

Antioxidační aktivita enzymu superoxiddismutasy v zru ječmene jarního

Antioxidant activity of superoxide dismutase in spring barley grain

NATÁLIE BŘEZINOVÁ BELCREDI¹, JAROSLAVA EHRENBARGEROVÁ¹, KATEŘINA VACULOVÁ²

¹ Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno / Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

² Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s. r. o., Havlíčkova 2787/121, 767 01 Kroměříž / Agricultural Research Institute Kroměříž, Ltd., Havlíčkova 2787/121, 767 01 Kroměříž, Czech Republic
e-mail: natalie.belcredi@mendelu.cz

Březinová Belcredi, N. – Ehrenbergerová, J. – Vaculová, K.: Antioxidační aktivita enzymu superoxiddismutasy v zru ječmene jarního. Kvasny Prum. 56, č. 3, s. 127–130.

Aktivita antioxidačního enzymu superoxiddismutasy (SOD) byla stanovena u vzorků zrna 12 odrůd a linií ječmene jarního vypěstovaného na dvou lokalitách (Žabčice, Kroměříž). V roce 2005, 2007 a 2008 byly polní pokusy založeny na lokalitě Žabčice ve dvou systémech pěstování (s aplikací pesticidů, bez aplikace pesticidů) a na lokalitě Kroměříž bez aplikace pesticidu. Aktivita SOD byla průkazně ovlivněna odrůdami/liniemi, lokalitami, roky a jejich interakcemi. Způsob ošetření neměl statisticky významný vliv na aktivitu SOD. Významně vyšší aktivita SOD ($P = 0,05$) byla u bezpluché linie KM 1057 (143 U.g^{-1} v sušině) oproti celému souboru z obou lokalit pěstování. Naopak významně nižší aktivitu měla bezpluchá odrůda Merlin (62 U.g^{-1} v sušině) ve srovnání s ostatními odrůdami/liniemi. Sladovnické odrůdy doporučené pro výrobu Českého piva Bojos a Tolar měly rovněž vyšší aktivitu SOD v zru.

Březinová Belcredi, N. – Ehrenbergerová, J. – Vaculová, K.: Antioxidant activity of superoxide dismutase in spring barley grain. Kvasny Prum. 56, No. 3, p. 127–130.

Activity of antioxidant enzyme superoxide dismutase (SOD) was assessed in grain samples of 12 varieties and lines of spring barley grown in two localities (Žabčice, Kroměříž). In 2005, 2007, and 2008 field experiments were established in the locality Žabčice in two growing systems (with the application of pesticides, without application of pesticides) and in the locality Kroměříž without the application of pesticide. Activity of SOD was significantly affected by the varieties/lines, localities, years and their interactions. The treatment method did not affect the SOD activity statistically significantly. Significantly higher activity SOD ($P = 0.05$) was in the hull-less line KM 1057 (143 U.g^{-1} in the dry matter) compared to the total set from both the growing localities. On the contrary, significantly lower activity was recorded in the hull-less variety Merlin (62 U.g^{-1} in the dry matter) compared to the other varieties/lines. Malting varieties recommended for production of Czech Beer, Bojos and Tolar, also had higher SOD activity in grain.

Březinová Belcredi, N. – Ehrenbergerová, J. – Vaculová, K.: Antioxidationsaktivität des Superoxiddismutasa-Enzyms im Sommergerstenskorn. Kvasny Prum. 56, Nr. 3, S. 127–130.

In den Kornmustern der 12 Sommergerstensorten und -linien, aus zwei Anbaugebieten Žabčice und Kroměříž stammen, wurde die Aktivität des Antioxidationsenzymes Superoxiddismutasa (SOD) ermittelt. Im Zeitraum 2005 und 2007–2008 wurden in Lokalität Žabčice in zwei Anbausystemen (mit und ohne Applikation von Pestiziden) und in Lokalität Kroměříž ohne Applikation von Pestiziden wurden die Versuche durchgeführt. Die SOD Aktivität wurde durch Gerstensorten/Linien, Lokalitäten, Jahrgängen und ihren Interaktionen erweisbar beeinflusst. Auf die SOD Aktivität hatte das Behandlungsverfahren statistisch keinen Einfluss. Die bedeutend höhere SOD Aktivität ($P = 0,05$) gegen der gesamten Kollektion aus den beiden Lokalitäten wurde bei der spelzenlose Sorte KM 1057 (143 U.g^{-1} in der Trockenmasse). Im Gegenteil bedeutend niedrigere SOD Aktivität ($P = 0,05$) im Vergleich mit den anderen Gerstensorten/Linien wies die Sorte Merlin (62 U.g^{-1} in Trockenmasse) auf. Die für die Bierherstellung des tschechischen Typs empfohlene Braugerstensorten Bojos und Tolar wiesen auch eine erhöhte SOD Aktivität auf. Die für die Herstellung des Tschechischen Bieres (Durch EU anerkannter Typ des Bieres) empfohlene Braugerstensorten Bojos und Tolar wiesen auch eine erhöhte SOD Aktivität auf.

Klíčová slova: ječmen, enzym, superoxiddismutasa, SOD, lokalita, ošetření

Keywords: barley, enzyme, superoxide dismutase, SOD, localities, treatment

1 ÚVOD

Zrno pluchatých odrůd ječmene se v České republice tradičně využívá pro výrobu sladu, ale již Bhatti [1] uvádí, že lze využívat ve sladovníctví i bezpluché formy ječmene, které porovnává s pšenicí určenou na pšeničný slad.

Oxidace během sladování a vaření piva má významný vliv na kvalitu piva. Oxidace může vytvářet zákaly, retikulaci (tvoření sítě) makromolekul, které mohou způsobovat problémy při filtraci piva a změny chuti. Slad resp. již zrno obsahuje chemické látky podléhající oxidaci (fenolické sloučeniny, nenasycené lipidy), ale také značné množství enzymů (katalasa, superoxiddismutasa, lipoxygenasa, peroxidasa aj.), které působí preventivně proti četným nežádoucím reakcím v pivovarství [2].

Výše jmenované antioxidační enzymy ochraňují organismus před jeho oxidačním poškozením aktivními formami kyslíku [3].

Enzym superoxiddismutasa (SOD) zabraňuje akumulaci superoxidových radikálů a katalyzuje jejich přeměnu na peroxid vodíku a kyslík [2, 3, 4, 5, 6]. Malé množství superoxidu vzniká i při sladování a vede k vytvoření velice reaktivního hydroxylového radikálu [4], který je považován za hlavního iniciátora škodlivých efektů na biochemické systémy buněk a ty se ve výsledku projeví sníženou stabilitou senzorických vlastností piva [7]. Přítomnost superoxidového anionového radikálu v zru ječmene resp. sladu i pivu může mít vliv na peroxidaci lipidů, degradaci polysacharidů, inaktivaci enzymů, snížení vitality kvasinek, pokles koloidní stability, změnu barvy, nežádoucí příchutě piva během skladování [2, 4, 5]. U rostlin se enzym vyskytuje

1 INTRODUCTION

Grain of hulled barley varieties is traditionally used for malt production in the Czech Republic, but already Bhatti [1] suggested that the hull-less barley forms could be used in malting as well, he compared them to wheat for wheat malts.

Oxidation during malting and brewing significantly affects beer quality. Oxidation can cause haze, reticulation (creation of network) of macromolecules that can lead to problems at beer filtration and change the taste of beer. Malt or grain itself contain chemical substances that subject to oxidation (phenolic compounds, unsaturated lipids), but also a considerable amount of enzymes (catalase, superoxide dismutase, lipoxigenase, peroxidase, etc.) that act preventively against numerous undesirable reactions in the brewing industry [2].

The antioxidant enzymes named above protect the organism against the oxidative damage caused by active oxygen forms [3].

Superoxide dismutase (SOD) enzyme prevents the accumulation of superoxide radicals and catalyzes their conversion to hydrogen peroxide and oxygen [2, 3, 4, 5, 6]. A small amount of superoxide is also produced during malting and it leads to formation of a very reactive hydroxyl radical [4] that has been considered a main initiator of harmful effects to the biochemical systems of cells resulting in lowered stability of beer sensory characters [7]. The presence of superoxide anion radical in barley grain or malt and beer can affect lipid peroxidation, polysaccharide degradation, enzyme inactivation, reduction in yeast vitality, decline in colloid stability, change in color, undesirable off flavors of beer during storage [2, 4, 5]. In plants, the en-

ve formě tří isomerů lišící se kofaktorem, kterým je vždy atom kovu mangan (Mn^{2+} SOD), železo (Fe^{2+} SOD) nebo měď se zinkem ($Cu^{2+}Zn^{2+}$ SOD) [6, 8, 9]. Enzym SOD v zrna ječmene je nejvíce lokalizován v embryu, ale menší množství se nachází v aleuronové vrstvě [10]. Jeho aktivitu je možné ovlivnit podmínkami při sladování [5, 11]. Meng et al. [4] zjistili, že při delší době máčení ječmene dochází také ke snížení aktivity SOD, což autoři přičítají pravděpodobně vyšší teplotě při sušení, kdy dochází k inaktivaci enzymu. Boivin [2] a Belcrediová et al. [12] zjistili vyšší aktivitu tohoto enzymu ve sladu v porovnání se zrnem ječmene.

2 MATERIÁL A METODY

2.1 Vzorky

Byly použity vzorky zrna sedmi sladovnických odrůd (Amulet, Bojos, Jersey, Malz, Prestige, Sebastian, Tolar), dvou bezpluchých odrůd Merlin a AF Lucius (KM 1910) a tří bezpluchých KM linií vyšlechtěných v Zemědělském výzkumném ústavu Kroměříž, s. r. o. (KM 1057, KM 2084, KM 2283). Odrůdy/linie byly pěstovány na lokalitě Školního zemědělského podniku MZLU v Žabčicích, předplodinou byla ozimá pšenice. Byly použity dvě varianty ošetření (ošetřené varianty = s aplikací pesticidů a neošetřené varianty = bez aplikace pesticidů) a na lokalitě Kroměříž (neošetřené varianty) v letech 2005, 2007 a 2008. Pokusné parcely ve třech opakováních ve třech letech měly výměru 10,5 m².

2.2 Analytické stanovení

Princip metody byl založen na využití xanthinu a xanthinu oxidasy, které vytvářejí superoxidový radikál, který reaguje s tetrazoliovou solí na červeně zbarvený formasan. Aktivita SOD je měřena stupněm inhibice této reakce, ke které dochází při teplotě 37 °C a absorbanci 505 nm. Ke stanovení byl využit diagnostický set Ransod (RANDOX, Velká Británie) [13].

Všechny vzorky byly zhomogenizovány a pomlety. Do nádoby pro rmutování bylo naváženo 25 g vzorku zrna ječmene, které byly vystřeny 225 ml deionizované vody o teplotě 45 °C. Vzorky byly rmutovány 15 minut při teplotě 45 °C. Poté vzorky chladly 30 minut na teplotu 25 °C a minimálně jednu hodinu se filtrovaly. Takto upravené vzorky byly skladovány podle Bamfortha [11] 18 hodin při teplotě 4 °C a zředěny 1:14 fosfátovým pufrům (0,01 mol/l, pH 7,0) tak, aby se inhibovaná reakce pohybovala na kalibrační křivce mezi 30–60 %.

Další příprava byla shodná, jak pro připravené vzorky zrna, tak pro standardy, ze kterých byla zkonstruována kalibrační křivka. Do kyvety bylo odepipetováno 0,05 ml vzorku a 1,7 ml substrátu. Směs byla opatrně promíchána, vložena do spektrofotometru a inkubována 2 minuty při 37 °C, poté bylo přidáno 0,25 ml xanthin oxidasy, která odstartovala reakci. První absorbance byla naměřena po 30 s (A_1) a druhá po třetí minutě (A_2). Výsledek byl přepočten na jednotky $U \cdot g^{-1}$ sušiny.

K chemickým analýzám byly použity každý rok dva vzorky od každé odrůdy/linie. Analýzy vzorků byly provedeny na přístrojovém vybavení pracoviště Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského, a. s., Sladařského ústavu v Brně.

2.3 Statistická analýza

Získané experimentální údaje z chemických analýz aktivity superoxiddismutasy byly zpracovány analýzou variance (ANOVA) s dvojnásobnými interakcemi mezi faktory v programu STATISTICA verze 7.0 (StatSoft, Inc. Tulsa, Oklahoma, USA) a mnohonásobným porovnáním průměrných hodnot testem podle Fischer (LSD test) při $P = 0,05$, které je ve výsledcích vyjádřeno graficky.

Korelace byly vyjádřeny mezi znaky pomocí Pearsonova koeficientu (r).

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Aktivita enzymu superoxiddismutasy byla statisticky průkazně ovlivněna všemi faktory: odrůdami/liniemi, lokalitami a roky s výjimkou způsobu ošetření. Interakce všech faktorů také významně ovlivnila variabilitu enzymu SOD (tab. 1, 2).

U sledovaného souboru odrůd/linií byla naměřena aktivita SOD v intervalu 62–147 $U \cdot g^{-1}$ (obr. 1). Naše výsledky jsou v souladu s výsledky studií Boivin [2], který zjistil vyšší antioxidační aktivitu ve sladu (96–187 $U \cdot g^{-1}$). Bamforth [11] uvádí aktivitu SOD v zrna 470 $U \cdot 10 \cdot g^{-1}$ a rovněž významně vyšší aktivity uvádějí Březinová Belcredi et al. [14] u zelené biomasy mladých rostlin dvou sladovnických odrůd Malz a Sebastian (461 a 494 $U \cdot g^{-1}$) a linie KM 1910 (428 $U \cdot g^{-1}$).

Statisticky významně vyšší aktivita SOD v průměru tříletého ob-

zyme occurs in a form of three isomers differing by a cofactor, which is always an atom of metal, manganese (Mn^{2+} SOD), iron (Fe^{2+} SOD) or copper with zinc ($Cu^{2+}Zn^{2+}$ SOD) [6, 8, 9]. SOD enzyme in a barley grain is mostly localized in the embryo, minor amount being in the aleurone layer [10]. Its activity can be affected by malting conditions [5, 11]. Meng et al. [4] found that SOD activity also declined with a longer time of steeping, the authors explained this fact by probably higher temperature during drying when the enzyme is inactivated. Boivin [2] and Belcrediová et al. [12] found higher activity of this enzyme in malt compared to a barley grain.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Samples

Grain samples comprised seven malting varieties (Amulet, Bojos, Jersey, Malz, Prestige, Sebastian, Tolar), two hull-less varieties Merlin and AF Lucius (KM 1910) and three hull-less KM lines bred in the Agricultural Research Institute Kroměříž, Ltd. (KM 1057, KM 2084, KM 2283). The varieties/lines were grown in the locality of the School Farm of MUAF in Žabčice, previous crop was winter wheat. Two treatment variants were used (treated variants = with pesticide application and non treated variants = without pesticide application) and in the locality Kroměříž (non treated variants) in 2005, 2007 and 2008. The area of the experiment lots in three replications in three years was 10.5 m².

2.2 Analytical determination

The principle of the method was based on the use of xanthine and xanthine oxidase that produce superoxide radical reacting with tetrazolium salt to red formasan. SOD activity is measured by a degree of inhibition of this reaction which occurs at 37 °C and absorbance of 505 nm. The diagnostic Ransod set (RANDOX, Great Britain) was used for the determination [13].

All the samples were homogenized and milled. 25 g of barley grain sample were added to a container and mashed with 225 ml of deionized water. The samples were mashed for 15 minutes at 45 °C. Subsequently, the samples were cooled to 25 °C for 30 minutes and filtered for at least one hour. The treated samples were stored after Bamforth [11] for 18 hours at 4 °C and diluted 1:14 in phosphate buffer (0.01 mol/l, pH 7.0) so that the inhibition reaction on the calibration curve moved between 30–60 %.

Following preparation was identical both for the prepared grain samples and standards from which the calibration curve was constructed. 0.05 ml of the sample and 1.7 ml of the substrate were added with a pipette into a cuvette. The mixture was blended carefully, placed into the spectrophotometer and incubated at 37 °C for 2 minutes. Reaction was started by adding xanthine oxidase (0.25 ml). The first absorbance was measured after 30 s (A_1) and the second after 180 s (A_2). The result was recalculated to dry matter units $U \cdot g^{-1}$.

For the chemical analyses two samples from each variety/line. The analyses of samples were performed on the instrumentation of the Research Institute of Brewing and Malting, Malting Institute, Plc. in Brno.

2.3 Statistical analysis

The acquired experimental data from the chemical analyses of superoxide dismutase activity were processed using the analysis of variance (ANOVA) with triple interactions between the factors in program STATISTICA version 7.0 (StatSoft, Inc. Tulsa, Oklahoma, USA) and multiple comparison of mean values with Fischer's test (LSD test) at $P = 0,05$, which is expressed graphically in results.

Correlations among parameters were expressed with Pearson's coefficient (r).

3 RESULTS AND DISCUSSION

Activity of superoxide dismutase enzyme was statistically significantly affected by all factors: varieties/lines, localities and years, with the exception of the treatment method. The interaction of all factors significantly affected variability of SOD enzyme (Tab. 1, 2).

In the studied set of varieties/lines, SOD activity in the interval 62 – 147 $U \cdot g^{-1}$ was measured (Fig. 1). Our results are in compliance with the results of the studies of Boivin [2], who found a higher antioxidant activity in malt (96–187 $U \cdot g^{-1}$). Bamforth [11] recorded SOD activity in grain 470 $U \cdot 10 \cdot g^{-1}$ and significantly higher activity was also determined by Březinová Belcredi et al. [14] in green biomass of young plants of two malting varieties, Malz and Sebastian (461 and 494 $U \cdot g^{-1}$, respectively) and the line KM 1910 (428 $U \cdot g^{-1}$).

Tab. 1 Analýza variance aktivity superoxiddismutasy na lokalitě Žabčice (s aplikací a bez aplikace pesticidů) / Analysis of variance of superoxide dismutase activity in the locality Žabčice (with application and without application of pesticides)

	d.f.	MS
a) Odrůda / Variety	11	5733***
b) Ošetření / Treatment	1	33
c) Rok / Year	2	7205***
Interakce / Interaction:		
a) x b)	11	300***
a) x c)	22	1228***
b) x c)	2	1316***
a) x b) x c)	22	291***
Chyba / Error	72	34

Pozn. / Note: ***P ≤ 0.001

dobí byla naměřena u bezpluché linie KM 1057 a odrůda Malz (obr. 1, 2) ve srovnání s ostatními odrůdami/liniemi z obou stanovišť i z obou variant ošetření. Po této linii následovaly sladovnické odrůdy Bojos, Jersey, Sebastian, Tolar, Amulet a Prestige (83–104 U.g⁻¹), které se významně lišily od bezpluchých KM linií (80–83 U.g⁻¹) a odrůd Malz a Merlin (76 a 62 U.g⁻¹). Průkazně nižší aktivitu měla bezpluchá odrůda kanadského původu Merlin v porovnání s celým souborem odrůd/linií z obou stanovišť a obou způsobů ošetření. Vzorek této odrůdy vykazoval i nejnižší obsah deoxynivalenolu [15].

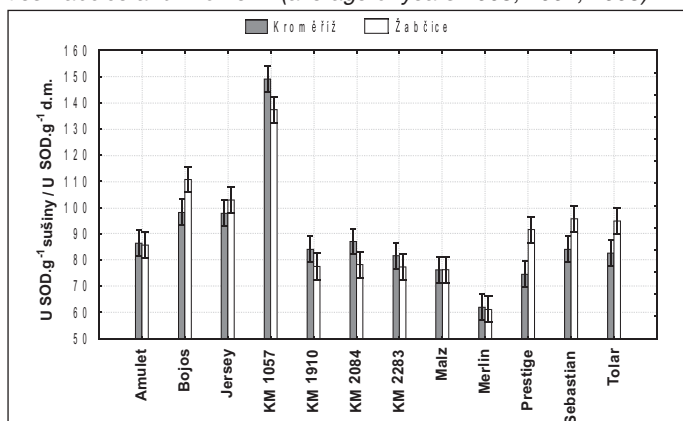
Průměrná aktivita SOD celého souboru byla statisticky významně vyšší na lokalitě Žabčice (91 U.g⁻¹) oproti lokalitě Kroměříž (89 U.g⁻¹), tento rozdíl mezi nimi ale nebyl velký. Ani Březinová Belcredi et al. [16] neshledali významný rozdíl v aktivitě SOD mezi odrůdami ječmene pěstovanými na třech lokalitách. Ehrenbergerová et al. [17] studovali aktivitu v zelené biomase odrůd/linií ječmene jarního také na lokalitách Žabčice (518 U.g⁻¹) a Kroměříž (363 U.g⁻¹), a zjistili významný rozdíl mezi těmito lokalitami v průměrné aktivitě studovaného souboru.

Způsob ošetření porostu neměl významný vliv na aktivitu sledovaného enzymu (tab. 1, obr. 2), výjimkou byla linie KM 1057. Zrno z neošetřených variant porostu mělo v průměru odrůd aktivitu SOD 91 U.g⁻¹, zatímco z ošetřených variant 92 U.g⁻¹. Naopak Havlová et al. [18] uvádí vyšší aktivitu SOD v zrně z chemicky neošetřeného porostu. Jejich závěr podporují názory studií Bowler et al. [8] a Gupta et al. [19], kteří diskutují o jistém vlivu a možné funkci SOD chránit rostlinu před nepříznivými podmínkami prostředí.

V jednotlivých letech se aktivita SOD statisticky průkazně lišila (obr. 3), přičemž významně vyšší hodnota SOD z obou lokalit pěstování byla v roce 2007 (96 U.g⁻¹) oproti rokům 2008 (90 U.g⁻¹) a 2005 (83 U.g⁻¹). Ve všech třech letech byla nejvyšší aktivita zjištěna u linie KM 1057 a naopak nejnižší u odrůdy Merlin, což odpovídá výše uvedeným výsledkům.

Korelace mezi aktivitou SOD a aktivitou antioxidačního vitamínu E [20] nebyla zjištěna, ale silnější kladný statisticky významný vztah byl zjištěn mezi SOD a obsahem deoxynivalenolu (DON) (r = 0,60**)

Obr. 1 Aktivita superoxiddismutasy v zrně odrůd a linií na lokalitách Žabčice a Kroměříž (průměr roků 2005, 2007, 2008) / Fig. 1 Superoxide dismutase activity in grain of varieties and lines in the localities Žabčice and Kroměříž (average of years 2005, 2007, 2008)



Pozn. Úsečky ve sloupcovém grafu znamenají statisticky významnou odlišnost při P = 0,05 / Note: Abscissae in the column graph show statistically significant difference at P = 0.05

Tab. 2 Analýza variance aktivity superoxiddismutasy na lokalitách Žabčice a Kroměříž (bez aplikace pesticidů) / Analysis of variance of superoxide dismutase activity in the localities Žabčice and Kroměříž (without application of pesticides)

	d.f.	MS
a) Odrůda / Variety	11	4861***
b) Lokalita / Locality	1	167*
c) Rok / Year	2	2063***
Interakce / Interaction:		
a) x b)	11	268***
a) x c)	22	918***
b) x c)	2	1263***
a) x b) x c)	22	337***
Chyba / Error	72	37

Pozn. / Note: ***P ≤ 0.001; *P ≤ 0.05

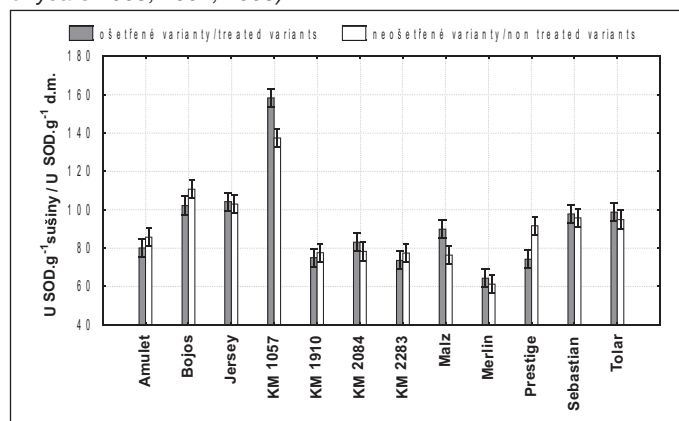
Three-year average activity of SOD was statistically significantly higher in the hull-less line KM 1057 (Fig. 1, 2) compared to the other varieties/lines from both the localities and both variants of treatment. This line was followed by the malting varieties Bojos, Jersey, Sebastian, Tolar, Amulet, and Prestige (83–104 U.g⁻¹) which differed significantly from the hull-less KM lines (80–83 U.g⁻¹) and the varieties Malz and Merlin (76 and 62 U.g⁻¹, respectively). Merlin, the hull-less variety of the Canadian origin had significantly lower activity compared to the whole set of varieties/lines from both the localities and both treatment variants. The sample of this variety also exhibited the lowest deoxynivalenol content [15].

Average SOD activity of the whole set was statistically significantly higher in the locality Žabčice (91 U.g⁻¹) versus the locality Kroměříž (89 U.g⁻¹), however, the difference between them was not very big. Březinová Belcredi et al. [16] did not find any significant difference in SOD activity among barley varieties grown in three localities. Ehrenbergerová et al. [17] also studied activity in green biomass of varieties/lines of spring barley in the localities Žabčice (518 U.g⁻¹) and Kroměříž (363 U.g⁻¹), and they determined a significant difference between these localities in the average activity of the studied set.

Treatment variant of the stand did not significantly affect activity of the enzyme studied (Tab. 1, Fig. 2), with the exception of the line KM 1057. SOD activity of the grain from the non-treated variant of the stand on average of the varieties was 91 U.g⁻¹, while in the treated variant it was 92 U.g⁻¹. On the contrary, Havlová et al. [18] recorded higher SOD activity in grain from the chemically non treated stand. Their conclusion supported results of studies of Bowler et al. [8] and Gupta et al. [19], who discussed a certain effect and possible function of SOD to protect plant against unfavorable conditions of the environment.

In the respective years, SOD activity differed statistically significantly (Fig. 3), significantly higher SOD value from both the growing localities was recorded in 2007 (96 U.g⁻¹) versus 2008 (90 U.g⁻¹) and 2005 (83 U.g⁻¹). In all three years the highest activity was determined in the line KM 1057 and on the contrary, the lowest in the variety Mer-

Obr. 2 Aktivita superoxiddismutasy v zrně odrůd a linií na lokalitě Žabčice (průměr roků 2005, 2007, 2008) / Fig. 2 Superoxide dismutase activity in grain of varieties and lines in the locality Žabčice (average of years 2005, 2007, 2008)



Pozn. Úsečky ve sloupcovém grafu znamenají statisticky významnou odlišnost při P = 0,05 / Note: Abscissae in the column graph show statistically significant difference at P = 0.05

v zrně z ošetřených variant porostů na lokalitě Žabčice. Vyšší obsah mykotoxinů ve vzorcích z fungicidně ošetřených porostů může být dle poznatků současných autorů vysvětlen i tak, že před buněčnou apoptózou patogenu po aplikaci fungicidu se dostane vyšší koncentrace mykotoxinu do pletiv rostliny. Podobně by mohla být současně vysvětlena i zvyšující se aktivita SOD jako důsledek obranné reakce organismu na aplikaci fungicidu.

Na základě analýz a uváděných výsledků jiných autorů lze konstatovat, že aktivita enzymu SOD závisí na genotypu, pěstované lokalitě, ale také na povětrnostních podmínkách v jednotlivých letech, v nichž byly porosty pěstovány.

4 ZÁVĚR

Enzym superoxiddismutasy (SOD) patří mezi antioxidační enzymy zabráňující nežádoucím reakcím v zrně resp. ve sladu ječmene jarního. Významně vyšší aktivita SOD byla zjištěna u bezpluché linie KM 1057, zatímco významně nižší aktivita u odrůdy Merlin oproti ostatním odrůdám a liniím. Sladovnické odrůdy Jersey a Bojos (odrůda doporučena Výzkumným ústavem pivovarským a sladařským pro výrobu Českého piva), měly rovněž vysokou aktivitu SOD. Nebyl prokázán významný vliv ošetření polních pokusů pesticidy na aktivitu sledovaného enzymu v zrně, ale byl zjištěn významný vliv lokalit i ročníků pěstování na aktivitu SOD.

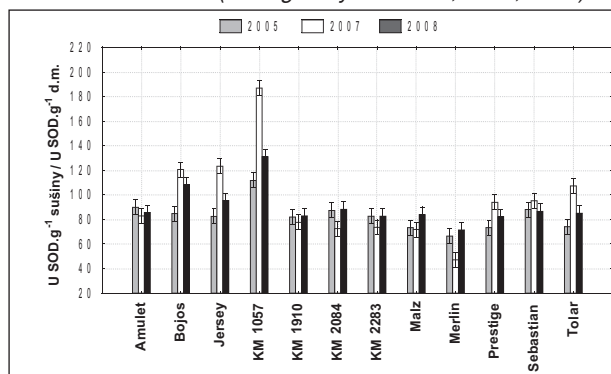
Poděkování

Výsledky byly získány s finanční podporou projektu MŠMT 1M0570 – Výzkumné centrum pro studium obsahových látek ječmene a chmele.

LITERATURA / REFERENCES

1. Bhatti, R. S.: The Potential of Hull-less Barley – A Review. *Cereal Chem.* **63**, 1986, 97–103.
2. Boivin, P.: Pro- and anti-oxidant enzymatic activity in malt. *Cerevisia* **20**, 2001, 109–115.
3. Piterková, J., Tománková, K., Luhová, L., Petřivalský, M., Peč, P.: Oxidativní stres: Lokalizace tvorby aktivních forem kyslíku a jejich degradace v rostlinném organismu. *Chem. Listy* **99**, 2005, 455–466.
4. Meng de J., Lu, J., Fan, W., Dong, J. J., Lin, Y., Shan, L. J.: Control of Superoxide Dismutase Activity During Malting Using Plackett-Burman and Box-Behnken Experimental Design and Its Effect on Reducing Power of Wort. *J. Inst. Brew.* **113**, 2007, 365–373.
5. Havlová, P.: Hydrolytické a oxidoredukční enzymy ječného sladu. ÚZPI, Praha, 1999.
6. Racek, J.: Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Houdek L., Lipovská D. (eds.), 1. vyd., Praha: Galén, 2003, 90 s.
7. Bamforth, C. W., Parsons, R.: New Procedures to Improve the Flavor Stability of Beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **43**, 1985, 197–202.
8. Bowler, C., Montagu, V. M., Inze, D.: Superoxide Dismutase and Stress Tolerance. *Annual Review of Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.* **43**, 1992, 83–116.
9. Zima, T., Štípek, S., Tesař, V., Pláteník, J., Crkovská, J.: Volné radikály – reaktivní formy kyslíku, antioxidační látky a antioxidační terapie. *Remedia* **6**, 1996, 35–58.
10. Giannopolitis C. N., Ries S. K.: Superoxide Dismutase I. Occurrence in Higher Plants. *Plant Physiol.* **59**, 1977, 309–314.
11. Bamforth, C. W.: Superoxide-dismutase in Barley. *J. Inst. Brew.* **89**, 1983, 420–423.
12. Belcrediová, N., Ehrenbergerová, J., Havlová P.: Enzym superoxid dismutasy v zrně ječmene a sladu. *Acta Univ. Agric. et Silv. Mendel. Brun.* **54**, 2006, 7–14.
13. Březinová Belcredi, N., Ehrenbergerová, J., Prýma, J., Havlová, P.: Stanovení aktivity enzymu superoxiddismutasy pomocí Soupravy Ransod v rostlinném materiálu. *Chem. Listy* **101**, 2007, 504–508.
14. Březinová Belcredi, N., Kopáček, J., Ehrenbergerová, J., Prýma, J., Paulíčková, I., Vaculová, K.: Využití zelené biomasy ječmene jarního. In Cerkal, R., Vejražka, K., Hrstková, P., Štědla, T. – MZLU pěstitelům 2007. Žabčice. Brno: MZLU Brno, 2007, 28–31.

Obr. 3 Aktivita superoxiddismutasy v zrně odrůd a linií v průměru obou lokalit (průměr roků 2005, 2007, 2008) / Fig. 3 Superoxide dismutase activity in grain of varieties on the average of both the localities (average of years 2005, 2007, 2008)



Pozn. Usečky ve sloupcovém grafu znamenají statisticky významnou odlišnost při $P = 0,05$ / Note: Abscissae in the column graph show statistically significant difference at $P = 0,05$

lin, which corresponds to the results given above.

Correlation between SOD activity and vitamin E antioxidant activity [20] was not found, however, a stronger positive statistically significant relationship was determined between SOD and deoxynivalenol content (DON) ($r = 0,60^{**}$) in grain from the treated variants of stands in the locality Žabčice. Some authors explain, based on their experiences, higher mycotoxin content in samples from stands without fungicide treatment by the fact that before the pathogen cell apoptosis caused by the application of the fungicide, higher concentration of mycotoxin gets into the plant tissues. Similarly, increasing SOD activity could also be explained as a result of the defense reaction of the organism to the fungicide application.

Based on the analyses and results presented by other authors, it is possible to conclude that SOD enzyme activity depends on a genotype, growing locality and also weather conditions in the respective years when the stands were grown.

4 CONCLUSION

Superoxide dismutase (SOD) enzyme belongs to antioxidant enzymes preventing undesirable reactions in grain or malt of spring barley. Significantly higher SOD activity was determined in the hull-less line KM 1057, whereas significantly lower activity in the variety Merlin versus the other varieties and lines. The malting varieties Jersey and Bojos (the variety recommended by the Research Institute of Brewing and Malting for the production of Czech Beer) also had high SOD activity. No significant effect of the pesticide treatment of field experiments on the activity of the studied enzyme in grain was proved, however, the significant effect of localities and growing years on SOD activity was determined.

Acknowledgements

The authors thank for the financial support of the MEYS CR (Research Center 1M0570 for Study of Extract Compounds in Barley and Hops).

15. Malachová, A., Hajšlová, J., Ehrenbergerová, J., Kostelanska, M., Zachariášová, M., Urbanová, J., Cerkal, R., Šafránková, I., Marková, J., Březinová Belcredi, N., Vaculová, K., Hrstková, P.: Fusariové mykotoxiny v zrně ječmene jarního a jejich přenos do sladu. *Kvasny Prum.* **56**, 2010, 131–137.
16. Březinová Belcredi, N., Marková, J., Ehrenbergerová, J., Prýma, J., Vaculová, K., Lancová, K., Hajšlová, J.: Antioxidant and Mycotoxins in Barley Grain. In Ugarčić-Hardi, Ž. Proceedings of 4th International Congress FLOUR – BREAD '07 and 6th Croatian Congress of Cereal Technologists. J. J. Strossmayer University of Osijek, Croatia: Faculty of Food Technology, 2008, 248–253.
17. Ehrenbergerová, J., Březinová Belcredi, N., Kopáček, J., Melišová, L., Hrstková, P., Macuchová, S., Vaculová, K., Paulíčková, I.: Antioxidant enzymes in barley green biomass. *Plant Food Hum. Nutr.* **64**, 2009, 122–128.
18. Havlová, P., Belcrediová, N., Ehrenbergerová, J.: Monitoring of Superoxide dismutase Enzyme Activity in Barley Grain and Malt. In Horna, A. The Abstracts Book Vitamins 2005 – Targeted Nutritional Therapy, 1. vyd. Pardubice, Czech Republic: Univerzita Pardubice, 2005, s. 83.
19. Gupta, A. S., Heinen, J. L., Holaday, A. S., Burke, J. J., Allen, R. D.: Increased Resistance to Oxidative Stress in Transgenic Plants that Overexpress Chloroplastic Cu/Zn Superoxide Dismutase. In Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **90**, 1993, 1629–1633.
20. Březinová Belcredi, N., Ehrenbergerová, J., Benešová, K., Vaculová, K.: Variabilita aktivity vitamínu E v zrně ječmene jarního. *Kvasny Prum.* **56**, 2010, 88–92.