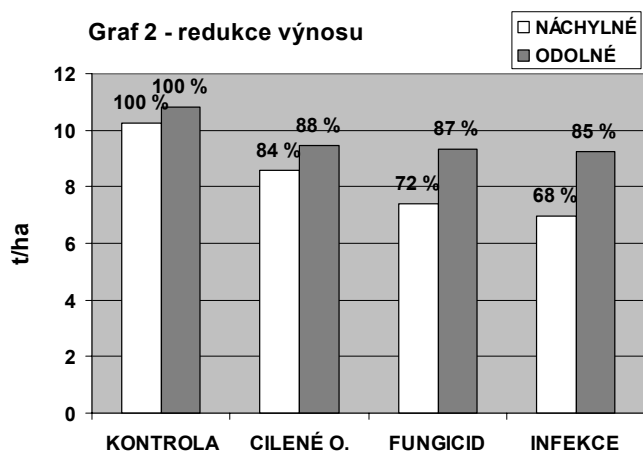
Pokus byl sklizen maloparcelkovou sklízecí mlátičkou, sklizené zrna bylo analyzováno. Stanovení mykotoxinů v zrna, mouce, chlebu a otrubách bylo provedeno imunochemicky (ELISA).

Výsledky a diskuze



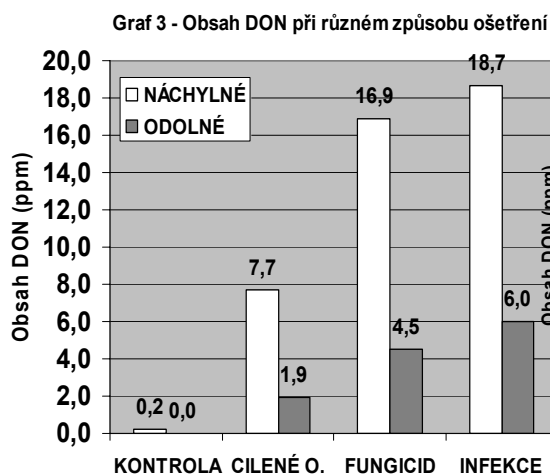
byla redukce výnosu nejnižší u cíleného ošetření (16%), nejvyšší u neošetřené infekce (32%). U odrůd odolných byla výnosová redukce u cíleného ošetření 12%, u infekce 15%. Tyto výsledky jasně poukazují na význam tolerance. Tím spíše, že aktivní ochrana je problematická.

Výsledky jsou průměrem ze tří ročníků (2005–2007). Symptomatické hodnocení bylo provedeno stupnicí 1-9, kde 9 = bez symptomů, 1 = 100% napadení. Z **grafu 1** je patrné, že odolné odrůdy mají při silném infekčním tlaku významně nižší výskyt patogena než odrůdy náchylnější. Mezi variantou infekce a variantou ošetřovanou necíleným fungicidem není významný rozdíl. Naproti tomu cílené ošetření fungicidem vedlo k menšímu výskytu symptomů (o 1 bod lepší hodnocení), výnosově (**graf 2**) se projevilo výrazněji u náchylných odrůd, kde mělo za následek zvýšení výnosu o 16% oproti infikované variantě. Na výnosu odolných odrůd se cílené ošetření projevilo méně, jejich výnos se zvýšil o 3%. U odrůd náchylných

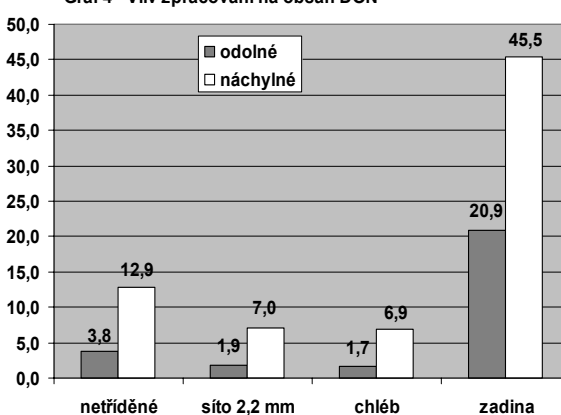


vidět

významně nižší obsah DON u odrůd odolných. Obsah DON lze snížit vyčištěním o 30-50%. 70-80% DON přechází ze zrna do mouky (souhlasí s prací Polišenské, 2005). Kvůli dobré termostabilitě je výskyt DON v chlebu přibližně stejný jako v mouce.



Graf 4 - Vliv zpracování na obsah DON



Závěr

Použití odolné odrůdy je neúčinnější ochranou před infekcí klasových fusarióz a akumulací DON. Cílené ošetření fungicidy má příznivý efekt na redukcí výnosu i akumulaci DON, problematický je ovšem odhad doby aplikace, efekt necíleného ošetření není jednoznačný. Tříděním zrna na sítu 2,2mm se sníží obsah DON až o 50%, další zpracování už nemá významný vliv a většina DON přechází do chleba.

Poděkování

Tato práce vznikla za podpory NAZV QG50076 a GAČR 521/05/H013

Literatura

- LOGRIECO, A. – BOTTALICO, A.: Distribution of toxigenic *Fusarium* species and mycotoxin associated with head blight of wheat in Europe. In: Proceedings of International Conference: Sustainable systems of cereal crop protection against fungal diseases as the way of reduction of toxin occurrence in the food webs. 02.-06.07. 2001, Kromeriz, pp. 83-89
- MESTERHÁZY, A., 2003. Breeding wheat for Fusarium head blight resistance in Europe. In: Leonard, K.J., Bushnell, W.R. (eds), Fusarium Head Blight of Wheat and Barley. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, USA, 312 pp.
- POLIŠENSKÁ, I. – BUREŠOVÁ, I.: Deoxynivalenol v potravinářské pšenici v roce 2004. Úroda 1/2005

Adresa autorův:

K. Řehořová, O. Veškrna, Selgen a.s., ŠS Stupice 24, 25084 Sibirina, P. Horčička, T. Sedláček, Výzkumné centrum SELTON, Stupice 24, 25084 Sibirina

HODNOCENÍ SORTIMENTU SEVEROAMERICKÝCH ASTER (ROD *SYMPHYOTRICHUM*)

CLASSIFICATION OF NORTH AMERICAN ASTERS ASSORTMENT (GENUS *SYMPHYOTRICHUM*)

Jana SEKANINOVÁ

There is a wide range of the North American aster assortment. Utilisation of Aster varieties is more and more often. With regard to quantity of varieties the usability is very wide. All the time new cultivars appear but in some of them there is not the esthetical similarity with the aborigine sorts at all. There is large colours table of the flowers. The plants differ in the high and habitus. It is possible to find dwarf varieties (only few centimetres high) but also high plants (till two metres). Aster variety can be thick- or loose-bushy. There are also other characters for variety determination. On the basis of particular characters, typical for certain species and variety, the descriptor was established. This descriptor will make the orientation among individual genera of Aster easier.

Key words: North American asters, assortment evaluation, descriptor

Úvod

Dříve byly astry zařazovány do jednoho rodu. V 19. století severoameričtí botanici pohled na rod změnili a rozdělili jej na několik samostatných rodů. Prvními rozlišovacími znaky byly morfologické (barva úboru, počet řad paprskovitých květů). Je známo, že XIANG (1994), XIANG and SEMPLE (1996) a SEMPLE et al. (1996) použili chloroplastovou DNA k rekonstrukci fylogeneze severoamerických aster. A právě genetická analýza byla využita k rozlišení jednotlivých rodů, které dříve byly zahrnuty do jednoho.

Rod *Symphyotrichum* je charakterizován chromozómovým číslem 8, 7, 6, 5 a 4. Je to nejrozsáhlejší a nejvariabilnější rod severoamerických aster. Některé druhy pochází z Ameriky, jiné druhy již zdomácněly v Evropě spontánním křížením mezi sebou. Květní úbory jsou sestaveny v latách, zákrovní listeny jsou více či méně kosočtverečného tvaru s tmavou špičkou. Značná rozmanitost existuje v habitu rostlin, ve tvaru listů, velikosti zákrovních listenů a tvaru špičky zákrovních listenů.

Materiál a metody

Hodnocení bylo prováděno na školním pozemku MZLU v Lednici na Moravě v letech 2003, 2004, 2005. Tento pozemek byl během těchto let nehnojený, pouze ošetřovaný jednou do roka herbicidním postřikem RoundUp. Geografické, půdní ani klimatické podmínky neměly na jednotlivé druhy a odrůdy statisticky významný vliv. Porost byl na začátku a na konci sledování v průběhu jednotlivých let ve stejném stavu. Zdravotní stav se nezměnil.

V prvním roce hodnocení byly zvoleny konkrétní znaky, které byly hodnoceny a měřeny i v dalších letech. Tyto znaky byly vybrány na základě studia klasifikátoru UPOV a kritérií hodnocení M. OPATRŇNÉ v letech 1967 – 1973 tak, aby charakterizovaly a určovaly daný druh a odrůdu a naopak, aby je odlišovaly. Na základě těchto znaků byl sestaven popisný deskriptor.

Mezi hodnocené druhy a odrůdy rodu *Symphyotrichum* patří:

01 <i>S. novae-angliae</i> 'Andenken an Alma Pötsche'	11 <i>S. novi-belgii</i> 'Richness'
02 <i>S. novae-angliae</i> 'Andenken an Paul Gerber'	12 <i>S. novi-belgii</i> 'Royal Velvet'
03 <i>S. novae-angliae</i> 'Barrs Pink'	13 <i>S. ericoides</i> 'Rosa Nippon'
04 <i>S. novae-angliae</i> 'Barrs Blue'	14 <i>S. ericoides</i> 'Pink Cloud'
05 <i>S. novae-angliae</i> 'Harrington Pink'	15 <i>S. vimineum</i>
06 <i>S. novae-angliae</i> 'Rubinschatz'	16 <i>S. foliaceum</i>
07 <i>S. novae-angliae</i> 'Abendsonne'	17 <i>S. ontarionis</i>
08 <i>S. novi-belgii</i> 'Antwerpse Perel'	18 <i>S. dumosum</i> 'Pacific Amaranth'
09 <i>S. novi-belgii</i> 'Marie Ballard'	19 <i>S. laeve</i>
10 <i>S. novi-belgii</i> 'Schöne von Dietlikon'	20 <i>S. cordifolium</i>

Popisný deskriptor

Rostlina

Z1 Výška, 1 nízká (< 0,5 [m]), 2 střední (0,51-0,7 [m]), 3 vysoká (> 0,71 [m])

Z2 Délka primárního obrostu 1 krátký (< 0,2 [m]), 2 střední (0,21-0,3 [m]), 3 dlouhý (> 0,31 [m])

Z3 Lokalizace větvení stonku 0 bez větvení, 1 bazální větvení, 2 větvení v dolní 1/3 stonku, 3 větvení v 1/2 stonku, 4 větvení v horní 1/3 stonku, 5 větvení apikální

Z4 Typ odnožování 1 výběžkatá, 2 řídce trsnatá, 3 hustě trsnatá

List

Z5 Tvar 1 střelovitý, 2 srdčitý, 3 kopinatý, 4 čárkovitý, 5 kopist'ovitý

Z6 Odění 0 bez odění, 1 řídké, 2 husté

Z7 Barva 1 světle zelená, 2 zelená, 3 tmavě zelená, 4 šedozeleň, 5 zelenomodrá

Z8 Okraj 1 celokrajný, 2 zubatý, 3 jemně pilovitý, 4 pilovitý, 5 dvakrát pilovitý, 6 vyhlodávaný

Úbor

Z9 Průměr 1 malý (< 0,015 [m]), 2 střední (0,016-0,025 [m]), 3 velký (> 0,026 [m])

Z10 Tvar zákrovních listů 1 čárkovitý, 2 kopinatý

Z11 Postavení zákrovních listů 1 přitisknuté, 2 spodní řada odstávající, 3 v 1/2 listenu odstávající, 4 horní řada odstávající, 5 odstávající

Z12 Počet řad zákrovních listů 1 dvě řady (2), 2 tři řady (3), 3 čtyři řady (4), 4 více řad (5 a více)

Květ

Z13 Počet květů v disku 1 velmi nízký (< 10), 2 nízký (11-40), 3 střední (41-70), 4 vysoký (71-90), 5 velmi vysoký (> 90)

Z14 Počet paprskovitých květů 1 velmi nízký (< 15), 2 nízký (16-40), 3 střední (41-70), 4 vysoký (71-90), 5 velmi vysoký (> 90)

Z15 Tvar paprskovitých květů 1 kopinatý, 2 kopinatý s ostrou špičkou, 3 kopinatý s tupou špičkou, 4 čárkovitý, 5 čárkovitý s tupou špičkou, 6 kopistovitý

Z16 Délka paprskovitých květů 1 krátký (< 0,007 [m]), 2 střední (0,008-0,014 [m]), 3 dlouhý (> 0,015 [m])

Z17 Barva paprskovitých květů 0 bílá, 1 bílo-růžová, 2 bílo-fialová, 3 světle modrá, 4 růžovo-fialová, 5 fialovo-modrá, 6 tmavě růžová, 7 tmavě fialová, 8 tmavě modrá, 9 rudá

Biologické znaky

Z18 Sklon k rozklesání 1 nepoléhá, 2 středně poléhá, 3 poléhá

Z19 Sklon k zasychání listů v době kvetení 1 nezasychají, 2 velmi málo, 3 středně, 4 mnoho, 5 velmi mnoho

Z20 Sklon k zasychání květů v době úplného květu 1 nezasychají, 2 velmi málo, 3 středně, 4 mnoho, 5 velmi mnoho

Z21 Počet květů na 0,05 m dlouhém úseku parakladia 1 nízký (< 5), 2 střední (6-10), 3 vysoký (> 11)

Z22 Rozmístění květů na parakladiu 1 na vrcholku obrostu 2 po celém obrostu, 3 v horní 1/3 obrostu, 4 v 1/2 obrostu

5 ve spodní 1/3 obrostu

Z23 Délka parakladia 1 krátké (< 0,05 [m]), 2 střední (0,08-0,14 [m]), 3 dlouhé (> 0,15 [m])

Z24 Druhotné větvení parakladia

Z25 1 ano, 2 ne

Z26 Zákrov odění 1 lysé, 2 pýřité, 3 vlnatě plstnaté

Z27 Kvetení 1 rané (IX.), 2 střední (IX.-X.), 3 pozdní (X.)

Výsledky a diskuze

Při porovnávání hodnot získaných v roce 2003, 2004 a 2005 na školním pozemku MZLU v Lednici na Moravě s hodnotami získanými M. OPATRNOU v Průhonicích 1967 – 1973 a také s hodnotami uváděnými OBERDORFEREM (1994) a PICTONEM (1999) byly zjištěny určité rozdílnosti. Odlišnosti se projevíly výšce rostliny, průměru a barvě květního úboru, ranosti kvetení a v trsnatosti. Barevná škála hodnocených aster se pohybuje od bílé (*S. vimineum*), přes růžovou (*S. novae-angliae* 'Harrington Pink'), fialovou (*S. novi-belgii* 'Royal Velvet'), modrou (*S. novi-belgii* 'Marie Ballard') až po tmavě červenou (*S. novae-angliae* 'Andenken an Paul Gerber').

Cílem bylo vyhodnotit sortiment aster a vybrat odrůdy, které by našly své uplatnění a použití v mnoha směrech, jak v interiéru (jako řezané květiny), tak zejména v exteriéru při sadovnických úpravách. Na trhu řezaných květin by z hodnocených odrůd našly své uplatnění zejména *S. ericoides*, *S. novi-belgii* 'Royal Ruby' pro jejich trvanlivost (5-7 dní). Uplatnění ve výsadbách zahrad a parků mají odrůdy jak s velkými květy (*S. novae-angliae* 'Abendsonne', *S. novae-angliae* 'Antwerpse Perel', *S. novae-angliae* 'Marie Ballard'), tak také s malými květy (*S. ericoides*) podle místa a účelu využití. Významným znakem pro uplatnění trvalek je zejména výška rostliny. Rod *Symphotrichum* má zástupce jednak mezi vysokými rostlinami *S. novae-angliae* 'Harrington Pink', *S. novae-angliae* 'Barrs Pink', jednak také mezi nízkými *S. novae-angliae* 'Schöne von Dietlikon'.

Závěr

Severoamerické astry se v posledních letech dostávají stále více do podvědomí lidí. Jejich rozmanitost v barvě květů, výšce rostliny, vzrůstnosti, habitu, tvaru listů je velmi bohatá a dobře prakticky použitelná. Lze je poměrně snadno a dobře kombinovat jak barevně, tak i tvarově s jinými rostlinami. Zelení dodávají barevný nádech zejména v podzimním období a tím se stávají velmi zajímavými rostlinami. Cílem práce bylo vyhodnotit zástupce rodu *Symphotrichum* na MZLU v Lednici na základě vytvořeného popisného deskriptoru, který byl sestaven pomocí určujících a zároveň rozlišovacích znaků a vytvořit tak přehled použití jednotlivých druhů a odrůd. Hodnoceno bylo 7 odrůd druhu *S. novae-angliae* (L.)NEESOM, 5 odrůd *S. novi-belgii* (L.)NEESOM, 3 odrůdy *S. ericoides* L. a *S. vimineum*, *S. foliaceum*, *S. ontarionis*, *S. dumosum* 'Pacific Amaranth', *S. laeve*, *S. cordifolium*.

Adresa autora:

Jana SEKANINOVÁ, Ústav zelinářství a květinářství, ZF MZLU v Brně, Valtická 337, Lednice, janasekaninova@centrum.cz

KRYOKONZERVACE VRCHOLŮ CHMELE CRYOPRESERVATION OF HOP TIPS

Petr SVOBODA – Miloš FALTUS

Cryopreservation is a process of plant conservation under ultra - low temperatures of 196 °C under zero in liquid nitrogen. In 2003 the first cryobank in Czech Republic was established in Crop Research Institute in Prague (CRP) for plants multiplied in a vegetative way: potato, hop, garlic, apple tree, pear tree, morella cherry tree, cherry tree, strawberry and grapes. The method for hop cryopreservation combines cold pre - treatment 4 °C, treatment of explants with cryoprotectant C (0.7 M sucrose), following desiccation of shoot tips and ultra - rapid rate of freezing. Variety "Harmonie" had the best regeneration.

Nowadays 32 hop varieties are in cultivation in vitro, eight of them belong to Czech ones. Fifteen hop varieties are conserved in liquid nitrogen and after cryopreservation were obtained 11 varieties of hop.

Key words: cryopreservation, hop, Humulus lupulus L., regeneration, shoot tips

Kryokonzervace je technologie uchování rostlin a jejich částí v ultra nízkých teplotách v kapalném dusíku při teplotě – 196°C. Využívá se pro uchování genofondu vegetativně množených rostlin. Tato metoda přispívá k uchování genetické stability a zamezuje stárnutí. Kryokonzervace je využívána pro uchování genetických zdrojů kulturních a planých forem, ozdravený materiál, u kterého hrozí při množení v ex vitro podmínkách znehodnocení vlivem působení biotických a abiotických stresů. Výchozím materiálem jsou rostliny převedené do kultivace in vitro. Pro šlechtitele se pomocí kryokonzervace uchovává pyl pro křížení. V roce 2003 byla založena první Kryobanka vegetativně množených rostlin v České republice ve VÚRV Praha. V první fázi je její činnost zaměřena na nejdůležitější vegetativně množené plodiny (brambor, chmel, Allium, jablono, hrušeň, jahodník, višň, třešň a vinnou révu).

U chmele byly ověřeny metody enkapsulace – dehydratace, řízeného mrznutí a ultra – rychlého mrznutí. Jako výchozí materiál složí kultury in vitro, které jsou namnoženy na potřebný počet a potom jsou z nich odebrány vrcholové meristémy a provedena kryokonzervace dle vypracovaného protokolu založeného na metodě předkultivace nodálních segmentů, následně desikaci izolovaných vzrostných vrcholů a použití metody ultra – rychlého mrznutí. Nejvyšší regenerace po aplikaci kryoprotokolu bylo dosaženo u odrůdy Harmonie.

V současné době je v kultivaci in vitro uchováno 32 odrůd chmele, z toho 8 českých odrůd a v kapalném dusíku je uloženo 15 odrůd a po kryoprezervaci bylo úspěšně regenerováno 11 odrůd chmele. Cílem kryobanky chmele je kryokonzervovat genetické zdroje chmele českého původu a následně významné cizí odrůdy.

Poděkování:

Tato práce vznikla při řešení projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum QF 3039: Založení kryobanky pro konzervaci vegetativních vrcholů bramboru a chmele.

Adresy autorov:

Svoboda Petr, Chmelařský institut s.r.o., Žatec, p.svoboda@telecom.cz

Faltus Miloš, Výzkumný ústav rostlinné výroby v. v. i., Praha Ruzyně, faltus@vurv.cz

NEŠPECIFICKÁ REZISTENCIA VOČI MÚČNATKE TRÁVOVEJ (*BLUMERIA GRAMINIS* F.SP. TRITICI) U SLOVENSKÝCH ODRÔD PŠENICE LETNEJ

NON-SPECIFIC RESISTANCE OF SLOVAK VARIETIES OF COMMON WHEAT AGAINST WHEAT POWDERY MILDEW (*BLUMERIA GRAMINIS* F.SP. TRITICI)

Miroslav ŠVEC – Lenka MÁTELOVÁ – Peter DEGMA

We analysed nine Slovak varieties of common wheat for non-specific resistance against powdery mildew in the laboratory conditions. The analyse was based on estimation of index of reduction of pathogen infectious efficiency on the tertiary leaves compared to that on primary leaves. Slovak wheat variety Venistar showed high level of non-specific resistance at the early ontogenetic stages which were at the level of the most resistant check variety Massey. Less resistant were Armelis, Vanda, Malyska and Veldava varieties. Our results indicate, that there is not possible to estimate if the more aggressive isolates are more suitable for differentiation of varieties than those less aggressive isolates.

Key words: wheat, non-specific resistance, powdery mildew, Slovak varieties

Úvod

Nešpecifickú rezistenciu, alebo kvantitatívnu rezistenciu, ktorá nie je podmienená major génmi môžeme testovať viacerými spôsobmi. Najčastejším spôsobom je sledovanie epidemiologických parametrov (incidencia ochorenia, AUDPC) v poľných podmienkach (PARLEVLIET, 1979). V prípade potreby vyhodnotenia veľkého počtu genotypov, napr. testovania rozsiahleho súboru genetických zdrojov, je vhodné využiť testovanie v laboratórnych podmienkach pomocou niektorého z rady parametrov, ako je napríklad infekčná účinnosť patogéna na listoch hostiteľa v skorých ontogenetických štádiách (HYDE, 1976). Naším cieľom bolo zistiť stupeň nešpecifickej rezistencie vybraných slovenských odrôd pšenice letnej v laboratórnych podmienkach. Takáto charakterizácia môže byť podkladom pre následné porovnávanie takto zistenej rezistencie s poľnou rezistenciou a na odhadnutie pravdepodobnosti s akou môžeme výsledky získané v laboratórnych podmienkach extrapolovať na poľnú rezistenciu.

Materiál a metódy

V rámci našich experimentov sme hodnotili nešpecifickú rezistenciu deviatich odrôd pšenice letnej, ktoré boli vyšľachtené na slovenských šľachtiteľských staniách. Boli to odrody: Vanda, Pavlína, Markola, Malyska, Veldava, Axis, Arida, Armelis a Venistar. K nim sme ako náchylnú odrodu použili čínsku pšenicu Ai-bian1 a ako rezistentné odrody sme použili Komfort, Knox a Massey. Listové segmenty o dĺžke 12 mm v štádiu primárnych a terciárnych listov sme jednotlivo inokulovali sadou vysoko agresívnych a menej agresívnych izolátov, ktoré sme predtým selektovali v našom laboratóriu na rezistentnom genotype pšenice letnej. Výber izolátov sme uskutočnili aj na základe virulencie analýzy. Tieto izoláty museli byť virulentné voči najčastejšie sa vyskytujúcim génom špecifickej rezistencie v európskych genotypoch pšenice letnej: *Pm2, Pm4b, pm5, Pm8, Pm9 a Pm17*. Po 48 hodín trvajúcej kultivácii sme z primárnych a terciárnych listov pripravili preparáty, kde sme na vizualizáciu štruktúr patogéna použili farbiacu procedúru s modifikovaným postupom podľa HYDEHO a COLHOUNA (1975). U každého segmentu sme vyhodnocovali minimálne 200 infekčných jednotiek, ktoré sa nachádzali v ontogenetickom štádiu sekundárnych hýf (ESH), alebo apresórií (APP). Ich vzájomný pomer nám poskytol údaje o infekčnej účinnosti patogéna na primárnom a terciárnom liste. Údaje o infekčnej účinnosti na 1. a 3. liste boli podkladom pre výpočet indexu redukcie infekčnej účinnosti patogéna. Predpokladali sme, že čím je väčšia redukcia infekčnej účinnosti na terciárnom liste v porovnaní k primárnemu listu, tým je analyzovaná odroda rezistentnejšia.

Výsledky a diskusia

Hodnoty indexu rezistencie, na základe ktorého môžeme hodnotiť stupeň nešpecifickej rezistencie analyzovaného súboru odrôd, sú uvedené v tabuľke 1. Z uvedených údajov vyplýva, že k najväčšej redukcii infekčnej účinnosti na treťom liste v porovnaní s prvým listom došlo pri odrode Massey. Hodnota 33,5 % znamená, že infekčná účinnosť na terciárnom liste bola v porovnaní s prvým listom zredukovaná až o 66,5 %, t.j. zo 100 % na 33,5 % (predpokladali sme, že vypočítaná hodnota infekčnej účinnosti na 1. liste = 100 %). Odrodu Massey môžeme teda na základe parametra indexu redukcie infekčnej účinnosti považovať spomedzi súboru analyzovaných odrôd za odrodu s najvyššou nešpecifickou rezistenciou. Zo slovenských odrôd najnižšiu hodnotu indexu redukcie, t.j. najvyššiu nešpecifickú rezistenciu vykazovala odroda Venistar. O niečo nižším stupňom nešpecifickej rezistencie sa vyznačujú odrody Armelis, Vanda, Malyska a Veldava. Podobnú úroveň nešpecifickej rezistencie ako má náchylná odroda Ai-bian1, vykazovali aj odrody Axis, Markola a Arida. Spomedzi analyzovaných slovenských odrôd najnižšiu nešpecifickú rezistenciu hodnotenú v laboratórnych podmienkach má odroda Pavlína. Zhluková analýza s použitím metódy k-priemerov nám celý súbor odrôd rozdelila do štyroch zhlukov. V 1. zhluku boli najrezistentnejšie odrody Massey a Venistar, v 2. zhluku relatívne rezistentné odrody Vanda, Malyska a Veldava, v 3. zhluku náchylné genotypy Armelis, Axis, Markola a Arida a vo štvrtom zhluku najnáchylnejšie odrody Pavla, Knox a Komfort. Prekvapujúce je

zaradenie posledných dvoch odrôd do zhluku najnáchylnejších odrôd, pretože najmä odroda Knox sa dosiaľ používala ako štandard pre adultívnu rezistenciu (GRIFFEY, 1994). Rezistenciu, pre ktorú je typický pomalý nástup choroby, bez epidemických symptómov označujeme ako „slow mildewing“ (MINGEOT, 2002) a práve rezistencia v odrode Knox by takouto mala byť. Je však dosť pravdepodobné, že tento typ rezistencie sa u spomínanej odrody uplatňuje až v neskorších ontogenetických štádiách. Zaujímavé je aj to, že odroda Massey, ktorá je potomkom odrody Knox sa vyznačuje vysokou kvantitatívnou rezistenciou už v skorých ontogenetických štádiách.

Tabuľka 1: Hodnoty indexu redukcie infekčnej účinnosti pre jednotlivé odrody (v %). Hodnota predstavuje priemer za všetky izoláty

Odroda	Index redukcie (%)	Odroda	Index redukcie (%)
Ai-bian I	62,5	Malyska	53,4
Massey	33,5	Veldava	52,7
Komfort	62,4	Axis	61,8
Knox	66,4	Arida	57,4
Vanda	50,2	Armelis	49,0
Pavĺina	69,1	Venistar	40,7
Markola	59,1		

Tabuľka 2 nám udáva preukaznosť rozdielov medzi analyzovanými odrodami vypočítanú na základe indexu rezistencie pre jednotlivé izoláty. Z nej vyplýva, že štatisticky významné rozdiely medzi analyzovanými odrodami v redukcii infekčnej účinnosti sa vyskytli predovšetkým po inokulácii izolátmi SK-SV 4, SK-SV 11 a SK-JZ 35. Nedá sa však jednoznačne zaradiť tieto izoláty buď medzi agresívne, alebo menej agresívne. Najviac redukoval infekčnú účinnosť izolát SK-SV 4, potom SK-SV 11 a najmenej izolát SK-JZ 35.

Tabuľka 2: Analýza rozptylu pre jednotlivé izoláty (SK)

Zdroj premenl.	Medziskup. var.	St.volnosti	Vnútroskup. var.	St.volnosti	F	P
SK-SV 4	7548,8	3	1738,1	9	13,0	0,0012
SK-JZ 39	1330,9	3	2840,4	9	1,4	0,3035
SK-JZ 45	1638,1	3	1775,8	9	2,7	0,1032
SK-SV 11	4482,7	3	885,3	9	15,7	0,0006
SK-JZ 6	1804,6	3	2029,2	9	2,6	0,1109
SK-JZ 35	6798,9	3	1374,2	9	14,8	0,0007
Sk-JZ 33	511,0	3	2874,8	9	0,5	0,6708

Záver

Analýzou nešpecifickej rezistencie voči múčnatke trávovej v laboratórnych podmienkach založenej na stanovení indexu redukcie infekčnej účinnosti patogéna u deviatich slovenských odrôd pšenice letnej sme zistili, že vysokým stupňom nešpecifickej rezistencie porovnateľným s kontrolnou odrodou Massey, sa vyznačuje predovšetkým odroda Venistar. O niečo nižším stupňom nešpecifickej rezistencie sa vyznačujú odrody Armelis, Vanda, Malyska a Veldava. Spomedzi analyzovaných slovenských odrôd najnižšiu nešpecifickú rezistenciu hodnotenú v laboratórnych podmienkach má odroda Pavĺina. Nedá sa jednoznačne špecifikovať, či na diferenciáciu nešpecifickej rezistencie sú vhodnejšie agresívne, alebo menej agresívne izoláty.

Literatúra

1. Griffey, C.A. (1994). Crop. Sci. 34:641-646.
2. Parlevliet, J.E. (1979). Annu. Rev. Phytopathol. 17: 203-222.
3. Hyde, P.M. (1976). Phytopathol. Z. 85: 289-297.
4. Hyde, P.M. a Colhoun, J. (1975). Phytopathol. Z. 82: 185-206.
5. Mingeot, D. et al.(2002). Plant Breeding 121: 133-140.

Podakovanie

Táto práca bola podporovaná grantom agentúry VEGA 1/2423/05 a čiastočne aj Agentúrou na podporu vedy a techniky na základe Zmluvy č.APVT-27-028704.

Adresy autorov:

Miroslav Švec, Katedra genetiky, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská dolina B1, 842 15 Bratislava,
Peter Degma, Katedra zoologie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská dolina B1, 842 15 Bratislava,
Lenka Mátelová, Ústav experimentálnej onkológie SAV, Vlárka 7, 833 91 Bratislava

ŠTÚDIUM VPLYVU HLAVNÝCH REDOXNÝCH ČINITELŔOV NA MORFOGÉNNE PROCESY ĽANU SIATEHO

THE EFFECT OF KEY REDOX COMPOUNDS ON FLAX MORPHOGENESIS

Tomáš TAKÁČ – Anna PREŤOVÁ

The free oxygen radicals (FOR) and a complex set of their metabolizing reactions are main components of REDOX REGULATION. Redox homeostasis is governed by the presence of large pools of antioxidants (mainly ascorbate and glutathione), that absorb and buffer reductants and oxidants (Foyer & Noctor, 2005). Any stimulus that perturbs cellular redox balance may serve as an inducer for the set of defense or development-related genes (Pastori et al., 2003). The mechanisms, how the stress modifies developmental processes are not fully understood. Our aim is to use biochemical approaches to study this relationship. We influenced the flax morphogenesis by different redox compounds (hydrogen peroxide and glutathione) in the presence of two different concentrations of NAA. The externally added hydrogen peroxide and reduced glutathione significantly stimulated the root induction from flax hypocotyl explants. We found, that the number of roots reached its maximum value after the treatment with 50 μM of external hydrogen peroxide. Higher concentrations of hydrogen peroxide ($>50 \mu\text{M}$) substantially inhibited the root formation. Moreover, the exogenous addition of H_2O_2 to media significantly influenced the isozyme pattern of superoxide dismutase and peroxidases in the explants. However, the stimulation of root induction by external addition of redox compounds was strongly dependent on auxin level in the media. In the presence of higher NAA levels in media (1mg.l^{-1}) even higher hydrogen peroxide concentrations increased the number of induced roots. Our results show, that FOR and also antioxidant defence play a crucial role in the regulation of root induction from flax hypocotyl segments. We showed, that this regulation is highly dependent on exogenous auxin levels in media.

Keywords: redox regulation, oxidative stress, root growth, flax

Úvod

Reaktívne kyslíkové radikály (napr. superoxid, peroxid vodíka) a komplex ich metabolizujúcich reakcií sú hlavnými komponentami tzv. REDOX REGULÁCIE. Redoxná homeostáza je riadená prítomnosťou antioxidantov (hlavne askorbátu a glutatiónu, ale aj antioxidantných enzýmov), ktoré absorbujú a spracovávajú reductanty a oxidanty (FOYER a NOCTOR, 2005). Každý stimul, ktorý vyvoláva bunkovú redox nerovnováhu môže pôsobiť ako induktor obranných, ale aj vývinových génov (PASTORI et al., 2003). Cieľom príspevku je bližšie charakterizovať funkciu redoxných činiteľov počas morfo genetických procesov ľanu siateho. Pre tento účel sme tvorbu koreňov z hypokotylov ľanu siateho ovplyvňovali peroxidom vodíka a redukovaným glutatiónom (redukčný kofaktor niektorých antioxidantných enzýmov) v prítomnosti dvoch rôznych koncentrácií NAA. Takto ovplyvnené explantáty sme analyzovali pomocou biochemických metód.

Materiál a metódy

In vitro kultivácia:

Hypokotylové segmenty zo 6 dňových klíčencov ľanu siateho boli 2 dni kultivované v tekutom MS médiu s prídavkom 0,50 a 100 μM peroxidom vodíka, a 0 a 0,2 mM redukovaným glutatiónom v prítomnosti 2 rôznych koncentrácií NAA (0,5 mg.l^{-1} a 1 mg.l^{-1}). Časť segmentov bola analyzovaná biochemicky, pričom druhú časť sme ďalej kultivovali 5 dní na bezhormónovom MS médiu pre štúdium a kvantifikáciu morfo génnych procesov.

Biochemické analýzy:

Vzorky pre biochemické analýzy sa odoberali pred a po 2 dvoch dňoch kultivácie hypokotylov na tekutom MS médiu. Extrakt pre analýzu izozýmového spektra antioxidantných enzýmov superoxid dismutázy (SOD) a peroxidáz sme pripravili pomocou 0,1 M Na- fosfátového pufru (pH 7,5) s obsahom 1 mM EDTA. Extrakt sme centrifugovali 20 minút pri 15000 ot./min. teplote 4°C. Supernatant sa ďalej prečistil na ultracentrifugačných kolónach MICROCON-10. Izozýmy SOD a peroxidáz sme separovali pomocou natívnej polyakrylamidovej elektroforézy v 12 % polyakrylamidových géloch a vizualizovali pomocou špecifických substrátov.

Výsledky a diskusia

Exogénne aplikovaný peroxid vodíka a redukovaný glutatión významne ovplyvnili rast koreňov z hypokotylových segmentov ľanu. Ich vplyv sa prejavil už po 2 dňoch kultivácie segmentov. Exogénne aplikovaný peroxid vodíka v médiu s 0,5 mg.l^{-1} NAA zvýšil indukciu tvorby koreňov v porovnaní s kontrolou 1,58 násobne, pričom v médiu s 1 mg.l^{-1} NAA 2,8 násobne. Ukázalo sa však, že pozitívny vplyv peroxidu vodíka na tvorbu koreňov je limitovaný jeho koncentráciou v médiu. V médiu s 0,5 mg.l^{-1} NAA koncentrácia peroxidu vodíka vyššia ako 50 μM tvorbu koreňov inhibovala. Zistili sme, že pri vyšších hladinách NAA v médiu je tvorba koreňov stimulovaná aj vyššími koncentráciami peroxidu vodíka v médiu. Peroxid vodíka môže teda pri nižších koncentráciách zosilniť účinok exogénneho auxínu a tým zvyšuje organogénnu kapacitu hypokotylových segmentov ľanu. Inhibičný vplyv vyšších koncentrácií peroxidu vodíka sa prejavil aj na izozýmovom zložení skúmaných antioxidantných enzýmov. Zistili sme, že pri vyšších koncentráciách peroxidu vodíka došlo k inhibícii izozýmu SOD s R_m 0,2, resp. peroxidázového izozýmu s

Rm 0,22. To naznačuje dôležitú úlohu antioxidantných enzýmov v redoxnej regulácii vývinových procesov ľanu.

Záver

Výsledky poukazujú na dôležitú úlohu redox regulácie počas morfogénnych procesov ľanu siateho. Významnú úlohu zohrávajú nielen reaktívne kyslíkové radikály, ale aj obranné mechanizmy rastlín voči oxidačnému stresu. Ukazuje sa, že vplyv týchto kľúčových komponentov redox regulácie je však významne závislý na hladine auxínov v médiu.

Literatúra

1. FOYER, CH. – NOCTOR, G. Redox Homeostasis and Antioxidant Signaling: A metabolic Interface between Stress Perception and Physiological Responses. In: *The Plant Cell*, 17, 2005, 1866-1875
2. PASTERNAK, T. – POTTERS, G. – CAUBERGS, R. – JANSEN, M.A.K. Complementary interactions between oxidative stress and auxins control plant growth responses at plant, organ and cellular level. In: *Journal of Experimental Botany*, 56, 2005, 1991-2001

Práca bola podporená grantovou agentúrou APVV v rámci projektu LPP-0197-06.

Adresa autora:

Tomáš Takáč, Ústav genetiky a biotechnológií rastlín SAV, P.O.Box 39A, Akademická 2, 950 07 Nitra, email: tomas.takac@savba.sk
Anna Preťová, Ústav genetiky a biotechnológií rastlín SAV, P.O.Box 39A, Akademická 2, 950 07 Nitra, email: anna.preťová@savba.sk

MEZIDRUHOVÉ HYBRIDY $2n=20$ A $2n=24$ SVĚTLICE (*CARTHAMUS L.*) SAFFLOWER (*CARTHAMUS*) $2n=20$ AND $2n=24$ INTERSECTIONAL HYBRIDS

Jiří UHER

Yellow and white-flowered hybrids were obtained by hybridization of orange-flowered and white-flowered varieties of Carthamus tinctorius L. ($2n=24$) with a pale lilac-flowered Carthamus anatolicus Boiss. ($2n=20$). With the exception of flower colour, the hybrids were more similar to C. anatolicus, showing a strong spininess and tomentose clothing, regardless to mother component choice. Pollen was universally white and sterile in all hybrids, and a total abortion of immature achenes has recorded.

Key words: Carthamus tinctorius L., C. anatolicus Boiss., C. dentatus Vahl., crossing, morphology, heritability.

Úvod

Jak vyplývá z prací izraelských, iránských a amerických autorů, křížení vybraných taxonů z různých sekcí rodu *Carthamus* může být relativně úspěšné, hybridy však produkují pyl s velice nízkou klíčivostí a zpravidla zůstávají neplodné. Díky zpětnému křížení takových hybridů byly však již získány také klíčivé nažky a v dalších generacích bylo zaznamenáno i zvýšení vitality pylu. Kulturní světlice (*Carthamus tinctorius* L.) se zdá být při křížení s druhy jiných sekcí kompatibilnější než ostatní druhy typové $2n=24$ sekce. Zatímco u hybridů *C. tinctorius* L. s $2n=20$ taxony *C. tenuis* Bornm. a *C. glaucus* M.Bieb. bylo při meiose zjištěno v průměru 6.59 a 5.39 bivalentů pro buňku, jen 2.50 a 2.21 bivalentů bylo zaznamenáno u hybridů *C. tinctorius* L. s $2n=24$ druhy *C. oxyacanthus* M.Bieb. a *C. palaestinus* Eig. (Ashri & Knowles 1960). Vyšší počet bivalentů byl pozorován také u hybridů *C. tinctorius* L. s $2n=44$ *C. lanatus* L. a s $2n=22$ *C. divaricatus* Bég. & Vacc. (ESTILAI, KNOWLES, 1976). U obou hybridů kulturní světlice s $2n=20$ taxony docházelo však k totální aborci nedozrálých prašníků.

Kulturní světlice kvete v bohaté paletě žlutých, oranžových a rumělkových odstínů, známy jsou i bělokvěté odrůdy. Žlutě zbarvenými kvítky jsou charakteristické také ostatní druhy typové sekce. Šedivý odstín známý u planých druhů sekcí *Lepidopappus* a *Odontagnathius* mohou proto představovat vítané zpestření sortimentu nabízeného pro okrasné účely. Odhlédnuvše od obecně vysoké dědivosti nežádoucích znaků (silná ostnitost, výrazné prodloužení ontogenetického vývinu) bylo proto přistoupeno k pokusům s křížením *C. tinctorius* L. s dalšími $2n=20$ druhy, jakými jsou *C. anatolicus* Boiss. nebo *C. dentatus* Vahl.

Materiál a metody

S přihlédnutím k pomalejšímu ontogenetickému vývoji planých taxonů byly nažky $2n=20$ druhů *C. anatolicus* Boiss. a *C. dentatus* Vahl. (obě z IPK Gatersleben) vysévány v osmém kalendářním týdnu do 40 mm multiplat v chladném skleníku. Dvě z raných odrůd světlice - bílá 'Cremewit' (Hammer, Zwijndrecht) a oranžová 'Kinko' (JuliWa, Heidelberg) spolu s pozdním, rumělkově kvetoucím kultivarem 'Feuerschopf' (Benary, Hann.Münden) byly ke konci 16. týdne vysety přímo a s nimi byly na parcelách vysazovány předpěstované rostliny obou $2n=20$ druhů sekcí *Lepidopappus* a *Odontagnathius*. Od 30. týdne kvetly oba $2n=20$ taxony i obě rané odrůdy světlice a bylo přistoupeno ke sprašování. Pozdní 'Feuerschopf' byla pylem $2n=20$ taxonů ošetřena o dva týdny později.

Protože světlice, jako většina složnokvětých, vykazuje při prorůstání čnělky trubkou srostlých prašníků sklony k samosprašení, předcházela vlastnímu sprašování kastrace kvítků modifikovanou CLAASENOVOU (1950) metodou. Vnitřní listeny zákrovu byly vytrhány do hloubky umožňující odstranění části korunní trubky, uvolňující přístup k sloupku tyčinek. Další postup byl proti původním metodickým instrukcím zjednodušen: v úboru byly ponechány i květy ke kastraci nezpůsobilé a kastrované kvítky nebyly odřezávány, nýbrž po smáčknutí květní trubky pod místem srůstu s tyčinkami odtrženy s celým prašníkovým sloupkem. Následujícího rána byly kastrované květy sprašeny pylem jednoho z obou $2n=24$ taxonů a úbory byly převázány mikrotenovými sáčky.

Výsledky a diskuse

Nažky sbírané z ošetřených úborů, ať už z květů kastrovaných nebo nedotčených, byly vysety v dubnu následujícího roku. Krátce po větvení stonků byly ve výsevech všech odrůd sprašovaných pylem *C. anatolicus* Boiss. rozpoznány hybridy, které nezávisle na morfologii pro křížení zvolených matečných komponent vyvíjely široce kopinaté, dlouze zahrocené, ostnitě a řídky plstnaté zákrovní listeny s abaxiálně vystupující nervaturou. Dominanci kopinatých braktejí nad obvejčitými zmiňuje HANELT (1961), předpokládající pro tento znak interakce s geny kontrolujícími ostnitost, a v křížení $2n=24$ taxonů popisují dominanci ostnitosti ASHRI & EFRON (1960), vyvozující kontrolu jediným major genem o dvou allelách. Podobně i laločnatost listů se zdá být kontrolována major genem s alelou dominantní pro tento znak (ASHRI, EFRON, 1964; RAMACHANDRAM, GOUD, 1982), získané hybridy nicméně vyvíjely zubatě vyřezávané listy jen v horních partiích stonku; listy bazální, jakkoli jsou hluboce laločnaté u všech taxonů sekce *Lepidopappus*, zůstávaly téměř celokrajné a bez odění. Hybridy nevykazovaly ani sklony k přetrvávání listové růžice a v prvních týd-

nech po vzejítí byly od *C. tinctorius* L. sotva rozpoznatelné. Žádné hybridy nebyly zaznamenány ve výsevech nažek získaných z křížení s *C. dentatus* Vahl.

Barva květů u získaných hybridů odpovídá pozorováním indických autorů (NARKHEDE, DEOKAR, 1986), vyvozujiících dominanci genu pro bílé květy nad ostatními barvami s výjimkou genu kontrolujícího odstíny žluté. K podobným závěrům dospěli RANGUNATHAM & DUTT (1986), a IMRIE & KNOWLES (1970) pozorovali dominanci žlutých květů u $2n=24$ taxonů typové sekce. U kulturní světlice potvrdili dominanci žlutých květů nad bílými GADEKAR & JAMBHALE (2002). Genové kombinace odpovědné za světle purpurové odstíny v sekci *Lepidopappus* nebyly publikovány, žluté květy hybridů s oranžově kvetoucími odrůdami kulturní světlice nicméně zmíněným hypotézám neodporují a u hybridů s bíle kvetoucí odrůdou zůstávaly květy rovněž bílé, gradující k růžovému zabarvení při zavádání. Bílý pyl získaných hybridů odpovídá závěrům izraelských autorů (ASHRI, 1974) o dominanci bílého pylu nad žlutým a nezdá se být v rozporu s hypotézou o monogenické kontrole tohoto znaku třemi alelami (KHIDIR, 1970).

Předběžná sledování vitality pylu (1.8% zbarvených zrn v tetrazoliovém testu) byla v souladu se skutečností, že žádný z hybridů nepřinesl klíčivá semena. Ojedinele vyvíjené nažky vyvíjely chmýr typický pro druhu sekce *Lepidopappus*, bez výjimky však abortovaly. Sterilita mezisekčních hybridů bývá obecně zmiňována; s přihlédnutím k nejbližšímu příbuzenstvu na křížení zúčastněných druhů nepozorovali ASHRI & KNOWLES (1960) klíčivý pyl u hybridů *C. tinctorius* L. s *C. glaucus* M.Bieb., zatímco ESTILAI (1977) zaznamenal velmi nízkou klíčivost pylu u hybridů kulturní světlice s *C. alexandrinus* Asch.

Závěr

Heritabilita znaků získaných hybridů neodporuje dosud postaveným hypotézám a potvrzuje závěry recentních autorů o dědičnosti barvy květů, ostnitosti a morfologie zákrovních listenů. Pro květinářskou praxi bude ovšem vzdálená hybridizace sotva významnějším přínosem: odhlédnuvše od vysokého stupně sterility zůstává diskutabilní i okrasná hodnota hybridů. Purpurové odstíny květů (které ostatně ani nativní druhy při sušení dlouho nepodržují) u hybridů zaznamenány nebyly, bez výjimky byla ale děděna silná ostnitost, překážející širšímu uplatnění přinejmenším v produkci řezaných květů.

Výzkum byl podporován projekty MzeČR E - 97/01 - 3160 - 0200 a MSM 435100002 MŠMT ČR.

Literatura

1. ASHRI, A. (1974). Natural interspecific hybridization between cultivated safflower (*Carthamus tinctorius*) and the wild *Carthamus tenuis*. *Euphytica*, 23: 385-386.
2. ASHRI, A. - EFRON Y. (1964). Inheritance studies with fertile interspecific hybrids of three *Carthamus* L. species. *Crop Science*, 4: 510-514.
3. ASHRI, A. - KNOWLES P.F. (1960). Cytogenetics of safflower (*Carthamus* L.) species and their hybrids. *Agronomy Journal*, 52: 11-17.
4. CLAASEN, C.E. (1950). Natural and controlled crossing in safflower, *Carthamus tinctorius* L. *Agronomy Journal* 42: 381-384.
5. DESMUKH, A.K. - RANGA-RAO, V. (1991). A new and efficient method to achieve mass hybridization of safflower without emasculation: a re-appraisal of currently followed emasculation techniques. *Proceedings of the 2nd International Safflower Conference*, 156-171, Hyderabad 1989.
6. ESTILAI, A. (1977). Interspecific hybrids inter *Carthamus tinctorius* and *Carthamus alexandrinus*. *Crop Science*, 17: 800-802.
7. ESTILAI, A. - KNOWLES, P.F. (1976). Cytogenetic studies of *Carthamus divaricatus* with eleven pairs of chromosomes and its relationship to other *Carthamus* species (Compositae). *American Journal of Botany*, 63: 771-782.
8. GADEKAR, D.A. - JAMBHALE, N.D. (2002). Inheritance of four qualitative characters in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Sesame and Safflower Newsletter* 17: 79-80
9. HANELT, P. (1961). Zur Kenntniss von *Carthamus tinctorius* L. *Kulturpflanze*, 9: 114-115. Akademie Verlag, Berlin.
10. IMRIE, B.C. - KNOWLES, P.F. (1970). Inheritance studies in interspecific hybrids between *Carthamus flavescens* and *Carthamus tinctorius*. *Crop Science*, 10: 349-352.
11. KHIDIR, M.O. (1970). A note on the inheritance of pollen colour in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 12: 360-361.
12. KHIDIR, M.O. - KNOWLES, P.F. (1970). Cytogenetic studies of *Carthamus* species (Compositae) with 32 pairs of chromosomes. (2.) Intersectional hybridization. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 12: 90-91.
13. NARKHEDE, B.N. - DEOKAR, A.B. (1986). Inheritance of corolla colour in safflower. *Journal of Maharashtra Agricultural University*, 11: 278-281.
14. RANGUNATHAM, G. - K. V. L. N. DUTT. (1984). Outcrossing studies in safflower. *Journal of Oilseeds Research*, 3: 132-134.
15. UHER, J. - KOBZA, F. (2004): A further contribution to distant Safflower hybridisation. *Sesame and Safflower Newsletter* 19: 72-76.

Adresa autora:

Dr.Ing. Jiří Uher, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, ZF, 69144 Lednice na Moravě, ČR

CAN ORGANIC POLLUTANTS INFLUENCE QUANTITY AND QUALITY OF YIELD OF CULTIVATED PLANTS? MOHOU ORGANICKÉ POLUTANTY OVLIVNIT KVANTITU I KVALITU VÝNOSU KULTURNÍCH PLODIN?

Lucie VÁŇOVÁ – Marie KUMMEROVÁ – Marek KLEMŠ – Helena FIŠEROVÁ – Štěpán ZEZULKA

The effect of increasing concentration (0.1, 1 and 5 mg/L) of fluoranthene (FLT) on the growth, net photosynthesis rate, the content of abscisic acid (ABA) and FLT was investigated. The obtained results demonstrated that the concentration 0.1 mg/L FLT significantly stimulated and concentration 1 and 5 mg/L FLT significantly inhibited the growth of pea plants. When experimental plants were exposed to FLT 5 mg/L, the net photosynthesis rate decreased. The fluoranthene content in shoot of pea plants and the content of ABA increased with increasing FLT concentration in the environment.
Keywords: fluoranthene; photosynthesis; ABA; pea plants; in vitro

Introduction

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) constitute an important group of micro-pollutants, which can be found in air, soil, water, vegetation, ice and sediments. Many PAHs and their derivatives, especially epoxides, are highly toxic, mutagenic and/or carcinogenic to microorganisms as well as to higher living systems including humans [1]. The amount of PAHs deposited in soils is steadily increasing, because the rate of their production by power stations, industry and traffic is higher than the rates of decomposition. Intensive study of the uptake of organic xenobiotics by plants is thus of fundamental importance for evaluating their role in the whole food chain (bioaccumulation, transformation, toxicity) [2]. The abilities of the plant to take up, translocate, metabolize and accumulate PAHs are determinant factors for phytotoxicity of these compounds, which affect several physiological and biochemical processes, taking part in the biomass production, quantitatively and qualitatively. Plants growing in soil can accept PAHs in several ways. The rate of uptake is affected by a number of factors (concentration and physicochemical properties of the compound, soil type, content of organic soil mass, pH, humidity, temperature, plant species etc.) [3]. PAHs affect all stages of growth from germination to reproduction.

PAHs as lipophilic organic substances and products of their transformation can affect structures and functions at cellular and subcellular levels [4]. Photosynthesis is membrane-bound process and its inhibition is often a key mechanism of the toxicity of pollutants in plants, and the modification of photosynthetic activity is often used as a “bioindicator” of environmental contamination. Also changes in phytohormone levels controlled by the respective hormone systems are essential steps in acclimation of the plant to a stress [5]. The increase or decrease in concentration of a hormone is achieved by changes in the levels of gene expression leading to synthesis of the enzymes involved in its biosynthesis, or by regulation the enzymes that degrade or deactivate the compound. These changes, caused by environmental factors, could be also used for the early indication of stress. At the level of growth regulators the response of plants to stress induced by xenobiotics can be marked by means of a higher level of endogenous abscisic acid (ABA) production. A temporary increase in the content of ABA under various stress situations or increased ABA content followed by its accumulation in the tissues has been described, but not for organic compounds, e.g. PAHs.

The objective of the present study was to evaluate the effect of fluoranthene (FLT) on the physiological processes in pea plants cultivated *in vitro*. Fluoranthene was selected from PAHs family as one of the most frequent polycyclic aromatic hydrocarbons in the environment of the Czech Republic [6]. The selected concentrations of FLT simulate low (0.1 mg/L) and high (1 and 5 mg/L) environmental loadings. After 21 days of cultivation the content of FLT in dry matter, net photosynthesis rate, content of ABA and dry mass of pea plants were evaluated.

Material and methods

The plant material was a pea plant (*Pisum sativum* L. cv. Garde). Apical segments (1 cm) of shoot were cultivated on the Murashige-Skoog (MS) cultivation medium [7] in controlled conditions (PAR 40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, photoperiod 16/8, $25\pm 1^\circ\text{C}$). MS medium was enriched with the growth regulators indole-3-acetic acid (IAA, 0.1 mg/L) or combination of IAA and N_6 -benzylaminopurine (BA, 0.1 mg/L). Fluoranthene (Supelco, USA), was added into the MS medium in the concentration 0.1, 1 and 5 mg/L. Investigated parameters were evaluated after 21 days of cultivation. The content of FLT in dry mass was determined by gas chromatography-mass spectrometry technique using the Finnigan GCQ ion trap instrument (Finnigan MAT, USA). The level of endogenous ABA was analysed by RIA method with monoclonal antibody MAC 252 [8]. Radioligand ^3H -ABA was used (Amersham Pharmacia Biotech, specific activity 1.9 TBq/mmol). Radioactivity was calculated using software Securia Packard. The net photosynthesis rate was calculated from measurements of their CO_2 exchange. An open-type system with infra-red gas analyser (EGM 3, PP System, UK) was used. The results were processed with software STATISTICA 6 (StatSoft, Inc.®).

Results and discussion

Growth and differentiation processes in plants are controlled primarily by a system of endogenous growth regulators. Similar interactions between the effect of PAHs and growth regulation using plant hormones were explored only partially. Estimation of the growth rate on the base of biomass increments thus represents a measure for assessing of the effect of FLT on plants. The biomass production is a reliable external indicator of the internal affection of plant metabolism. The changes in dry weight of callus and shoots of plants enable to evaluate the extent of their affection in relation to the concentration of FLT and the time of exposure. The decrease in their weight (as compared with control after 21 days of cultivation in plants treated by 1 mg/L and especially 5 mg/L FLT) indicated a negative effect of PAH on the growth of plants. A similar growth inhibition was demonstrated also *in vivo* when using other stressors [9]. Plants cultivated in a medium without BA produced a shorter shoot and also a smaller callus from which, however, adventitious roots could regenerate. The presence of FLT in the medium affected the rhizogenesis. Its negative effect, i.e. a reduced formation of the root system, depended with the increasing concentration of FLT in the medium (1 and 5 mg/L).

Fluoranthene detected in the shoot was a proof of its uptake by callus from the MS medium on the one hand and of its subsequent transport into the shoot on the other. The observed acropetal transport of PAH was recorded also in other plant species [10]. Values of the content of FLT detected in pea biomass demonstrated that the shoot of pea plants accumulated certain amounts of FLT. The relationship between leaf photosynthesis rate and plant productivity is difficult to establish even through dry matter accumulation obviously reflects the efficiency of the plant photosynthetic processes [11]. *In vitro* cultivated pea plants had only small leaves and for that reason the net photosynthetic rate was measured at the level of whole shoots. In plants treated with 0.1, 1 and 5 mg/L FLT, the net photosynthesis rate was significantly inhibited not only under conditions of light saturation 600 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ but also over the whole range of the irradiances tested. With an increasing concentration of FLT in the environment and in the plant tissue, the rate of net photosynthesis significantly decreased. Changes recorded in production of biomass in plants exposed to FLT could be related to the changes in their endogenous levels of growth regulators. The content of ABA under study was increasing and well correlated with the increasing environmental FLT load (1 and 5 mg/L).

Conclusion

Investigated parameters (growth, net photosynthesis rate, content of FLT and ABA) responded sensitively to the occurrence of stressors in the environment. This demonstrated a negative effect of an important polycyclic aromatic hydrocarbon fluoranthene on physiological processes taking place in plants. Organic pollutants occurring in the environment and taken up by plants affected significantly also production of growth regulators. The effect of PAHs treatment on the vegetation cover has not yet been studied at the level of *in vitro* cultures. This fact indicates that it could be a precious tool for the study of toxic effects of other contaminants.

Acknowledgement

This work was financed by the Rector's program of Masaryk University for support of originative student's activity (C0007).

References

1. SAMANTA, S.K. – SINGH, O.V. – JAIN, R.K., 2002. Trends Biotechnol. 20 (6), 243-248.
2. GAO, Y.Z. – ZHU, L.Z., 2004. Chemosphere 55, 1169-1178.
3. BINET, PH. – PORTAL, J.M. – LEYVAL, C., 2000. Plant and Soil 227, 207-213.
4. KOLB, M. – HARMS, H., 2000. Environ. Toxicol. Chem. 19, 313-349.
5. MOK, D.W.S. – MOK, M.C., 1999. Plant Mol. Biol. 52, 89-118.
6. HOLOUBEK, I., 2000. Chemické listy 94, 771-775.
7. MURASHIGE, T. – SKOOG, F., 1962. Physiol. Plantarum 15, 473-497.
8. QUARRIE, S.A. – WHITFORD, P.N. – APPLEFORD, N.E.J. – WANG, T.L. – COOK, S.K. – HENSON, L.E. – LOVEYS, B.R., 1988. Planta 183, 330-339.
9. WANG, W. – VINOUCUR, B. – SHOSEYOUR, O. – ALTMAN, A., 2001. Acta Horticulturae 560, 285-292.
10. KUMMEROVÁ, M. – GLOSER, J. – SLOVÁK, L. – HOLOUBEK, I., 1996. Toxicol. Environ. Chem. 54, 99-106.
11. DELGADO, E. – DRISCOLL, S.P. – MITCHEL, R.A.C. – LAWLOR, D.W., 1992. Plant Physiol. 98, 949-954.

Adresa autorov:

Lucie Váňová, Marie Kummerová, Štěpán Zezulka. Department of Plant Physiology and Anatomy, Institute of Experimental Biology, Faculty of Science, Masaryk University, Kotlářská 2, 611 37 Brno, Czech Republic.

Marek Klemš, Helena Fišerová. Institute of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic.

ŽIVOTNÝ CYKLUS ĽANU SIATEHO LIFE CYCLE OF FLAX

Zuzana ŽÁČKOVÁ – Erika MALINÍKOVÁ

Flax is the facultatively autogamous species. We observed the life cycle of flax plants and focused on differentiation of gametophytes in hermaphroditical flowers.

Key words: flax, life cycle, gametophytes

Úvod

Výskum a vývoj v poľnohospodárstve na Slovensku sa v súčasnosti zameriava aj na pestovanie plodín, ktoré sa účelne využívajú v priemysle. K týmto plodinám patrí tiež ľan siaty (*Linum usitatissimum* L.). Kultúrny ľan vznikol z divorastúcich foriem asi pred 5 - 6 tisíc rokmi a už odvtedy ho ľudia poznajú a využívajú kvôli vysokému obsahu oleja v semenách a pre vlákna (celulóza, lignín) v stonke. Naším cieľom bolo sledovať vývinový cyklus ľanu siateho s dôrazom na diferenciáciu gametofytov v obojpohlavnom kvete fakultatívne autogamných rastlín.

Materiál a metódy

Rastliny ľanu, priadne (Viking) a olejné (AC Emerson) genotypy, sme pestovali v poľných podmienkach na experimentálnom poličku ÚGBR SAV v Nitre. Semená uvedených genotypov sme získali z genetických zdrojov Výskumnej stanice v Mordene (Kanada) a od Agritec s. r. o. Šumperk – Temenice (Česká Republika). Vegetačné obdobie začínalo na začiatku apríla, resp. na začiatku mája. Kvitnutie ľanu sme pozorovali v polovici júna až júla v závislosti od klimatických podmienok. Na analýzu vývinu mikrospór sme používali metódu roztlakových preparátov a semenníky sme analyzovali histologicky (BARTOŠOVÁ et al., 2005).

Výsledky a diskusia

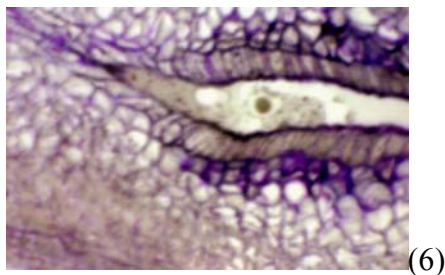
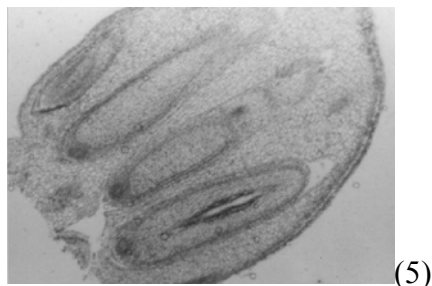
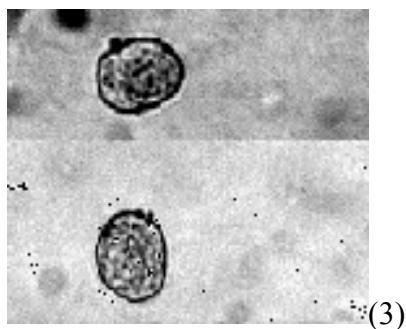
Ľan siaty je rastlina krehkého habitusu, s modro-fialovo, prípadne nabiele sfarbenými kvetmi. Stonka môže byť poliehavá najmä u priadnych genotypov. Olejnaté genotypy majú spravidla nižšiu stonku, ktorá sa viac vetví. Zaujímavá z progresívneho hľadiska je tvorba gametofytov. Môžeme povedať, že vhodný čas na pestovanie ľanu bol počas sezóny, keď priemerná mesačná teplota bola v čase butonizácie 15-21° C a bol dostatok atmosférických zrážok. Kvitnutie ľanu vzhľadom na zvýšenú vlhkosť vzduchu prebiehalo pomerne rýchlo. Pozorovanie ontogenézy peľových zŕn sme začali, keď v peľniciach boli peľové materské bunky charakteristicky pospájané (2-2,5 mm dlhé púčiky, obr.1). Potom sa PMCs od seba oddelili a okolo nich bol pozorovateľný kalózový obal. Ďalej prebiehala mikrosporo-genéza a na konci dňa sme pozorovali v peľniciach tetradrické tetrády mikrospór (obr.2). Tvorba tetrád prebiehala simultánne. Za jeden až dva dni sa v nich nachádzali mikrospóry (3-3,5 mm dlhé púčiky). V nasledujúcej etape dochádzalo k silnej vakuolizácii mikrospór (obr.3) - tzv. skorá, stredná a neskorá jednojadrová mikrospóra (obr.4) v závislosti od stupňa vakuolizácie. V peľnici ľanu sa vyvíjalo približne 150 mikrospór. V ďalšej etape sa delilo jadro mikrospóry v procese mikrogametogenézy a výsledkom boli trojbunkové peľové zrná. Za týždeň sme pozorovali začiatok kvitnutia ľanu. V kvetnom púčiku ľanu sme sa zamerali aj na stavbu samičieho pohlavného orgánu – semenníka. Na histologických rezoch, na vnútornej strane semenníka sme identifikovali semenicu (placentu), ku ktorej boli pútkom pripojené vajíčka. V semenníku sa nachádzalo obyčajne 10 anatrofných vajíčok (obr.5). Vnútri vajíčka podstatnú časť tvorilo pletivo nucela, v ktorom bol založený samičí gametofyt-zárodočný miešok (obr.6). Zárodočný miešok ľanu mal formu úzkeho a pretiahnutého útvaru, rozšíreného v mikropylárnej oblasti.



(1)



(2)



Záver

Pestovanie ľanu je dlhou tradíciou na Slovensku, i keď kvalita rastlinného materiálu značne závisí od vonkajších, najmä klimatických faktorov. Synchronnosť vo vývine gametofytov Shivanna (2003) uvádza až do štádia peľových materských buniek. Vývin mikrospór vo viacerých peľniciach jedného kvetného púčika je už však rôzne rýchly. Vývin zárodočných mieškov vo vajíčkach jedného semenníka je pomerne synchronný.

Literatúra

1. BARTOŠOVÁ, Z. – OBERT, B. – TAKÁČ, T. – KORMUŤÁK, A. - PREŤOVÁ, A.: Using enzyme polymorphism to identify the gametic origin of flax regenerants. In *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, vol.47/1, 2005, p. 173-178
2. SHIVANNA, K., R.: Production of haploids through gynogenesis. In: Shivanna, K. R. (ed.), *Pollen Biology and Biotechnology*, Enfield, 2003, p. 227-229

PodĎakovanie

Ďakujem ÚGBR SAV v Nitre za možnosť uskutočniť experimenty a finančnej podpore VEGA grantu č. 2/7162/7.

Adresa autorov:

RNDr. Zuzana Žáčková, PhD., PaedDr. Erika Maliniková, Katedra biológie a ekológie PF, Katolícka univerzita, Nám. A. Hlinku 56/1, 034 01 Ružomberok, e-mail: Zuzana.Zackova@fedu.ku.sk

TVORBA VÝBEROVÝCH POPULÁCIÍ PŠENICE LETNEJ F. OZIMNEJ PRODUCTION OF INITIAL WINTER WHEAT POPULATIONS

Alžbeta ŽOFAJOVÁ

Results from evaluation of grain yield formation traits of 10 winter wheat population are presented. Populations from simple pair crossing were compared to backcrossing ones. Backcrossing populations had higher number and weight grain per spike, accompanied by higher plant height at population (Hana x TAM 200) x Hana. In separate research was confirmed higher androgenic responsibility of backcrossing populations.

Key words: wheat, populations, productivity traits

Úvod

Produkcia dihaploidných (DH) rastlín technikou peľnicových kultúr po spontánnom alebo indukovanom zdvojení chromozómov je rýchlou metódou pre získanie homozygotných línií v šľachtiteľských programoch pšenice. Technika peľnicových kultúr je pri pšenici známa viac ako 30 rokov a v súčasnosti je efektívne využívaná v mnohých krajinách pre tvorbu dihaploidných línií pre šľachtenie a tiež pre genetické analýzy. Napriek určitým obmedzeniam, ktoré predstavuje hlavne nedostatočná androgénna kapacita v náhodne selektovaných genotypoch, techniky tvorby dihaploidov sú úspešne využívané v šľachtiteľských programoch pšenice, čo je dokumentované počtom registrovaných odrôd vo svete (THOMAS et al., 2003).

Genotyp donorových rastlín má veľký vplyv na responzibilitu peľnicových kultúr. V skorších štúdiách boli dokázané významné rozdiely medzi odrodami a kríženiami. Odrody s vysokou frekvenciou indukcie a regenerácie sú krížené s recalcitrantnými genotypmi, vytvárané F1 hybridy majú významne vyššiu indukciu a regeneráciu než recalcitrantný rodič. Tieto responzibilné odrody sú tiež nazývané ako „mosty“ (HU, 1997). Klasický šľachtiteľský postup umožňuje zabudovanie génov ovplyvňujúcich androgénnu responzibilitu, čo potvrdili tiež CHOWDHURY et al. (1991).

Cieľom práce bolo spätným krížením vytvoriť a porovnať výberové populácie pšenice letnej f. ozimnej pre tvorbu dihaploidov.

Materiál a metódy

Na SCPV – VŠŠ Malý Šariš a Vigľaš-Pstruša boli krížením vytvorené jednoduché hybridné populácie pšenice letnej f. ozimnej, ktoré v SCPV – VÚRV Piešťany boli spätne krížené s rodičovskou odrodou s cieľom kumulovať znaky produktivity a kvality, prípadne androgénnej responzibility (odrody Astella, Brea). Populácie (5 z priameho kríženia, 5 zo spätného kríženia, tab. 1) boli spolu s kontrolnými (Astella, Ilona, Torysa) a vybranými rodičovskými odrodami skúšané v Piešťanoch vo vegetácii 2004/05 v poľnom pokuse založenom metódou znáhodnených blokov v troch opakovaníach (parcela 1,2 m²). V priebehu vegetácie boli sledované fenologické pozorovania a zdravotný stav a v zrelosti boli zberané rastliny (86 až 117 rastlín na populáciu), ktoré boli rozborované na základné úrodovorné znaky: výška rastliny, počet produktívnych odnoží, počet a hmotnosť zŕn (uvádzame prepočet na jeden klas).

Údaje boli štatisticky vyhodnotené pomocou balíka programov Statgrafics plus for Windows.

Výsledky a diskusia

Pri všetkých hodnotených znakoch medzi pokusnými členmi boli štatisticky významné rozdiely. Priemerné hodnoty sú uvedené v tab. 1.

Najvyššiu výšku rastlín mala populácia 2 (o 12,8 % vyššia v porovnaní s populáciou jednoduchého kríženia), ktorou prevyšovala tiež (o 10 cm) najvyššiu kontrolu Astella. Podobne pri kombinácii 6 spätné kríženie s odrodou Astella spôsobilo zvýšenie výšky rastlín (o 5,7 %). Populácie 7 a 8 sa vo výške rastlín nelíšili. Populácie spätného kríženia 4 a 10 mali nižšiu výšku rastlín v porovnaní s populáciami z jednoduchého kríženia. Najvyšší počet produktívnych odnoží mala rodičovská odroda TAM 200 (7,1) a populácie 3 a 10 s touto odrodou. Populácie spätného kríženia 6, 8 a 10 prevýšili v počte produktívnych odnoží populácie vytvorené párovým krížením o 3,2 %, 6,1 % a 15,2 %, jednotlivo. Varičné rozpätie počtu zŕn na klas bolo vysoké od 33,7 (TAM 200) do 59,4 (Torysa). Žiadna z populácií nemal vyšší počet zŕn ako kontrola Torysa. Pri odrode Torysa došlo pravdepodobne k nadhodnoteniu niektorých úrodovorných znakov v dôsledku hodnotenia nižšieho počtu rastlín (52) v porovnaní s počtom hodnotených rastlín populácií. Avšak naznačené trendy porovnaní sú jednoznačné. Nízky počet zŕn rodičovskej odrody TAM 200 sa prejavil vo všetkých párových kombináciách s touto odrodou (populácie 1, 3, 5, 9) a tiež v populácii 2 spätného kríženia, ktoré mali podpriemerný počet zŕn. Populácie spätného kríženia 2, 4 a 10 mali vyšší počet zŕn na klas ako populácie jednoduchého kríženia. Podobne ako pri počte aj pri hmotnosti zrna na klas najvyššiu hodnotu mala odroda Torysa (2,548 g) a najnižšiu odroda TAM 200 (1,085 g), ktorá v hybridných populáciách znižovala hodnotu tohto znaku. Odroda TAM 200 je donorom vysokého obsahu bielkovín, čo sme potvrdili v našich ďalších výskumoch (ŽOFAJOVÁ, UŽÍK, 2007). Pri 4 z 5 populácií spätného kríženia došlo k zvýšeniu hmotnosti zrna o 4,7 % (populácia 10) až 24,8 % (populácia 1) v porovnaní s populáciami jednoduchého kríženia. Pri hmotnosti 1000 zŕn nadpriemerné hodnoty mali populácie spätného kríženia 2, 4

a 6, ktoré mali zároveň vyššie hodnoty (12,4 %, 4,4 %, 18,4 %, jednotlivo) v porovnaní s ich populáciami z jednoduchého kríženia.

V roku 2005 sme overovali tiež androgénnu responzibilitu 2 populácií jednoduchého párového kríženia (populácie 3, 5) a spätného kríženia (populácie 4, 6). Potvrdili sme, že pri populáciách spätného kríženia došlo k zvýšeniu androgénnej responzibility (ŽOFAJOVÁ, UŽÍK, 2005).

Záver

Pri populáciách vytvorených spätným krížením došlo k zvýšeniu najmä počtu a hmotnosti zŕn na klas, ktoré boli pri populácii (Hana x TAM 200) x Hana vo väzbe s vyššou výškou rastlín.

Literatúra

- HU, H.: *In vitro* induced haploids in wheat. In: JAIN et al.: *In vitro* haploid production in higher plants, vol. 4, 1997, s. 73-97.
- CHOWDHURY, S. H. – KATO, K. – YAMOTO, Y. – HAYASHI, K.: Varietal variation in plant regeneration capacity from immature embryo among common wheat cultivars. In: *Japan. J. Breed.*, 41, 1991, s. 443-450.
- THOMAS, W.T.B. et al.: Doubled haploids in breeding. In: MALUSZYNSKI et al.: *Doubled Haploid Production in Crop Plants*. Dundee : Scottish Crop Research Institute, 2003, s. 337-349.
- ŽOFAJOVÁ, A. – UŽÍK, M.: Tvorba a využitie dihaploidných línií pšenice letnej f. ozimnej. In: *Biotechnologické metódy v šľachtení rastlín BIOS 2003 : Zborník z IX. vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou : Nitra 22. september 2005 : CD-ROM. - Nitra : SPU, 2005, s. 59-63.*
- ŽOFAJOVÁ, A. – UŽÍK, M.: Hodnotenie produktivity a kvality dihaploidných línií pšenice letnej f. ozimnej. In: *Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochrane rostlin a zpracování produktů, 2007 (v tlači)*

Tabuľka 1: Priemerné hodnoty vybraných znakov populácií pšenice letnej f. ozimnej

Pôvod	Výška rastliny (cm)	Počet prod. odnoží	Počet zŕn na klas	Hmotnosť zrna na klas (g)	Hmotnosť 1000 zŕn (g)
1 - Hana x TAM 200	78,0	5,5	34,1	1,193	34,61
2 - (Hana x TAM 200) x Hana	88,0	5,3	38,4	1,489	38,91
% (100= Hana x TAM 200)	112,8	96,4	112,6	124,8	112,4
3 - Brea x TAM 200	81,8	6,7	42,0	1,568	37,55
4 - (Brea x TAM 200) x Brea	76,9	6,1	50,3	1,941	39,20
% (100= Brea x TAM 200)	94,0	91,0	119,8	123,8	104,4
5 - Astella x TAM 200	75,1	6,2	43,3	1,510	34,64
6 - (Astella x TAM 200) x Astella	79,4	6,4	40,8	1,663	41,00
% (100= Astella x TAM 200)	105,7	103,2	94,2	110,1	118,4
7 - Vanda x Ormil	81,7	4,9	53,2	2,206	41,05
8 - (Vanda x Ormil) x Vanda	82,7	5,2	52,4	2,137	40,51
% (100= Vanda x Ormil)	101,2	106,1	98,5	96,8	98,7
9 - Ebi x TAM 200	82,6	5,9	43,6	1,479	33,43
10 - (Ebi x TAM 200) x TAM 200	78,0	6,8	46,6	1,549	32,91
% (100= Ebi x TAM 200)	94,4	115,2	106,9	104,7	98,4
TAM 200	70,4	7,1	33,7	1,085	32,39
Astella – K1	78,0	5,4	51,3	1,989	38,60
Ilona – K2	77,2	4,6	37,3	1,478	40,13
Torysa – K3	74,2	4,8	59,4	2,548	42,64
\bar{x}	77,9	5,6	45,6	1,740	37,88
LSD _{0,05}	4,357	1,352	7,702	0,324	2,959

Adresa autora:

Ing. Alžbeta Žofajová, PhD. SCPV – Výskumný ústav rastlinnej výroby, Bratislavská 122, 921 01 Piešťany, zofajova@vurv.sk

Life Science & Analytics



Laboratory Distribution



Pigments & Cosmetics



www.merck.sk

My určujeme šstandard

Naším zákazníkom dodávame kvalitné a inovatívne produkty materskej firmy s viac než 300 ročnou tradíciou - Merck KGaA Darmstadt, Nemecko.

Súčasťou našej širokej ponuky sú aj produkty a služby z portfólia ďalších renomovaných výrobcov a dodávateľov, ktorých na Slovensku dlhodobo zastupujeme.





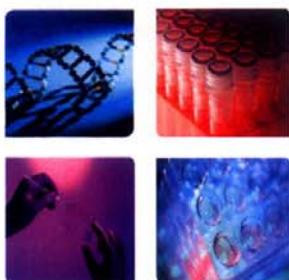
~ Molecular Biology & Genetic, Life Science, Diagnostic ~



reagencie
~
prístroje
~
diagnostiká



- ✦ izolácia genomickej DNA
- ✦ izolácia plazmidovej DNA
- ✦ čistenie DNA
- ✦ stabilizácia a izolácia RNA
- ✦ enzýmy na PCR, real-time, RT a klonovanie
- ✦ transfekcia
- ✦ biotechnológia proteínov
 - ✦ expresia proteínov
 - ✦ purifikácia proteínov
 - ✦ detekcia proteínov
 - ✦ kryštalizácia proteínov



operon
molecules for life

- ✦ syntéza klasických a modifikovaných primerov (široké spektrum modifikácií)
- ✦ syntéza duálne značených prôb
- ✦ purifikácie – desalted, HPLC, PAGE

Bio-Consult Slovakia s.r.o.
Ružová dolina 6
821 08 Bratislava 2

tel./fax: +421 2 50 221 336
+421 2 20 661 336
+421 903 471 595

bio-cons@cdicon.sk
bioconsult.qiagen@gmail.com
www.bio-consult.sk

Fisher

LABORATÓRNA TECHNIKA

Pracovné ochranné prostriedky

Pomôcky pre ochranu očí - okuliare, štíty, ďalšie základné ochranné pomôcky ako rukavice, pracovné plášte, nohavice a základný výber z hygienických a kozmetických prostriedkov.

Laboratórne sklo a porcelán

Bežné varné nádoby z borosilikátového skla, ako kadičky, banky, zábrusové diely a aparátury, odmerné sklo ako valce, odmerné banky, pipety a byrety, fľaše na vzorky, exikátory, misky, žihacie téglíky a pod.

Drobné pomôcky z plastu, gumi a kovu

Nevyhnutné stojany a klemy, kahany, pinzety, skalpely, špachtle, lyžičky, misky z kovu. Nádoby z plastu, ako kadičky, odmerné valce a banky, misky, podložky. Výber hadíc z bežných a špeciálnych materiálov, spojky a rozbočky hadíc. Sortiment fliaš z PE a PP, kanistre. Pomôcky na prečerpávanie kvapalín, na odoberanie vzoriek kvapalín a pevných látok v teréne aj v prevádzkach.

Pomôcky pre filtráciu

Široký sortiment filtračných papierov a membránových filtrov z bežných aj špeciálnych materiálov. Nerezové aj sklenené filtračné zostavy.

Prístroje a pomôcky pre dávkovanie kvapalín

Dávkovače a zásobné fľaše, mikropipety a špičky k nim, digitálne byrety, mikrostriekačky, mechanické a elektrické nástavce pre prácu so sklenenými pipetami.

Prístroje pre ohrev a chladenie

Sušiarne, klimatické komory, inkubátory, sterilizátory, obehové termostaty, vodné kúpele, mraziace boxy, mufňové či trubicové pece.

Prístroje pre mechanické úpravy vzoriek

Magnetické aj hriadeľové miešadlá, trepačky, dispergátory, mlynčeky, sitá, ultrazvukové prístroje, odstredivky. Vývevy membránové aj olejové, zubové aj peristaltické čerpadlá.

Meracie prístroje

Sklenené aj elektronické teploměry, vlhkomery, prístroje pre záznam teploty a vlhkosti, tlakomery, prietokomery. Technické aj analytické elektronické váhy, závažia. Elektrochemické prístroje pre meranie pH, vodivosti, rozpusteného kyslíka, elektródy, kombinované prístroje. Spektrofotometre, prístroje pre vyhodnocovanie farebnosti pevných látok. Refraktometre, polarimetre, viskozimetre. Študentské aj vedecké mikroskopy.

Aparátury

Kombinované laboratórne prístroje alebo ich zostavy - titrátory, mineralizačné aparátury. Rotačné odparky. Destilačné prístroje, ionomeničové aparátury. Elektroforéza a jej príslušenstvo.

Laboratórny nábytok

Bežné aj špeciálne zostavy nábytku s dielmi z ušľachtilých, odolných materiálov. Digestory, bezpečnostné skrine, váhové stoly. Zostavy kancelárskeho nábytku s návaznosťou na design laboratórneho nábytku. Stoličky a kreslá do kancelárií aj do výrobných prevádzok.

Chemikálie

Veľmi široký sortiment bežných a špeciálnych chemikálií v čistote p.a., v malých baleniach. Normanály.

FISHER Slovakia, s.r.o., Mäsiarska 13, 054 01 Levoča

Tel.: 053 - 451 10 70, 451 02 36, Fax: 053 - 469 90 08

VoIP: 069 200 2022, Skype: FisherSlovakia

e-mail: info@fisherww.sk, <http://www.fisherww.sk>



Obchodná kancelária Bratislava:

Tranovského 55, 841 02 Bratislava

Tel.: 02-6428 5521, 22, Fax: 02-6428 5523

e-mail: info_ba@fisherww.sk



Ecoli s.r.o. - dodávateľ komplexných systémov na analýzu DNA a RNA pre oblasť vedy, výskumu a klinickej diagnostickej praxe. V ponuke je široký sortiment špeciálnych DNA polymeráz pre PCR, RT-PCR, qPCR, DNA markerov, DNA/RNA izolačných kitov a iných produktov.

Pre Vaše laboratórium zabezpečujeme tiež odborné prednášky z oblasti molekulárnej biológie, poradenstvo a návrh optimalizácie Vašich experimentov. Naším cieľom sú Vaše hodnotné výsledky.

Kompletný profil a aktuálne ponuky nájdete na www.ecoli.sk

Zborník: Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín.

Editor: Ing. Valéria Šudyová, CSc., Ing. Edita Gregová, PhD.

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

prof. Ing. Jozef Augustín, DrSc., UCM Trnava

Vydavateľ: SCPV - Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany

Typografia: Jarmila Poništová

Náklad: 90

Rok vydania: 2007

Rukopisy neprešli odbornou ani jazykovou úpravou.
Za odborný obsah zodpovedajú autori.

ISBN 978-80-88872-65-8

