

Průzkum odrůdové čistoty merkantilních vzorků pšenice a ječmene (1997–2009)

(Testing of variety purity of commercial wheat and barley samples, 1997–2009)

Jana Bradová, Lenka Štočková

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Drnovská 507, 161 06 Praha

Souhrn

V letech 1997–2009 byla metodou elektroforézy gladinů pšenice resp. hordeinů ječmene testována odrůdová čistota merkantilních vzorků pšenice resp. ječmene, dodaných pěstiteli přímo od kombajnu z výrobních oblastí celé České republiky. Průměrný počet odrůdově čistých vzorků u pšenice bylo 68% a u ječmene se podíl čistých vzorků pohyboval v průměru okolo 75%. Nejvyšší podíl vzorků odpovídajících deklaraci vykazovala odrůda ječmene Sebastian (90%) a odrůda pšenice Mulan (91%). Vliv odrůdy na podíl správně deklarovaných vzorků byl statisticky významný, zatímco vliv ročníku nebyl prokázán.

Klíčová slova: pšenice, ječmen, odrůdová čistota, odrůdová pravost, elektroforéza

Abstract

Electrophoretic methods of wheat gliadins and barley hordeins were used for a testing of variety purity of commercial wheat and barley samples supplied by producers straightforward from harvester-threshers from production areas of the whole Czech Republic in 1997–2009. The results document fluctuations in variety purity of mercantile samples of both wheat and barley in the particular years. The average number of pure samples amounted to 68% in wheat while the proportion of pure samples in barley ranged about 75% on average. The highest portion of corresponding samples to the declaration was evidenced by barley variety Sebastian (90%) and wheat variety Mulan (91%). The influence of variety on a portion of right declared samples was statistically significant, while the influence of year was not found.

Key words: wheat, barley, variety purity, variety trueness, electrophoresis

Úvod

Obilniny, zvláště pšenice a ječmen, jsou nejrozšířenější a hospodářsky nejdůležitější skupinou kulturních rostlin, které slouží lidstvu jako potravina, surovina pro přípravu krmiv i k mnohým dalším účelům. Hlavní produkt – zrno – lze použít současně jako tržní produkt pro zpracovatelský průmysl i jako osivo a naopak chemicky neošetřené osivo je možné v případě nadbytku zužitkovat pro účely potravinářské, krmivářské a další.

Na jakost produkce, jejíž nedílnou součástí je i záruka odrůdové pravosti a odrůdové čistoty, je kladen stále větší důraz. Právě odrůda představuje významný výrobní prostředek pro rostlinnou výrobu a je současně považována za spolehlivou záruku vytváření dědičných znaků a agronomických, nutričních a technologických vlastností. Každá odrůda se vyznačuje specifickým souborem vlastností, které rozhodují o jejím využití. Je proto v zájmu výrobců osiv, sadby, i v zájmu pěstitelů, nákupu, zpracovatelského průmyslu, vnitřního a zahraničního obchodu používat jen správně zvolené a spolehlivě určené odrůdy.

Stávající metody stanovení odrůdové pravosti a čistoty, používané při kontrole osiv, jakož i při nákupu a zpracování merkantilních dávek, jsou založeny na posuzování souboru morfofiziologických znaků a vlastností rostlin hodnocených ve vegetačních zkouškách. Tento způsob je však časově náročný a neumožňuje rychlou a plně spolehlivou, vnějšími faktory neovlivnitelnou identifikaci odrůdy. Proto se stále zdokonalují stávající a vyvíjí nové objektivní metody spolehlivé identifikace odrůd.

Nespolehlivější lze genotypy pšenice a ječmene identifikovat na základě genetických markerů, které jsou obecně definovány jako fenotypový znak, jehož projev je dán jednoznačným vztahem k přítomnosti určité alely na kontrolovaném genovém lokusu.

Genetické biochemické markery se musí vyznačovat dostatečnou genetickou a jí odpovídající fenotypovou variabilitou, vysokou expresivitou a penetrací, vysokou heritabilitou, tj. nezávislostí na podmínkách prostředí, a možností jejich přesné detekce elektroforetickými technikami (Černý a Šašek, 1996). Nejpřesnější identifikaci genotypu je možno získat na úrovni DNA (Prasad et al. 2000, Fernandez et al. 2002). Metody využívající DNA markerů k identifikaci odrůd jsou však v současné době stále ještě značně finančně, časově i technicky dosti náročné na rozdíl od metod využívajících k identifikaci zásobních bílkovin, které velmi dobře splňují kritéria pro genetické markery, neboť se vyznačují vysokým stupněm geneticky fixovaného polymorfismu, kodominantní dědičností, rozlišitelností alel v individuích a vysokou mírou nezávislosti na vnějších podmínkách (Bradová et al., 2001, Vyhnaněk a Bednář, 2003, Gregová et al. 2007, Šašek et al. 1998).

V biochemických laboratořích se ke studiu polymorfismu zásobních bílkovin běžně používá elektroforéza v gelových nosičích (škrobový nebo polyakrylamidový gel). Výsledkem elektroforézy je elektroforetické spektrum bílkovin – soustava jednotlivých pruhů bílkovinných složek obarvených na nosiči (gelu). Elektroforetická spektra lze vyjádřit pomocí tzv. elektroforetického alelického vzorce na základě identifikace známých alel daných lokusů (genetická interpretace), (Šašek et al., 2000, Metakovský, 1991) nebo měřením polohy (relativní elektroforetické mobility – REM) jednotlivých pruhů (biochemická interpretace), (Vyhnaněk a Bednář, 2002). Výsledky elektroforézy je možno také zpracovávat softwarově speciálními programy. Základem využívání elektroforézy bílkovinných genetických markerů pro identifikaci odrůd jsou vzorová elektroforetická spektra bílkovin jednotlivých odrůd – etalonů. Pro identifikaci odrůd pšenice resp. ječmene elektroforetickou analýzou

zásobních, resp enzymatických bílkovin zrna je nezbytná znalost případného polymorfismu v elektroforetické skladbě bílkovinných genetických markerů (pšenice – gliadiny a gluteniny; ječmen – hordeiny, esterázy). V případě polymorfních (heterogenních) odrůd je jejich genetická struktura charakterizována počtem bílkovinných linií a jejich podílem v odrůdě, kdy relativní zastoupení jednotlivých bílkovinných linií u těchto odrůd je významné pro kontrolu jejich odrůdové pravosti a čistoty.

Materiál a metody

V letech 1997–2005 byly merkantilní vzorky pšenice a ječmene našemu pracovišti poskytovány Zemědělským výzkumným ústavem Kroměříž, s.r.o. Od roku 2006 byly dodávány firmou Agrotest, zemědělské zkušebnictví poradenství a výzkum, s.r.o. v rámci výzkumného projektu MZe NAZV č. QG50041 „Faktory kvality a bezpečnosti potravinářských obilovin“. Jednalo se vždy o cca 10 nejběžněji v ČR pěstovaných odrůd pšenice a ječmene. K testování odrůdové pravosti a odrůdové čistoty byly vytipovány nejběžněji pěstované odrůdy pšenice a ječmene (cca 10 odrůd pšenice a 10 odrůd ječmene) podle velikosti přihlášených množitelských ploch v příslušném roce (ÚKZÚZ). Vzorky byly odebírány přímo od pěstitelů tak, aby byly zastoupeny pokud možno všechny výrobní oblasti České republiky. Ročně bylo kontrolované v průměru 100 vzorků pšenice a 100 vzorků ječmene.

K orientační kontrole odrůdové pravosti a odrůdové čistoty byla použita metoda elektroforézy prolaminových bílkovin zrna pšenice a ječmene podle ČSN 46 1085 – 1,2 z roku 1998. Zjištěná odrůdová čistota byla rozdělena do 3 skupin. Do 1. skupiny byly zařazeny vzorky, kde byla zjištěna deklarovaná odrůda v 100%

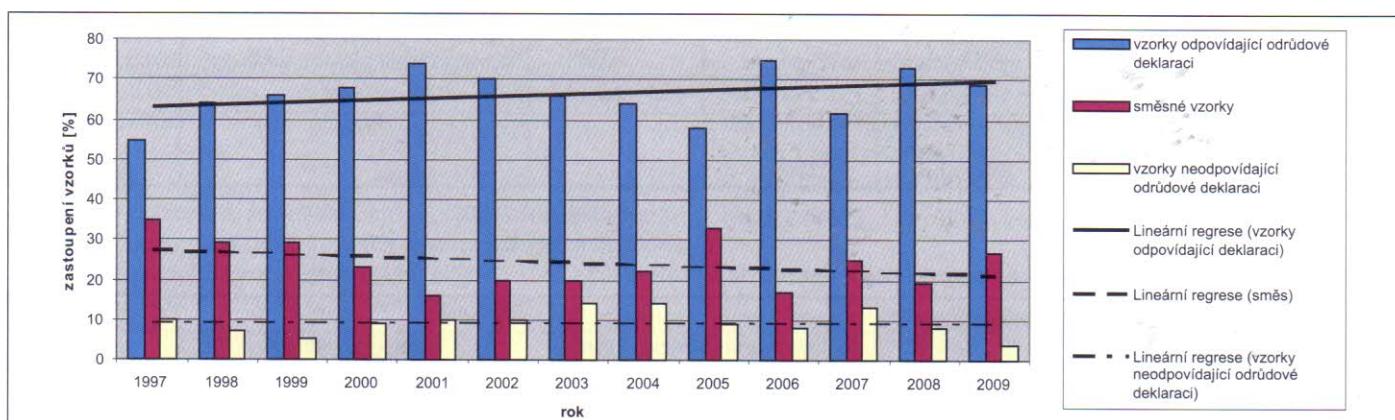
čistotě. 2. skupina zahrnovala vzorky, kde deklarovaná odrůda byla zastoupena ve směsi s ostatními odrůdami a 3. skupinu tvořily vzorky, které odrůdové deklaraci neodpovídaly.

Vliv jednotlivých faktorů na podíl vzorků byl stanoven pomocí dvoufaktorové analýzy rozptylu bez opakování, pro určení trendu podílů odpovídajících, neodpovídajících a směsných vzorků byla použita prostá lineární regrese metodou nejmenších čtverců.

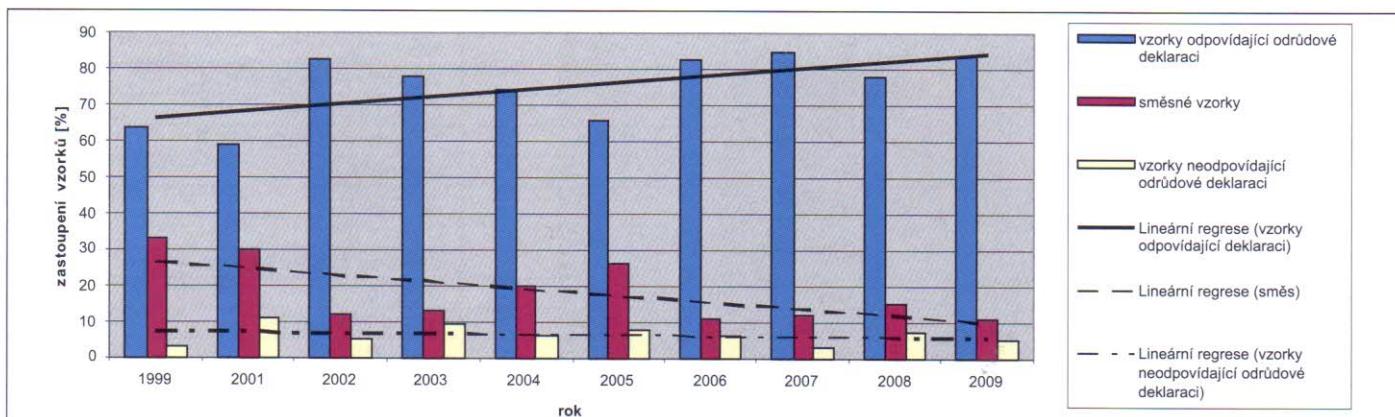
Výsledky a diskuse

Mezinárodní semenářská organizace ISTA (International Seed Testing Association) doporučuje využití polymorfismu zásobních proteinů v obilovinách k určení odrůdové čistoty, avšak nespecifikuje limitní hodnoty zastoupení odrůdových příměsí v hodnocené odrůdě (ISTA 1999). Pokud se jedná o velké dávky pšenice či ječmene, u nichž je nutno určit homogenitu či heterogenitu, tzn. odrůdové složení, je možno k tomuto účelu využít statistickou analýzu na základě konfidenčních limitů (Černý a Šašek, 1998). V naší laboratoři bylo vzhledem k velkému počtu vzorků orientačně analyzováno šest jednotlivých zrn z každého vzorku.

Obr. 1 a 2 prezentují výsledky všech sledovaných ročníků kontroly deklarovaných vzorků pšenice a ječmene. Průměrný podíl vzorků ječmene zcela odpovídajících deklarované odrůdě byl přibližně 75%, přičemž hodnoty vykazovaly ve sledovaném období stoupající trend. Variabilita, vyjádřená směrodatnou odchylkou výběru byla necelých 10%. Zatímco podíl vzorků ječmene s příměsí ve sledovaném období klesal odpovídajícím způsobem, procento vzorků neodpovídajících vůbec odrůdové deklaraci kolísalo kolem průměrné hodnoty 6% s variabilitou 2,5%. Vzorky pšenice odpovídaly plně deklarované odrůdě



Obr. 1: Odrůdová čistota vzorků pšenice (1997–2008)



Obr. 2: Odrůdová čistota vzorků ječmene (1999–2008)

v 68%, přičemž variabilita podílu plně odpovídajících vzorků byla 5,5%. Podobně jako u souboru sledovaných vzorků ječmene byl trend hodnot u souboru vzorků pšenice stoupající ve sledovaném období na úkor klesajícího počtu vzorků s příměsí jiné, než deklarované odrůdy. Počet vzorků neodpovídající odrůdové deklaraci nevykazoval žádný trend a osciloval kolem průměrné hodnoty 10% s variabilitou 3,1 %.

Hodnocení úrovně dodržování odrůdové pravosti u jednotlivých odrůd je poněkud zkresleno nestejným počtem vzorků odrůd zastoupených v souboru. Především u ječmene je toto zastoupení dosti nerovnoměrné s minimem jednoho vzorku odrůdy Blaník a maximem stojedenácti vzorků odrůdy Jersey ve sledovaném období 2003–2009. V souboru pšenice je zastoupení rovnoměrnější s minimem šesti vzorků (Brea) a maximem 81 vzorků (Alana). Pokud z hodnocení vynecháme odrůdy zastoupené třemi a méně vzorky, tak v souboru vzorků ječmene má nejvyšší podíl odpovídajících vzorků odrůda Sebastian (90%) a z odrůd pšenice je to Mulan (91%). Analýza rozptylu ukázala, že vliv odrůdy na podíl správně deklarovaných vzorků je statisticky významný na hladině významnosti $\alpha = 0,05$, zatímco vliv ročníku prokázán nebyl (Tabulka 1).

Merkantilní vzorky ječmene se v průměru vyznačují všeobecně vyšší odrůdovou čistotou než merkantilní vzorky pšenice (rozdíl činí cca 10%), což je mimo jiné dáné i různými požadavky zpracovatelů (sladovny, mlýny) na odrůdovou čistotu výchozí suroviny.

Počet vzorků pšenice a ječmene, které neodpovídaly odrůdové deklaraci v letech 2003–2009, a některé konkrétní příklady jsou uvedeny v Tabulce 2. Nejvyšší počet těchto vzorků byl zjištěn u pšenice v roce 2007 (13) a pokud se týká ječmene v roce 2008 (8). Poměrně značný podíl neodpovídajících vzorků byl pak rovněž pozorován v letech 2003 a 2004. V roce 2009 byly analyzovány jako negativní pouze 4 vzorky pšenice a 5 vzorků ječmene. Současně nebyla prokázána záměna odrůd pšenice s pekařskou jakostí za odrůdy k pekařským účelům nevhodné a současně se nevyskytla záměna vzorků ječmene se sladovnickou kvalitou za vzorky nesladovnických odrůd, jako tomu bylo v předchozích letech. Poměrně vysoké procento směsných vzorků a vzorků jak pšenice, tak ječmene, které neodpovídaly deklaraci (Obr. 1, Obr. 2, Tabulka 2) během sledovaného období, bylo pravděpodobně dáné tím, že certifikovaná osiva pěstitelé nahrazovali farmářským osivem

Tabulka 1: Analýza rozptylu pro dva faktory (odrůda x rok) bez opakování

Plodina	Zdroj variability	SS	Rozdíl	MS	F	Hodnota P	F krit ($\alpha = 0,05$)
Pšenice	Odrůda	870,05	26	33,46	3,73	$3,25 \times 10^{-7}$	1,58
	Rok	10,42	5	2,08	0,23	0,95	2,28
	Chyba	1165,58	130	8,96			
	Celkem	2046,05	161				
Ječmen	Odrůda	1924,14	19	101,27	6,20	$1,36 \times 10^{-10}$	1,68
	Rok	41,54	6	6,92	0,42	0,86	2,18
	Chyba	1861,31	114	16,33			
	Celkem	3827,00	139				

Tabulka 2: Vzorky pšenice a ječmene neodpovídající deklarované odrůdě

Plodina	Rok	Celkový počet vzorků	Příklady	
			Deklarovaná odrůda (TPJ)	Nalezená odrůda (TPJ)
Pšenice	2009	4	Barryton (A)	Rheia (B)
	2008	8	Rheia (B)	Dromos (C)
	2007	13	Akteur (E)	Elpa (B), (2004*) Trane (C), (2004*)
	2006	8	Batis (A)	Contra (C)
	2005	6	Nela (A)	NG (- **)
	2004	12	Alana (A)	Windsor+Versailles (C,C)
	2003	10	Saskia (A)	Corso (B, jarní)
Ječmen			Deklarovaná odrůda (USJ)	Nalezená odrůda (USJ)
	2009	5	Prestige (5.2)	Jersey (4.9)
	2008	7	Diplom (6.7)	Tolar (2.1)
	2007	4	Diplom (9)	Diplom (9) Laverda (ozimý ječmen – **)
	2006	5	Tolar (7)	Malz (6)
	2005	3	Calgery (4)	ozimý ječmen (- **)
	2004	6	Scarlett (7)	Heris (N)
	2003	6	Amulet (6)	Heris (N)

Pozn.: TPJ – třída pekařské jakosti (ÚKZÚZ); USJ – ukazatel sladovnické kvality (ÚKZÚZ); * – rok vyrazení odrůdy z registrace;
** – nestanoveno; N – nesladovnický; NG – neznámý genotyp (nevyskytuje se v listině registrovaných odrůd)

Tabulka 3: Průměrná struktura osiv (2002–2008) v porovnání s průměrnou odrůdovou čistotou (2002–2009)

Plodina	Certifikovaná osiva (%)	Farmářská osiva (%)	Ilegální osiva (%)	Vzorky odpovídající odr. deklaraci (%)
Ozimá pšenice	66	14	20	68
Jarní ječmen	74	13	13	75

a zejména tzv. černým osivem (Houba a Hosnedl, 2002), neprošlým uznávacím řízením a tedy nelegálně obchodovaným některými firmami. Necertifikovaná osiva jsou zpravidla charakterizovaná vyšším podílem odrůdových příměsí, což zároveň snižuje i jeho ekonomickou hodnotu.

Úroveň používání certifikovaných osiv je určujícím faktorem kvality produkce (Rosenberg L., 2009). Odrůdová čistota s používáním certifikovaného osiva přímo souvisí, jak naznačuje Tabulka 3, která ukazuje průměrnou strukturu certifikovaných osiv ozimé pšenice a jarního ječmene v dlouhodobém časovém úseku (2002–2008) v porovnání s průměrnými hodnotami odrůdové čistých merkantilních vzorků. V případě pšenice Šašek et al.(1999) uvádí, že přítomnost příměsí nepotravinářských (C), případně chlebových (B) odrůd v rozsahu cca 20–30% může výrazně snížit pekařskou jakost odrůd pšenice třídy E (elitní) a A (kvalitní).

Uskutečněné průzkumy upozorňují na poměrně vysoký podíl ať už vědomých, či nevědomých záměn, či vysoký podíl odrůdových příměsí u merkantilních dávek pšenice a ječmene. Odrůda je jedna z nejvýznamnějších intenzifačních faktorů zemědělské výroby a v rámci šlechtitelských programů je vynakládáno značné úsilí na vytvoření nových odrůd pšenice i ječmene tak, aby jejich vlastnosti vyhovovaly jak pěstitelům, tak zpracovatelům. Jedním z faktorů, jak zúročit tuto snahu, je právě používání čistých odrůd ve smyslu jejich pravosti.

Tato práce byla podpořena řešením výzkumného záměru MZe ČR č. 0002700604.

Literatura

- Bradová, S. Sýkorová, A. Šašek, Černý J. (2001): Identification of common barley varieties by parallel electrophoresis of hordeins and esterases. Rostlinná výroba. 47: 167–173
- Černý J., Šašek, A. (1998): Stanovení odrůdové pravosti pšenice a ječmene elektroforézou bílkovinných genetických markerů. Metodiky pro zemědělskou praxi. ÚZPI Praha.
- ČSN 46 1081 (1998): 1. Pšenice obecná a ječmen. Stanovení odrůdové pravosti a odrůdové čistoty, část 1: Elektroforéza bílkovin ve škrobovém gelu (SGE).
- ČSN 46 1081 (1998): 2. Pšenice obecná a ječmen. Stanovení odrůdové pravosti a odrůdové čistoty, část 2: Elektroforéza bílkovin v polyakrylamidovém gelu (PAGE).
- Fernandez M., Figueiras A., Benito C. (2002): The use of ISSR and RAPD markers for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity among barley cultivars with known origin. Tudor. Appl. Genet. 104: 845–851
- Gregová E., Mihálik D., Šliková S., Šramková Z. (2007): Allelic variation of HMW glutenin subunits and 1BL.1RS translocation in Slovak common wheats Cereal Res Comm 35: 1675–1683

- Houba M., Hosnedl V. (2002): Osivo a sadba, Praha.
- ISTA (1999): International rules for seed testing. VIII. Verification of species and cultivar: 41–43, 252–254.
- Metakovský E. V. (1991): Gliadin allele identification in common wheat. II. Catalogue of gliadin alleles in common wheat. J. Genet. Breed., 45: 325–344
- Prasad M., Varshney R. K., Roy J. K., Balyan H. S., Gupta P. K. (2000): The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. Theor. Appl. Genet. 100: 584–592
- Rosenberg L. (2009): Osiva a jejich struktura v České Republice. In: Osivo a sadba. ČZU, Praha
- Šašek, A., Černý, J., Bradová, J. (1998): Elektroforetická spektra gliadinů a VMH podjednotek gluteninů odrůd pšenice obecné, registrovaných v letech 1996 a 1997. Czech J. Genet Plant Breed. 34: 95–101
- Šašek A., Černý J., Humpolíková P., Pekárková J. (1999). Vliv odrůdové čistoty na jakost deklarovaných odrůd potravinářské pšenice. Rostlinná výroba. 45: 197–204
- Šašek, A., Černý, J., Sýkorová, S., Bradová, J. (2000): Inovované katalogy bílkovinných genetických markerů pšenice seté a ječmene. ÚZPI Praha.
- Výhnánek, 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

Kontaktní adresa autora: Ing. Jana Bradová, VÚRV, v.v.i., Praha 6-Ruzyně, Drnovská 507, 161 06 Praha 6,

E-mail: bradova@vurv.cz

Recenzováno



Foto: A. Pospíšil