

## OBSAH A ZLOŽENIE ŠKROBU V ZRNE PŠENICE, RAŽE A TRITIKALE

DANIELA MIKULÍKOVÁ<sup>a</sup>, VIERA HORVÁTHOVÁ<sup>b</sup> a ALŽBETA ŽOFAJOVÁ<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu, Výskumný ústav rastlinnej výroby, Bratislavská 122, 921 01 Piešťany, <sup>b</sup> Fakulta prírodných vied Univerzity sv. Cyrila a Metoda, Námestie J. Herdu 2, 917 01 Trnava, Slovenská republika  
mikulikova@vurv.sk, viera.horvathova@ucm.sk, zofajova@vurv.sk

Došlo 12.10.07, prijaté 24.1.08.

Kľúčové slová:  $\alpha$ -amyláza, amylopektín, amylóza, bioetanol, škrob

### Úvod

Snaha o ekologizáciu životného prostredia (najmä zníženie emisií škodlivých látok do ovzdušia) vyústila do vypracovania dokumentu Rady Európy č. 39/97, ktorý určuje zloženie reformulovaných pohonných hmôt obsahujúcich alkoholy, prípadne butylétery z nich vyrobené (MTBE alebo ETBE). Okrem toho smernica EÚ č. 93/500 EEC č. 1972 stanovuje ciele na dosiahnutie náhrad spotreby energií obnoviteľnými zdrojmi a stanovuje doporučenia v oblasti daňových úľav, potrebných na spracovanie poľnohospodárskych surovín ako náhrady za lacnejšie suroviny fosílného pôvodu.

Na produkciu bioetanolu sú vhodné suroviny s vysokým obsahom škrobu, celulózy alebo hemicelulózy, ktoré možno hydrolyzovať na kvasiteľné monosacharidy. Pri nadprodukcii obilnín sú práve tieto vhodným substrátom na výrobu palivového etanolu. Za limitnú hranicu rentability sa považuje 65 % škrobu v sušine zrna. Z hľadiska efektívnej rastlinnej produkcie v SR je pre využitie na energetické účely perspektívnym zdrojom škrob zo semien pšenice a tritikale. Možno ich úspešne pestovať aj v marginálnych oblastiach.

Škrob je jedným z najvýznamnejších a najrozšírenejších rastlinných polysacharidov na Zemi. Ako zdroj chemickej energie ho využívajú živočíchy, vyššie rastliny aj mikroorganizmy. Nachádza sa v semenách a hľuzách rastlín (obilniny, pseudoobilniny, strukoviny, zemiaky a ďalšie plodiny). V obilninách sa syntetizuje v endosperme semien vo forme zásobného škrobu alebo v chloroplastoch počas fotosyntézy vo forme prechodného škrobu. Z chemickeho hľadiska sú škroby (včítane obilných škrobov) zmesou dvoch  $\alpha$ -D-glukózových homopolymérov: 20–30 % amylo-

zy a 70–80 % amylopektínu<sup>1</sup>.

Amylóza je dlhý lineárny  $\alpha$ -D-glukán zložený z pomerne širokého rozmedzia počtu glukózových jednotiek, v závislosti od botanického druhu<sup>2,3</sup>, ktoré sú pospájané  $\alpha$ -1,4-glykozidovými väzbami. Reťazce amylozy sú zvinuté do závitnice, v ktorej na 1 závit pripadá 6 glukózových jednotiek. Molekulová hmotnosť amylozy je okolo  $10^5$ – $10^6$  Da (cit.<sup>4</sup>).

Amylopektín je tiež zložený z glukózových reťazcov, spojených  $\alpha$ -1,4-glykozidovými väzbami, ktorých je asi 95 % (cit.<sup>5</sup>). Sú však kratšie než reťazce amylozy. Priemerne obsahujú 25–30 glukózových jednotiek. Sú vetvené tak, že nad každou 10. až 12. jednotkou je  $\alpha$ -1,6-glykozidovou väzbou pripojený ďalší reťazec. Rozvetvená molekula amylopektínu je väčšia než molekula amylozy. Jeho molekulová hmotnosť sa pohybuje medzi  $10^7$ – $10^9$  Da (cit.<sup>5</sup>) Stupeň polymerizácie amylopektínu varíruje; existujú však tri typické podskupiny: rozmedzie 13400–26500, 4400–8400 a 700–2100 (cit.<sup>6</sup>).

Škrob sa nachádza vo forme škrobových zrn A-typu alebo B-typu, ktoré sa líšia veľkosťou, tvarom, chemickým zložením a fyzikálno-chemickými vlastnosťami<sup>7,8</sup>. Zrná A-typu sú väčšie (>10  $\mu$ m), majú lentikulárny tvar. Škrobové zrná B-typu sú menšie (<10  $\mu$ m), sú sférické a v porovnaní s A-typom obsahujú menej amylozy a viac fosfolipidov.

Od podielu amylozy a amylopektínu závisia fyzikálno-chemické vlastnosti škrobu<sup>9</sup>. Prejavujú sa najmä v rozdielnej rozpustnosti, napučívaní, retrogradácii a stráviteľnosti a majú určujúci význam z hľadiska využitia škrobu. Škrob má široké uplatnenie vo výrobe potravín aj v technickej praxi. Škroby s vysokým podielom amylopektínu sú vhodné na výrobu papiera, adhezív, piva, cestovín a mrazených potravín. Škroby s vysokým podielom amylozy sa používajú na výrobu funkčných potravín na báze zdraviu prospešného rezistentného škrobu (RS), v cukrárenstve a na výrobu fotografických filmov.

Biosyntézu škrobu katalyzuje 14 rôznych enzýmov<sup>10</sup>, pričom tri z nich možno považovať za kľúčové<sup>11</sup>: ADP-glukóza-pyrofosforyláza (AGP), škrobová syntetáza (SS) a enzým vetviaci škrob (BE). Enzým AGP je zodpovedný za tvorbu ADP-glukózy ako monoméru pre syntézu polymérneho škrobu, škrobová syntetáza predlžuje reťazce a vetviaci enzým sa podieľa na vetvení reťazcov do klastrovej štruktúry. Všetky tri sa nachádzajú vo viacerých izoformách a majú rozdielnu enzýmovú aktivitu aj fyzikálno-chemické a imunologické vlastnosti<sup>12</sup>. Sú podmienené rozdielnymi génmi a líšia sa primárnou štruktúrou, molekulovou hmotnosťou, hodnotou Michaelisovej konštanty  $K_m$ , citlivosťou k aktivátorom a inhibítorom, teplotným optimom a podobne. Gény, ktoré regulujú syntézu týchto enzýmov, možno mutovať alebo klonovať v bakteriálnom plazmide a následne zabudovať do iných genómov. Prostredníctvom týchto génov možno zasiahnuť do syntézy škrobu a zmeniť jeho obsah aj zloženie.

*In vivo* prebieha syntéza amylozy a amylopektínu súčasne. O zastúpení ich podielu v škrobe rozhodujú dva

špecifické izoenzymy: škrobová syntetáza viazaná na granuly (GBSSI) a vetviaci enzým BEIIb. Škrobová syntetáza viazaná na granuly je v obilninách podmienená génmi *WAXY*, v zemiaku génom *AMF* a v hrachu génom *LAM*. Mutáciou génu, ktorá spôsobí stratu tejto izoformy, možno v škrобе znížiť, prípadne až celkom odstrániť, amylozu<sup>13</sup>. Škroby takýchto *waxy* mutantov bez amylozy obsahujú iba amylopektín. Mutácie génu *AMYLOSE-EXTENDER (AE)* v obilninách alebo génu *RUGOSUS (R)* hrachu spôsobujú zasa stratu vetviaceho izoenzymu BEIIb, ktorý prednostne vetví amylopektín. V dôsledku týchto mutácií je podiel amylozy v škrобе zvýšený<sup>14,15</sup>. Šľachtením alebo pomocou biotechnológií možno cielene získať škrob s požadovaným zastúpením amylozy a amylopektínu podľa účelu, na ktorý je určený<sup>16–24</sup>.

Cieľom práce bolo zhodnotiť vplyv plodiny, odrody a poveternostných faktorov na parametre, ktoré významne ovplyvňujú produkciu etanolu: obsah škrobu, podiel amylozy v ňom a enzýmová aktivita  $\alpha$ -amylázy ( $\alpha$ -AMS), ktorá hrá dôležitú úlohu v jeho degradácii. Cieľom bolo tiež vybrať najvhodnejšie odrody pšenice pre molekulárne šľachtenie za účelom získania línie s vysokým obsahom škrobu bez amylozy ako vhodného substrátu pre etanolovú fermentáciu.

## Experimentálna časť

### Materiál

Na porovnanie sledovaných parametrov v bežne používaných druhoch obilnín sa hodnotilo 26 odrôd pšenice letnej f. ozimnej (*Triticum aestivum* L., v texte ďalej pšenica), 11 odrôd raže siatej (*Secale cereale* L., v texte raž), a 13 odrôd ozimného tritikale (*X Triticosecale* Wittmarck, v texte tritikale). Plodiny sa pestovali v jednej lokalite (Borovce pri Piešťanoch) v r. 2005.

Na zistenie vplyvu lokality na hodnotené parametre sa vybralo 16 odrôd pšenice, pestovaných v r. 2006 v rôznych lokalitách (Malý Šariš, Michalovce, Vígľaš-Pstruša pri Zvolene a Borovce), ktoré sa významne líšia nadmorskou výškou, priemernou dennou teplotou a množstvom zrážok počas vegetačného obdobia. Lokality Borovce a Michalovce patria medzi teplé suché oblasti s nižšou nadmorskou výškou. Vígľaš-Pstruša a Malý Šariš sú v chladnejšej oblasti s vyššou nadmorskou výškou.

Vplyv vegetačného roku na jednotlivé parametre sa hodnotil v 48 odrodách pšenice pestovanej v lokalite Borovce v rokoch 2004 a 2005.

## Metódy

### Stanovenie obsahu škrobu

Použila sa akceptovaná polarimetrická metóda stanovenia škrobu STN 46 1011-37 podľa Ewersa. Po kyslej hydrolyze vo vriacom vodnom kúpeli, vyčistení pomocou Carrezovho činidla I a II a filtrácii sa oproti destilovanej vode merala optická aktivita filtrátu (digitálny polarimeter GENEQ 3001, fa Kruss). Ako štandardná vzorka sa použila 5% glukóza; kontrolnou vzorkou bol šrot pšenice so 65% obsahom škrobu. Výsledky sú vyjadrené v sušine zrna ako hmotnostné %.

### Stanovenie podielu amylozy a amylopektínu

Podiel amylozy a amylopektínu v škrобе sa určil kitom Amylose/Amylopectin Assay Kit (Megazyme, Írsko). Škrob sa kompletne dispergoval v dimetylsulfoxide vo vriacom vodnom kúpeli. Lipidy sa odstránili po precipitácii v etanole. Pridaním konkanavalínu A sa vyzrážal amylopektín a odstránil sa centrifugáciou. Amylóza sa nechala zhydrolyzovať enzýmovou zmesou (30 U amyloglukozidázy a 4,5 U  $\alpha$ -amylázy\*). Vzniknutá glukóza sa stanovila enzýmovou metódou pomocou enzýmového činidla (obsahujúceho glukózaoxidázu a peroxidázu). Extinkcia červeného komplexu sa merala pri 510 nm oproti 0,1 M octanovému tmivému roztoku pH 4,5. Ako štandardná vzorka sa použila glukóza (1 g l<sup>-1</sup>); kontrolná vzorka mala v škrобе 70 % amylozy. Výsledky sú uvedené ako hm.% amylozy v škrобе. Zvyšok do hodnoty 100 % je hm.% amylopektínu.

### Stanovenie aktivity $\alpha$ -amylázy ( $\alpha$ -AMS)

Enzýmová aktivita sa stanovila kitom Alpha-amylase Assay Procedure (Megazyme, ICC Standard method No. 303). Aktivita  $\alpha$ -AMS je priamo úmerná množstvu *p*-nitrofenolu, ktorý sa uvoľní po 20 min inkubácii pri 40 °C a pH 5,4 zo syntetického substrátu BPNPG7 (*p*-nitrofenylmaltoheptaosid). Po zastavení reakcie pomocou tris-(hydroxymetyl)aminometánu sa extinkcia žltého komplexu merala pri 400 nm oproti destilovanej vode. Ako štandard sa použil *p*-nitrofenol (molárny extinkčný koeficient  $E_{mM}$  18,1 mol<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>). Enzýmová aktivita  $\alpha$ -AMS v šrote kontrolnej pšenice bola 340 U g<sup>-1</sup>.

### Štatistické hodnotenie výsledkov

Údaje boli spracované programom Statgraphics plus for Windows.

\* Cereálna jednotka (U) je definovaná ako množstvo enzýmu, ktoré je v prítomnosti nadbytku termostabilnej  $\alpha$ -glukozidázy potrebné na uvoľnenie 1  $\mu$ mol *p*-nitrofenolu z BPNPG7 za minútu pri 40 °C a pH 5,4.

## Výsledky

Všetky analýzy sa robili v 2 opakovaníach. V pomletých vzorkách zrna sa stanovila vlhkosť (analytické váhy Sartorius MA 150) a výsledky sa prepočítali na obsah sušiny. V tabuľkách I–III je pre každý parameter uvedený aritmetický priemer, smerodajná odchýlka (SD) a najvyššia (Max.) a najnižšia (Min.) nameraná hodnota.

Zistili sa štatisticky významné rozdiely v aktivite  $\alpha$ -AMS aj v podiele amylozy v škrobe medzi jednotlivými druhmi obilnín. Priemerné hodnoty obsahu škrobu v šrote klesali v poradí: raž (70,38 %), pšenica (69,90 %) a tritikale (69,61 %). Vzhľadom na väčšie rozdiely v obsahu škrobu medzi odrodami v rámci jednej plodiny však neboli rozdiely medzi pšenice, ražou a tritikale štatisticky významné. Enzymová aktivita  $\alpha$ -AMS ( $\text{U g}^{-1}$ ) bola: v tritikale 182,34, v raži 167,16 a v pšenici 113,19. Podiel amylozy (vyjadrený ako hm. % škrobu) v týchto obilninách bol: v pšenici 26,48 %, v tritikale 23,02 % a v raži 22,02 % (tabuľka I). Z tabuľky je zrejmé, že z uvedených obilnín má pre produkciu etanolu najlepšie hodnoty sledovaných parametrov tritikale.

Vplyv lokality sa hodnotil v 16 odrodách pšenice pestovaných v 1 roku na 4 miestach (Malý Šariš, Michalovce, Vígľaš-Pstruša a Borovce), ktoré sa významne líšia klimatickými podmienkami. Najvyšší priemerný obsah škrobu mali odrody pšenice z chladnejšej vlhkej lokality Vígľaš-Pstruša s nadmorskou výškou 375 m (65,07 %), najmä Pavlina, Torysa, Venistar, Mladka, Akteur a Cubus. Najnižší priemerný obsah škrobu (62,80 %) mali odrody

pšenice z teplej suchej oblasti Borovce s nadmorskou výškou 167 m (tabuľka II). Nezistil sa štatisticky významný vplyv lokality na podiel amylozy v škrobe. Nadmerné zrážky počas dozrievania zrna v lokalite Borovce sa prejavili v zvýšenej enzymovej aktivite  $\alpha$ -AMS.

Vplyv vegetačných rokov (2004 a 2005) sa hodnotil v 48 odrodách pšenice pestovaných v lokalite Borovce (tabuľka III). Roky sa výrazne líšili počasím, najmä počas vegetačného obdobia. V r. 2005 boli oproti r. 2004 vyššie priemerné teploty v máji a vysoké zrážky v júli, čo výrazne zhoršilo chlebo-pekársku kvalitu pšenice. Odrody pšenice v r. 2005 mali vyšší obsah škrobu aj vyššiu aktivitu  $\alpha$ -AMS, pričom podiel amylozy v škrobe sa nezmenil.

V tabuľke IV sú zhrnuté výsledky jednotlivých odrôd pšenice ako priemerná hodnota zo 4 lokalít. Odroda Pavlina mala najvyšší obsah škrobu vo všetkých hodnotených lokalitách a Veldava mala zo všetkých odrôd vo všetkých lokalitách najvyššiu aktivitu  $\alpha$ -AMS. Aktivita tohto enzýmu bola ovplyvnená viac odrodou než lokalitou; bola vyššia pri odrodách s horšou potravinárskou kvalitou (odrody 1 až 8). Daždivé počasie počas dozrievania zrna v Borovciach viac zvýšilo aktivitu  $\alpha$ -AMS v odrodách s nižšou kvalitou než v odrodách s dobrou chlebo-pekárskou kvalitou. Podiel amylozy v škrobe bol nižší v odrodách s dobrou chlebo-pekárskou kvalitou (odrody 9 až 16).

Na základe hodnotenia obsahu a zloženia škrobu a aktivity  $\alpha$ -AMS sú pre produkciu bioetanolu veľmi perspektívne nové slovenské odrody pšenice Pavlina (vysoký obsah škrobu) a Veldava (vysoká aktivita  $\alpha$ -AMS).

Tabuľka I  
Vplyv plodiny na parametre škrobu v zrne (Borovce 2005)

Plodina	Škrob [%]			Amylóza [% škrobu]			$\alpha$ -Amyláza [ $\text{U g}^{-1}$ ]		
	priemer $\pm$ SD	Min.	Max.	priemer $\pm$ SD	Min.	Max.	priemer $\pm$ SD	Min.	Max.
Pšenica	69,90 $\pm$ 1,65	67,18	73,68	26,48 $\pm$ 0,94	24,32	27,95	113,19 $\pm$ 28,56	73,91	205,38
Raž	70,38 $\pm$ 2,47	64,81	73,41	22,02 $\pm$ 1,49	19,68	24,18	167,16 $\pm$ 33,01	127,45	242,17
Tritikale	69,61 $\pm$ 3,15	60,88	73,55	23,02 $\pm$ 0,83	21,32	24,18	182,34 $\pm$ 51,55	118,56	278,97

Pozn.: SD – smerodajná odchýlka

Tabuľka II  
Vplyv lokality na parametre škrobu v pšeničnom zrne (2006)

Lokalita	Škrob [%]			Amylóza [% škrobu]			$\alpha$ -Amyláza [ $\text{U g}^{-1}$ ]		
	priemer $\pm$ SD	Min.	Max.	priemer $\pm$ SD	Min.	Max.	priemer $\pm$ SD	Min.	Max.
Vígľaš-Pstruša	65,07 $\pm$ 2,86	56,56	70,11	25,40 $\pm$ 1,25	23,32	27,82	133,69 $\pm$ 20,93	103,19	172,30
Michalovce	64,84 $\pm$ 2,84	59,39	69,32	25,57 $\pm$ 1,20	23,41	27,45	131,06 $\pm$ 21,41	102,54	170,97
Borovce	62,80 $\pm$ 1,15	61,01	64,52	24,96 $\pm$ 0,91	23,60	26,36	146,25 $\pm$ 31,66	100,86	202,41
Malý Šariš	64,35 $\pm$ 2,11	60,58	67,10	25,17 $\pm$ 0,81	23,89	26,50	128,63 $\pm$ 19,56	107,25	165,32

Pozn.: SD – smerodajná odchýlka

Tabuľka III  
Vplyv vegetačného roka na parametre škrobu v pšeničnom zrne (Borovce)

Rok	Škrob [%]			Amylóza [% škrobu]			$\alpha$ -Amyláza [U g <sup>-1</sup> ]		
	priemer $\pm$ SD	Min.	Max.	priemer $\pm$ SD	Min.	Max.	priemer $\pm$ SD	Min.	Max.
2004	63,29 $\pm$ 2,01	59,73	67,32	23,26 $\pm$ 2,33	18,41	28,61	116,90 $\pm$ 21,03	89,33	174,08
2005	65,25 $\pm$ 1,74	62,07	68,93	23,13 $\pm$ 2,52	18,18	28,77	139,07 $\pm$ 23,97	95,82	192,19

Pozn.: SD – smerodajná odchýlka

## Diskusia

Liehová politika siaha na našom území už do obdobia existencie Rakúsko-Uhorska<sup>25</sup>. V súčasnosti sa u nás na výrobu liehu spracováva cukrová repa, kukurica, pšenica, tritikale, prípadne raž<sup>26–28</sup>. Pestovaniu pšenice, tritikale a raže na energetické účely sa u nás už dávnejšie venuje pozornosť<sup>29–30</sup>. Z parametrov, ktoré významne ovplyvňujú produkciu etanolu, sa v nich však zatiaľ hodnotil iba obsah škrobu (prípadne aj bielkovín) v sušine zrna<sup>31</sup>. Popísal sa významný vplyv typu pôdy, predplodiny, hnojenia aj ošetrovania pesticídmi na obsah škrobu vo viacerých odrodách pšenice pestovaných vo viacerých lokalitách<sup>29</sup>.

V našej práci sme zhodnotili pomerne veľký súbor odrôd pšenice z hľadiska troch dôležitých parametrov pre účinnú alkoholovú fermentáciu: obsah aj zloženie škrobu a aktivita  $\alpha$ -AMS, ktorá hrá významnú úlohu v degradácii škrobu. Zistené hodnoty obsahu škrobu v troch hodnotených obilninách a v ich odrodách (od 56,56 do 73,68 %) sú porovnateľné s výsledkami iných autorov<sup>26,29</sup> napriek tomu, že sme hodnotili iné odrody, pestované v iných vegetačných rokoch aj v iných lokalitách (tabuľky I–III). Nezistili sme štatisticky významný rozdiel v priemernom obsahu škrobu medzi pšenicou, ražou a tritikale. Obilniny sa však významne líšili podielom amylozy v škrabe aj enzýmovou aktivitou  $\alpha$ -AMS. Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že na etanolovú fermentáciu je tritikale vhodnejšie než pšenica alebo raž, zvlášť niektoré jeho odrody: Asper, Kendo, Largus, Presto, Radko, Tricolor a Woltario. Tieto odrody majú vyšší obsah škrobu, vyšší podiel amylopektínu aj vyššiu autoamylytickú aktivitu ( $\alpha$ -AMS).

Nepriaznivé počasie počas vegetačného obdobia a pestovanie v lokalitách s vyššou nadmorskou výškou a nižšou priemernou ročnou teplotou zhoršujú chlebopekársku kvalitu pšenice. Z hľadiska dosiahnutia vysokého obsahu škrobu sú však tieto faktory priaznivé.

V súčasnosti sú už známe parametre, ktoré priamo ovplyvňujú produkciu bioetanolu<sup>32–36</sup>. Patria k nim: vysoký obsah škrobu, schopnosť rýchleho stekúvania škrobových suspenzií a ich nízka viskozita po ukončení procesu a vysoká rýchlosť a účinnosť fermentácie. Ojedinele sa objavili informácie o niektorých *waxy* odrodách kukurice a o transgénnom *waxy* zemiaku (majú škrob bez amylozy) ako mimoriadne vhodných zdrojoch na produkciu etanolu.

V ostatnom čase sa intenzívne študuje kinetika hydro-

lyzy škrobu vo vzťahu k podielu amylozy a amylopektínu v ňom. Hĺbka hydrolyzy škrobu a hodnota DE (dextrózového ekvivalentu) procesu sa zvyšuje v poradí: 100% amyloza < vysoký obsah amylozy < obsah amylozy bežný v natívnych škrobových substrátoch < 0 % amylozy (= 100% amylopektín)<sup>37</sup>.

Iní autori tiež zistili v škraboch bez amylozy vyššiu rýchlosť aj vyšší stupeň hydrolyzy než v škraboch s normálnym alebo zvýšeným podielom amylozy<sup>38–43</sup>. V zhode s tým sa zistilo, že proces hydrolyzy prebieha rýchlejšie v malých škrobových granulách typu B (cit.<sup>44</sup>), ktoré majú nižší obsah amylozy.

Vyšší obsah amylopektínu zapríčiňuje vysokú schopnosť škrobu napučiať a viazať vodu, ale prítomnosť komplexu amylozy s lipidmi túto schopnosť negatívne ovplyvňuje<sup>45,46</sup>. Teplotný interval mazovatenia posúva do oblastí vyšších teplôt<sup>47</sup>. Okrem toho vysoký podiel amylozy spôsobuje odolnosť škrobu voči enzymatickému štiepeniu  $\alpha$ -amylázou<sup>48</sup>. Línie jačmeňa s génom *amol* majú zvýšený podiel amylozy v škrabe a zároveň nevyhovujúcu sladovnícku kvalitu<sup>49</sup>. Okrem toho tieto línie majú významne zníženú aktivitu  $\beta$ -AMS, ktorá je jedným z ukazovateľov sladovníckej kvality jačmeňa.

Z našich výsledkov je zrejme, že registrované slovenské a české odrody pšenice majú v škrabe približne rovnaký podiel amylozy (19–28 %). Nenašli sme odrodu, ktorá má oproti ostatným v škrabe významne znížený podiel amylozy. Okrem toho sme zistili, že podiel amylozy neovplyvnila lokalita ani ročník. Z týchto výsledkov vyplýva, že obsah amylozy je podmienený iba geneticky. Možno ho znížiť napríklad krížením pestovaných odrôd pšenice s mutovanými *waxy* líniami, ktoré majú škrob bez amylozy.

Niektoré odrody pšenice majú veľmi vhodné hodnoty ďalších parametrov, ktoré podporujú hydrolyzu: vysoký obsah škrobu a vysokú aktivitu  $\alpha$ -AMS. Screeningom celého radu odrôd pšenice sme zistili, že mimoriadne vhodné parametre pre produkciu etanolu majú nové slovenské odrody Pavlina a Veldava, ktoré boli šľachtené za účelom dosiahnutia vysokého obsahu škrobu v zrne. Obe boli vyšľachtené na Výskumno-šľachtiteľskej stanici Vigfaš-Pstruša. Odroda Pavlina vykazovala vysoký obsah škrobu a Veldava vysokú aktivitu  $\alpha$ -AMS vo všetkých hodnotených lokalitách. Tieto odrody sú veľmi vhodné pre molekulárne šľachtenie s cieľom získať línie pšenice

Tabuľka IV  
Vplyv odrody na priemerné hodnoty (zo 4 lokalít) parametrov škrobu

Odroda	Škrob [%]	$\alpha$ -AMS [U g <sup>-1</sup> ]	Amylóza [% škrobu]
1 – Torysa	65,03	157	25,73
2 – Malvína	63,43	157	24,77
3 – Malyska	65,28	147	25,20
4 – Markola	65,56	149	26,40
5 – Pavlina	66,83	143	26,23
6 – Veldava	64,82	178	25,93
7 – Mladka	64,23	167	24,62
8 – Venistar	64,74	149	26,23
9 – Akteur	64,01	116	25,93
10 – Vanda	65,15	118	25,76
11 – Sulamit	60,59	120	25,60
12 – Ilona	63,46	115	25,02
13 – Ilias	65,36	104	24,29
14 – Cubus	63,35	112	23,74
15 – Barroko	62,67	119	23,99
16 – Petrana	63,67	111	24,90
LSD <sub>0,05</sub>	–	10,43	1,07
$\bar{x}$	64,26	135	25,27

Pozn.:  $\bar{x}$  – aritmetický priemer zo všetkých odrôd pšenice, LSD<sub>0,05</sub> – najmenšia štatisticky významná odchýlka na hladine  $\alpha = 0,05$

s vysokým obsahom škrobu bez amyλόzy.

Škrob bez amyλόzy možno získať zablokovaním enzýmovej aktivity škrobovej syntetázy viazanej na granuly (GBSSI), ktorá je v pšenici podmienená tromi génmi *WAXY*: *Wx-A<sub>1</sub>* (krátke rameno 7A chromozómu), *Wx-B<sub>1</sub>* (dlhé rameno 4A chromozómu) a *Wx-D<sub>1</sub>* (krátke rameno 7D chromozómu). Tieto gény môžu mať normálne (funkčné) alebo mutované (nefunkčné, tzv. nulové) alely. Ak sa v genóme pšenice nachádzajú iba funkčné *waxy* alely, aktivita GBSSI je normálna a vzniká normálne množstvo amyλόzy. Prítomnosť mutovanej *waxy* alely však spôsobí výrazné zníženie aktivity GBSSI, preto vzniká menej amyλόzy. Obsah amyλόzy je nepriamo úmerný počtu mutovaných *waxy* alel. V prítomnosti všetkých troch nulových *waxy* alel sa podiel amyλόzy v škrobe zníži až na nulovú hodnotu<sup>13,50</sup>. Prirodzený výskyt mutovaných *waxy* alel je pomerne nízky a je podmienený geograficky.

V šľachtiteľských programoch sa ako donory nulových *waxy* alel celosvetovo používajú prirodzené *waxy* mutanty pšenice: japonská odroda Kanto 107 s dvoma nulovými *waxy* alelami (*Wx-A<sub>1</sub>* a *Wx-B<sub>1</sub>*) a čínska odroda BaiHuo (prípadne BaiHuoMai) s veľmi vzácnou nulovou alelou *Wx-D<sub>1</sub>*.

Na základe našich výsledkov predpokladáme, že mo-

lekulárnym šľachtením (princíp selekcie pomocou molekulárných PCR markerov viazaných s génmi) možno z odrôd pšenice Pavlina alebo Veldava získať novú líniu bez amyλόzy. Takáto línia bude mať podľa literárnych údajov zvýšenú rýchlosť aj hĺbku hydrolýzy a bude preto veľmi vhodná pre produkciu bioetanolu.

## Záver

- 1) Niektoré odrody tritikale (Asper, Kendo, Largus, Presto, Radko, Tricolor, Voltario) majú v porovnaní s odrodami pšenice a raže vyššiu enzýmovú aktivitu  $\alpha$ -AMS, vyšší obsah škrobu a nižší podiel amyλόzy. Sú preto veľmi vhodné pre etanolovú fermentáciu. Perspektívna je aj nová línia tritikale TC 16/04 z Výskumno-šľachtiteľskej stanice Vígľaš-Pstruša.
- 2) Lokalita Vígľaš-Pstruša je mimoriadne vhodná na produkciu pšenice a tritikale s vysokým obsahom škrobu.
- 3) Daždivé počasie počas dozrievania zrna významne zvyšuje obsah škrobu aj enzýmovú aktivitu  $\alpha$ -AMS v zrne pšenice.
- 4) Pre produkciu palivového etanolu sú perspektívne

nové slovenské odrody pšenice Pavlina a Veldava. Obe odrody majú najlepšie hodnoty parametrov, ktoré podporujú hydrolýzu škrobu, sú preto veľmi vhodné pre molekulárne šľachtenie s líniami pšenice s nulovými *waxy* alelami.

*Autori ďakujú Ing. P. Hauptvoglovi, PhD. a Ing. L. Rückschlossovi za poskytnutie rastlinného materiálu a S. Hruščíkovej za pomoc pri chemických analýzach.*

## LITERATÚRA

- Preiss J.: *Oxf. Surv. Plant Mol. Cel. Biol.* 7, 59 (1991).
- Morrison W. R., Karkalas J.: Starch. In: *Methods in Plant Biochemistry* 2, s. 323. Academic Press, London 1990.
- Hanashiro I., Takeda Y.: *Carbohydr. Res.* 306, 421 (1998).
- Mua J. P., Jackson D. S.: *J. Agric. Food Chem.* 45, 3840 (1997).
- Buléon A., Colonna P., Planchot V., Ball S.: *Int. J. Biol. Macromol.* 23, 85 (1998).
- Takeda Y., Shibahara S., Hanashiro I.: *Carbohydr. Res.* 338, 471 (2003).
- Bertolini A. C., Souza E., Nelson J. E., Huber K. C.: *Cereal Chem.* 80, 544 (2003).
- Tester R. F., Karkalas J., Qi X.: *J. Cereal Sci.* 39, 151 (2004).
- Sasaki T.: *Jpn. Agric. Res. Quart.* 39, 253 (2005).
- Smith A. M., Denyer K., Martin C.: *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48, 67 (1997).
- Morell M. K., Rahman S., Regina A., Appels R., Li Z.: *Euphytica* 119, 55 (2001).
- James M. G., Denyer K., Myers A. M.: *Curr. Opin. Plant Biol.* 6, 215 (2003).
- Shure M., Wessler S., Federoff N.: *Cell* 35, 225 (1983).
- Stinard P. S., Robertson D. S., Schnable P. S.: *Plant Cell* 5, 1556 (1993).
- Burton R. A., Bewley J. D., Smith A. M., Bhattacharyya M. K., Tatge H., Ring S., Bull V., Hamilton W. D. O., Martin C.: *Plant J.* 7, 3 (1995).
- Graybosch R. A.: *Trends Food Sci. Tech.* 9, 135 (1998).
- Graybosch R. A., Baenziger P. S.: *Crop Sci.* 44, 2273 (2004).
- Graybosch R. A., Peterson C. J., Hansen L. E., Rahman S., Hill A., Skerritt J. H.: *Cereal Chem.* 75, 162 (1998).
- Graybosch R. A., Souza E. J., Berzonsky W. A., Baenziger P. S., Chung O. K.: *J. Cereal Sci.* 38, 69 (2003).
- Graybosch R. A., Souza E. J., Berzonsky W. A., Baenziger P. S., McVey D. J., Chung O. K.: *Crop Sci.* 44, 1491 (2004).
- Graybosch R. A., Souza E. J., Berzonsky W. A., Baenziger P. S., McVey D. J., Chung O. K.: *Crop Sci.* 44, 1492 (2004).
- Rahman S., Li Z., Batey I., Cochrane M. P., Appels R., Morell M.: *J. Cereal Sci.* 31, 91 (2000).
- Regina A., Bird A., Topping D., Bowden S., Freeman J., Barsby T., Kosar-Hashemi B., Li Z., Rahman S., Morell M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 3546 (2006).
- Jobling S.: *Curr. Opin. Plant Biol.* 7, 210 (2004).
- Petr J.: *Úroda* 52, 21 (2004).
- Šimůnek P.: *Úroda* 44, 25 (1996).
- Tichý F., Hubík K.: *Farmář* 6, 21 (2000).
- Kunteová L.: *Úroda* 48, 28 (2000).
- Petr J., Novotná D., Capouchová I., Faměra O.: *Rostl. Výroba* 45, 145 (1999).
- Tichý F., Hubík K.: *Farmář* 4, 13 (1998).
- Petr J.: *Úroda* 54, 19 (2006).
- Wu X., Zhao R., Wang D., Bean S. R., Seib P. A., Tuinstra M. R., Campbell M., O'Brien A.: *Cereal Chem.* 83, 569 (2006).
- Wu X., Zhao R., Bean S. R., Seib P. A., McLaren J. S., Madl R. L., Tuinstra M., Lenz M. C., Wang D.: *Cereal Chem.* 84, 130 (2007).
- Rosenberger A.: *Zuckerindustrie* 130, 697 (2005).
- Rosenberger A., Kaul H. P., Senn T., Aufhammer W.: *Ind. Crops Prod.* 15, 91 (2002).
- Rosenberger A., Kaul H. P., Senn T., Aufhammer W.: *J. Agronom. Crop Sci.* 185, 55 (2000).
- Jendleman J. A.: *Biotechnol. Appl. Biochem.* 31, 171 (2000).
- Anker-Nilssen K., Faergestad E. M., Sahlström S., Uhlen A. K.: *Anim. Feed Sci. Technol.* 130, 3 (2006).
- Hiele M., Ghooys Y., Rutgeerts P., Vantrappen G., de Buyser K.: *Gut* 31, 175 (1990).
- Barredo Moguel L. H., Rojas de Gante C., Serna Saldivar S. O.: *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 59, 24 (2001).
- Kabir M., Rizkalla S. W., Champ M., Luo J., Boillot J., Bruzzo F., Slama G.: *J. Nutr.* 128, 35 (1998).
- Noda T., Kimura T., Otani M., Ideta O., Ideta O., Shimada T., Saito A., Suda I.: *Carbohydr. Polym.* 49, 253 (2002).
- Noda T., Nishiba Y., Sato T., Suda I.: *Cereal Chem.* 80, 193 (2003).
- Stevnebo A., Sahlström S., Svihus B.: *Anim. Feed Sci. Technol.* 130, 23 (2006).
- Słomińska L., Wiśniewska D., Grześkowiak A.: *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 2, 17 (2003).
- Nebesny E., Rosicka J., Tkaczyk M.: *Starch/Stärke* 54, 603 (2002).
- Sasaki T., Yasui T., Matsuk J., Satake T.: *Cereal Chem.* 79, 861 (2002).
- Evans A., Thompson D. B.: *Cereal Chem.* 81, 31 (2004).
- Swanston J. S., Ellis R. P., Stark J. R.: *J. Cereal Sci.* 22, 265 (1995).
- Morris C. F., Konzak C. F.: *Crop Sci.* 41, 934 (2001).

**D. Mikulíková<sup>a</sup>, V. Horváthová<sup>b</sup>, and A. Žofajová<sup>a</sup>**  
(<sup>a</sup> *Research Institute of Plant Production, Piešťany, Slovak Republic*, <sup>b</sup> *University of SS. Cyril and Methodius, Trnava, Slovak Republic*): **Starch Level and Composition of Wheat, Rye and Triticale Grains**

The aim of the present study was to evaluate the influence of genetic and environmental factors on main wheat grain parameters important in bioethanol production – starch content, amylose/amylopectin ratio, and  $\alpha$ -amylase ( $\alpha$ -AMS) activity. Forty-eight wheat cultivars from two different years and 16 cultivars from four Slovak regions were assessed. In addition, the parameters of

wheat, rye and triticale were compared. Differences between individual cereals and their cultivars in all three parameters were found. The highest starch content was observed in wheat cultivars grown in the locality Vígľaš-Pstruša. The starch content and  $\alpha$ -AMS activity were markedly high at low temperatures and with more rainfall during grain maturation. The locality and year did not affect the amylose/amylopectin ratio. From the viewpoint of evaluated parameters, new Slovak cultivars Pavlina and Veldava offer good prospects in bioethanol production. Both the cultivars show high starch and amylopectin contents and the  $\alpha$ -AMS activity.