

Změny v obsahu a aktivitě vitamínu E jako reakce na abiotický stres odrůd ječmene jarního

Changes in Vitamin E Content and Activity as a Response to Abiotic Stress in Spring Barley Varieties

JAROSLAVA EHRENBARGEROVÁ¹, HELENA PLUHÁČKOVÁ¹, MARTA BRADÁČOVÁ¹, NATÁLIE BŘEZINOVÁ BELCREDI¹, KAROLÍNA BENEŠOVÁ², KATEŘINA VACULOVÁ³

¹Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno
Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, CZ-613 00 Brno

²Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., Mostecká 7, 614 00 Brno / *Research Institute of Brewing and Malting, PLC, Mostecká 7, 614 00 Brno, Czech Republic*

³Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s. r. o. / *Agricultural Research Institute Kroměříž, Ltd.*

e-mail: ehren@mendelu.cz

Ehrenbergerová, J. – Pluháčková, H. – Bradáčová, M. – Březinová Belcredi, N. – Benešová, K. – Vaculová, K.: Změny v obsahu a aktivitě vitamínu E jako reakce na abiotický stres odrůd ječmene jarního. Kvasny Prum. 57, 2011, č. 7–8, s. 196–202.

V letech 2009 a 2010 byl hodnocen vliv tří různých půdních vláhových režimů (sucho, pozdní sucho a mokro) na obrannou reakci genotypů ječmene hodnocenou pomocí isomerů vitamínu E, které byly stanoveny metodou HPLC s fluorescenční detekcí. Pro studium byly vybrány genotypy s kontrastní sladovnickou kvalitou (pluchaté Kompakt, Krona, Wabet a bezpluché Wanubet, KM 1057). Nejnižší obsah isomerů vitamínu E (8,38 mg.kg⁻¹) v průměru odrůd a roků byl zjištěn v režimu pozdního sucha. Nejvyšší aktivita vitamínu E v režimu sucha i pozdního sucha měly genotypy Wabet a KM 1057 (9,43 až 18,08 mg.kg⁻¹), což je možné považovat za projev jejich silnějšího obranného mechanismu vůči stresu ze sucha.

Ehrenbergerová, J. – Pluháčková, H. – Bradáčová, M. – Březinová Belcredi, N. – Benešová, K. – Vaculová, K.: Changes in vitamin E content and activity as a response to abiotic stress in spring barley varieties. Kvasny Prum. 57, 2011, No. 7–8, p. 196–202.

In 2009 and 2010 the effects of three different soil moisture regimes (drought, late drought and wetness) on the defense response of barley genotypes assessed using vitamin E isomers were studied. Vitamin E isomers were determined with the HPLC method with fluorescent detection. Genotypes with contrasting malting quality (hulled Kompakt, Krona, Wabet and hulless Wanubet, KM 1057) were included in the study. The lowest content of vitamin E isomers (8.38 mg.kg⁻¹) on average of varieties and years was found in the late drought regime. The highest vitamin E activity in the drought and late drought regimes was found in the genotypes Wabet and KM 1057 (9.43 to 18.08 mg.kg⁻¹), which may be due to their stronger defense mechanism to drought-induced stress.

Ehrenbergerová, J. – Pluháčková, H. – Bradáčová, M. – Březinová Belcredi, N. – Benešová, K. – Vaculová, K.: Die Änderungen des Gehalts an Vitamin E und seiner Aktivität als die Reaktion auf den abiotischen Stress der Sommergerstensorten. Kvasny Prum. 57, 2011, Nr. 7–8, S. 196–202.

Im Zeitraum 2009 und 2010 wurde der Einfluss von drei unterschiedlichen Bodenbewässerungsregimen (Dürre, Spätdürre und Nässe) auf die Abwehrreaktion der Gerstengentypen verfolgt. Die Abwehrreaktion wurde mittels Isomere des Vitamins E durch die HPLC Methode mit einem Fluoreszenz Detektor ausgewertet. Für das Studium wurden Genotype mit einer Kontrastmalzqualität (spelzige Gerstensorten Kompakt, Krona, Wabet und spelzlose Gerste Wanubet, KM 1057) ausgewählt. Im Sorten- und Jahresdurchschnitt wurde der niedrigste Gehalt an Isomer des Vitamin E (8,38 mg.kg⁻¹) im Regime Spätdürre festgestellt. Die höchste Aktivität des Vitamin E in den Regimen Dürre und Spätdürre haben die Genotype Wabet und KM 1057 (von 9,43 bis zu 18,08 mg.kg⁻¹) nachgewiesen, was als eine Reaktion ihrer stärkeren Abwehrreaktion gegen die Dürre betrachtet werden darf.

Klíčová slova: vláhový režim, isomery α -, β -, γ -, δ -, tokoferol, tokotrienol

Keywords: moisture regime, α -, β -, γ -, δ - isomers, tocopherol, tocotrienol

1 ÚVOD

Stresové faktory působící na rostliny mohou zpomalovat životní funkce, nebo vést až k uhynutí rostlin. Mohou být dvojí povahy: **biotické**: útok patogena, negativní působení okolních organismů aj. a **abiotické** povahy: pesticidy, intenzivní teplo, chlad, mráz, těžké kovy, ozón, trvalejší zamokření, sucho apod. Stres ze sucha i mokra ovlivňuje v rostlinách celou řadu procesů, které vedou ke změnám metabolických aktivit. Z hlediska reakcí rostlin na sucho je důležitá délka jeho trvání a intenzita i fáze vývoje rostlin, ve které jsou rostliny suchu vystaveny. Intenzita stresu závisí nejen na množství dostupné vody v prostředí, vitalitě, ale i na genotypu rostliny, tj. na vlastnostech odrůdy.

Většina procesů, probíhajících v rostlinách při stresu ze sucha, směřuje k zamezení ztrát vody z buněk, ale aktivují se i enzymatické systémy [1], které směřují k ochraně před oxidativním stresem. V důsledku stresu dochází ke katalýze reakcí vedoucích k prudké přechodné tvorbě velkého množství aktivních forem kyslíku (AFK, ROS – reactive oxygen species), např. peroxidu vodíku, superoxidového nebo hydroxylového radikálu, což vede k poruše rovnováhy mezi produkcí a odbouráváním aktivních forem kyslíku. Oxidační stres vede k inhibici proteosyntézy, vzniku mutací, porušení struktury buněčných membrán, denaturaci proteinů a inhibici antioxidantních enzymů.

Ochranu před oxidativním poškozením organismu AFK zajišťuje řada antioxidantních obranných systémů **enzymové povahy** – např.

1 INTRODUCTION

Stress factors affecting plants can impede vital functions or lead to plant death. Their nature can be **biotic**: attack of a pathogen, negative affect of the external organisms, etc. and **abiotic**: pesticides, intensive drought, cold, frost, heavy metals, ozone, more permanent water logging, drought, etc. Stress induced by drought or wetness affects many processes in plants and leads to changes in metabolic activities. Plant response to drought is affected by the length of its duration, its intensity and a plant development phase when plants are exposed to drought. Stress intensity depends not only on the amount of available water in the environment and vitality but also on a plant genotype. i.e. plant characters.

Most of stress-induced processes in plants tend to reduce water losses from cells but enzymatic systems for protection against oxidative stress are also activated [1]. As a result of stress, reactions leading to intense temporary formation of a huge amount of oxygen active forms are catalyzed (ROS – reactive oxygen species), e.g. hydrogen peroxide, superoxide or hydroxyl radical, which leads to the disruption of balance between production and degradation of active oxygen forms. Oxidative stress leads to the inhibition of proteosynthesis, origin of mutations, disorder of the cell membrane, protein denaturation and inhibition of antioxidant enzymes.

Protection against oxidative damage of the organism by ROS is ensured by a number of antioxidative defense systems of the **enzy-**

peroxidasa, superoxid dismutasa aj. a **neenzymové povahy** – askorbát, beta-karoten, rostlinné hormony [2], některé aminokyseliny [3], redukovaný glutation a rovněž vitamín E.

Aktivní obrana rostlin, která omezuje negativní dopad stresorů, vede ke spuštění řetězce změn, označovaných jako stresové reakce. Poznáání těchto reakcí je důležité pro hodnocení [4] a výběr odrůd zemědělských plodin pěstovaných ve stresových podmínkách průběhu povětrnosti, velmi odlišného od průměrných dlouhodobých podmínek.

V rámci ochranného mechanismu před oxidativním poškozením jsou v rostlinách syntetizovány i jednotlivé izomery vitamínu E, tokochromanoly, zkráceně nazývané tokoly. Rozlišují se dvě kategorie tokochromanolů [5], které jsou tvořeny osmi homology, α -, β -, γ -, δ -tokoferoly (T) a tokotrienoly (T3) [6]. Rostliny jsou bohaté na tokoly, obilniny většinou obsahují všech osm isomerů (alfa, beta, gama a delta). V listech všech rostlin a především v semenech dvouděložných, ale i jednoděložných jsou přítomny tokoferoly. Výskyt tokotrienolů je omezen na semena jednoděložných, výjimečně i dvouděložných rostlin. Jedná se o skupinu lipofilních antioxidantů syntetizovaných pouze v rostlinách [6]. V práci [7] zjistili, že zelená biomasa ječmene, na rozdíl od obilí, neobsahuje tokotrienoly. U rostlin je jediným dobře doloženým účinkem vitamínu E ochrana lipidů před oxidací. V uskladněných semenech během dormance a klíčení, zabraňuje žluknutí tuků [8, 9, 10]. Molekula vitamínu E je součástí buněčné lipidové membrány, odkud efektivně inhibuje peroxidaci lipidových řetězců a zabraňuje pomnožování peroxidových radikálů [11]. Za antioxidant s největší biologickou aktivitou je považován α -tokoferol [12, 13]. Ve výsledcích prací [6, 14, 15, 16] se uvádí, že na základě mnoha studií byl prokázán vyšší oxidační potenciál u α -tokotrienolu. Rovněž se uvádí [11], že α -tokotrienol je považován za lepší zachycovač radikálů, než α -tokoferol. Antioxidační funkce vitamínu E spočívá v předcházení reakcím volných radikálů a tím inhibici oxidace lipidů [13, 17]. Tokoferoly a β -tokotrienoly jsou koncentrovány hlavně v klíčku, zatímco obalové vrstvy a endosperm obsahují značný podíl [6, 16, 18] ostatních tokolů. Funkce vitamínu E u rostlin není ještě zcela prostudována, jeho optimální denní příjem pro člověka je 10–15 mg [19], přičemž obiloviny jsou hlavním zdrojem tokolů a vitamínu E pro lidstvo [16]. Množství vitamínu E v obilích ječmene je až čtyřikrát vyšší, než u jiných obilných druhů [20]. Tato skutečnost je jistě pozitivní i pro produkty z ječmene vyráběné. Je popsána rozsáhlá změna kvantity různých tokolů v ječmeni, ale existuje málo prací, které ukazují na variabilitu v koncentraci tokolů mezi různými ječmennými genotypy v odlišných růstových podmínkách [16].

Cílem této práce bylo hodnocení reakce odrůd během jejich pěstování ve třech odlišných půdních vláhových režimech (sucho, pozdní sucho a mokro). Obranné reakce odrůd na stres z různých vláhových režimů byly posuzovány na základě změn aktivity a obsahu isomerů vitamínu E.

2 MATERIÁL A METODY

2.1 Rostlinný materiál

Vybrali jsme čtyři odrůdy sladovnické kvality: Kompakt a Krona, odrůdy nesladovnické kvality: Wabet a Wanubet s *waxy* genem (provenience USA) a linii KM1057. Genotypy Wanubet a KM1057 jsou bezpluché. Odrůdy/linie byly vybrány podle jejich odlišné sladovnické kvality a rovněž podle odlišného obsahu tokolů (tokoferolů a tokotrienolů), který jsme zjistili v předchozím výzkumu [18].

2.2 Metodika pokusu

Osivo odrůd bylo vyseto po sedmi semenech do devíti nádob (tři nádoby tvořily vždy jedno opakování) o objemu cca 8 l zeminy. Nádoby byly umístěny na pozemek v areálu MENDELU pod vybudovaný přístřešek k zamezení přístupu deštovým srážkám. Zpočátku byla v celém experimentu udržována závlivka na 75 % plného nasycení půdy – režim (varianta) „**mokro**“ (100 % nasycení bylo stanoveno váhově po úplném nasycení půdy vodou oproti úplnému vysušení). Po čtyřech týdnech na konci fáze odnožování (DC 32–35) byl u třetiny nádob zaveden režim omezené závlivky (30 % plného nasycení půdy) – režim „**sucho**“. Třetím režimem bylo „**pozdní sucho**“, kde byla závlivka snížena na 30 % plného nasycení půdy až na počátku fáze metání (DC 47–49). Vláhové režimy variant byly udržovány až do konce vegetace. Ostatní podmínky zůstaly závislé na průběhu povětrnosti a aktuálním počasí (délka dne, teplota, vlhkost vzduchu, *tab. 1*).

Na analýzy obsahu jednotlivých isomerů vitamínu E (α -tokoferolů – T a α -tokotrienolů – T3) byly odebrány obilky v plné zralosti, vzorky byly přečištěny, homogenizovány a výsledné hodnoty byly přepočteny

matic character – e.g. peroxidase, superoxide dismutase, etc and **non-enzymatic character** – ascorbate, beta-caroten, plant hormones [2], some amino acids [3], reduced glutation and vitamin E.

Active plant defense which restricts a negative impact of stressors, leads to triggering of a chain of changes denoted as stress reactions. Knowledge of these reactions is important for the evaluation [4] and selection of varieties of agricultural crops grown under the stress conditions of the weather course, very different from the average long-term conditions. Within the protective mechanism against oxidative damage also vitamin E isomers, tocopherols, shortly tocopherols, are synthesized. Tocopherols are split into two categories [5] formed by eight homologues, α -, β -, γ -, δ -tocopherols (T) and tocotrienols (T3), [6]. Plants are abundant in tocopherols, cereals usually contain all eight isomers (alpha, beta, gamma and delta), tocopherols occur in leaves of all plants and mainly seeds of dicotyledonous and monocotyledonous plants. The occurrence of tocotrienols is limited to seeds of monocotyledonous, exceptionally dicotyledonous plants. It is a group of lipophilic antioxidants synthesized only in plants [6]. The authors [7] found that green biomass of barley compared to caryopses do not contain tocotrienols. Protection of lipids against oxidation is the only well documented effect of vitamin E in plants, it prevents rancidification of fats in stored seeds during dormancy and germination [8, 9, 10]. Molecule of vitamin E is a part of the cell lipid membrane from where it effectively inhibits lipid chain peroxidation and prevents peroxide radical reproduction [11]. α -tocopherol is considered to be an antioxidant with the highest biological activity [12, 13]. The authors in their studies [6, 14, 15, 16] confirmed higher antioxidant potential in α -tocotrienol. α -tocotrienol is considered a better radical scavenger than α -tocopherol [11]. Vitamin E antioxidant prevents free radical reactions inhibiting thus lipid oxidation [13, 17]. Tocopherols and β -tocotrienols are concentrated mainly in a germ, while the pericarp and endosperm contain a considerable portion of other tocopherols [6, 16, 18]. Function of vitamin E in plants has not been fully investigated yet, its optimal daily intake is 10–15 mg [19], the main source of tocopherols and vitamin E for humans being cereals [16]. The amount of vitamin E in barley caryopses is even four times higher than in other cereals [20]. This is definitely a positive fact for products made from barley. A considerable change in quantity of different tocopherols in barley has been described but only a few papers have investigated variability in tocopherol concentrations in various barley genotypes under different growing conditions [16].

The aim of this study was to evaluate response of varieties during their growing in three different soil moisture regimes (drought, late drought and wetness). The defensive responses of varieties to stress in different moisture regimes were assessed based on changes in vitamin E activity and isomer contents.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Plant material

Four malting varieties were selected: Kompakt and Krona, non-malting varieties: Wabet and Wanubet with the *waxy* gene (US provenience) and the line KM1057, Wanubet and KM1057 are hullless genotypes. The varieties/lines were selected based on their different malting quality and different content of tocopherols (tocopherols and tocotrienols) as detected in our previous research [18].

2.2 Experiment method

Seed of the varieties was sown per seven pieces into nine containers (three containers always formed one replication) with the volume of ca 8 l of soil. The containers were placed on the lot in the facility of MENDELU under a shelter to prevent the access of rainfall. Initially watering to 75 % of the full soil saturation was maintained in the whole experiment, so-called “**wetness regime**”. (100% saturation was assessed by weight after full soil saturation with water compared to the complete drought). After four weeks, at the end of the tillering phase (DC 32–35), the regime of restricted watering was introduced in one-third of containers (30 % of full soil saturation) – “**drought regime**”. The other, third regime was “**late drought**” where watering was reduced to 30 % of full soil saturation only at the beginning of the phase heading (DC 47–49). Moisture regimes were kept till the end of vegetation. The other conditions depended on the course of weather and actual weather conditions (length of day, temperature, air moisture, *Table 1*).

For the analyses of contents of the individual vitamin E isomers (α -tocopherols – T and α -tocotrienols – T3), caryopses were taken in full ripeness, samples were purified, homogenized and re-

Tab. 1 Povětrnostní podmínky vegetačního období v letech 2009 a 2010 / *Weather conditions of the vegetation period in 2009 and 2010*

		2009			2010			2009	2010
	T prům. / mean	T max.	T min.	T prům. / mean	T max.	T min.		Srážkový úhrn / Precipitation sum [mm]	Srážkový úhrn / Precipitation sum [mm]
Březen / March	4.3	8.0	1.1	4.1	9.3	-0.8		71.9	15.3
Duben / April	13.8	20.6	7.0	9.3	15.4	3.2		12.2	39.0
Květen / May	14.8	21.1	8.3	13.0	17.3	9.5		44.7	106.6
Červen / June	16.5	22.2	11.2	17.8	23.1	12.2		94.8	121.7
Červenec / July	19.6	26.7	13.4	21.0	27.2	15.1		69.1	90.7
Suma / Sum								292.6	373.3
Průměr / Mean	13.8	19.7	8.2	13.1	18.4	7.8			

na 100% sušinu obilky. Výsledky uvedené v předložené práci jsou průměrné hodnoty získané ze dvou stanovení.

2.3 Metodika stanovení obsahu isomerů vitamínu E (tokolů)

Princip metody. Stanovení tokoferolů (T) a tokotrienolů (T3) je založeno na alkalickém zmydlení a extrakci nezmydleného podílu vzorku diethyletherem s následným stanovením metodou HPLC s fluorescenční detekcí [21]. Aktivita vitamínu E byla vyjádřena v mg α -tokoferol-ekvivalentu (součet jednotlivých tokoferolů a tokotrienolů se zohledněním jejich biologické aktivity) [22]. Obsah β a γ -tokotrienolů byl stanovován společně, neboť bylo zjištěno, že společné ($\beta + \gamma$) stanovení je z chromatografického hlediska výhodnější z důvodu lepší stability systému a reprodukovatelnosti výsledků. V současné době je toto stanovení nejvyužívanější.

Statistické hodnocení výsledků aktivity a obsahu isomerů vitamínu E bylo provedeno v programu StatSoft, Inc. (2009), STATISTICA, version 9.0. analýzou variance (ANOVA) a mnohonásobným porovnáním průměrných hodnot pomocí Fischerova testu (LSD-test) při $P = 0,05$.

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Na základě hodnocení získaných experimentálních výsledků pomocí analýzy variance (ANOVA – tab. 2) byly zjištěny významné až velmi výsoce významné vlivy odrůd, režimů pěstování a roků na variabilitu aktivity a obsahu jednotlivých isomerů vitamínu E (pouze vliv režimu pěstování na obsah α -tokoferolu byl nevýznamný). Rovněž většina interakcí faktorů ovlivnila sledované parametry statisticky významným způsobem. Na základě těchto výsledků pak bylo možné zjistit následným testováním mnoho významných rozdílů v průměrných hodnotách aktivity a obsahu jednotlivých isomerů vitamínu E, způsobených faktory zařazenými v této práci (odrůdy, roky, režimy a jejich interakce).

3.1 Hodnocení odrůd v režimech pěstování

Aktivita vitamínu E v suchém režimu pokusu v roce 2009 (tab. 3) byla významně vyšší ($18,08 \text{ mg.kg}^{-1}$) v obilkách linie KM 1057 oproti všem dalším odrůdám, které tvořily homogenní skupinu s rozsahem aktivity $9,43\text{--}11,24 \text{ mg.kg}^{-1}$. Nejnižší aktivita patřila odrůdě Wabet. V roce 2010 naopak tato odrůda vykazala nejvyšší aktivitu ze souboru ($8,11 \text{ mg.kg}^{-1}$), nevýznamně nižší hodnoty měly odrůdy Kompakt, Wanubet a Krona ($6,40\text{--}8,00 \text{ mg.kg}^{-1}$). Statisticky významně nižší aktivitu měla v tomto roce linie KM 1057 ($4,01 \text{ mg.kg}^{-1}$). Tato linie se však

sulting values were calculated to 100% of the caryopsis dry matter. Results given in the present study are average values obtained from two determinations.

2.3 Method for the determination of vitamin E isomer content (tocols)

The principle of the method for the determination of tocopherols (T) and tocotrienols (T3) is based on alkaline saponification and extraction of the non-saponified portion of the sample by diethylether with following determination using the HPLC method with fluorescent detection [21]. Vitamin E activity was expressed in mg of α -tocopherol-equivalent (sum of the individual tocopherols and tocotrienols with respect to their biological activity) [22]. Content of β and γ -tocotrienols was determined together as it has been found that joint ($\beta + \gamma$) determination is more advantageous from the chromatographic view due to a better stability of the system and result reproducibility. Today this is the most commonly used determination.

Statistical evaluation of the results of activity and content of vitamin E isomer contents was performed in the program StatSoft, Inc. (2009), STATISTICA, version 9.0. by the analysis of variance (ANOVA) and multiple comparison of average values using the Fischer's test (LSD-test) at $P = 0.05$.

3 RESULTS AND DISCUSSION

Based on the evaluation of the experimental results obtained with the analysis of variance (ANOVA – Tab. 2), significant to highly significant effects of varieties, growing regimes and years on the variability of activity and content of the individual vitamin E isomers were found (only the effect of the growing regime on alpha-tocopherol was insignificant). Most interactions of factors also affected the studied parameters statistically significantly. Based on these results, many significant differences in average values of activity and the individual vitamin E isomers caused by factors included in this study (varieties, years, regimes and their interactions) were determined by subsequent testing.

3.1 Evaluation of varieties in the growing regimes

Activity of vitamin E in the regime drought in 2009 (Tab 3) was significantly higher (18.07 mg.kg^{-1}) in the caryopses of the line KM 1057 versus all other varieties which formed a homogeneous group with

Tab. 2 Analýza variance pro aktivitu vitamínu E a obsah jednotlivých isomerů / *Analysis of variance for vitamin E activity and the individual isomer contents*

Zdroj proměnlivosti / Source of variability	n ¹	PČ							
		E vit (mg.kg ⁻¹)	α -T	β -T	γ -T	δ -T	α -T3	$\beta + \gamma$ -T3	δ -T3
Odrůda (odr) / Variety (var)	4	32.66***	46.38***	0.13***	4.21***	0.53***	101.49***	8.54***	0.92***
Režim / Regime	2	16.83**	4.65	0.02*	0.57*	0.62***	36.13***	5.37***	0.07**
Rok / Year	1	1024.98***	374.15***	2.24***	71.94***	4.49***	1357.77***	31.07***	2.98***
odr x režim / Year x regime	8	6.90	4.05	0.01	0.28	0.11*	7.39**	3.38***	0.10***
rok x rok / Year x year	4	61.12***	53.80***	0.06***	1.92***	0.33***	9.01	9.15***	0.18***
režim x rok / Regime x year	2	7.09	6.14	0.02*	0.69*	0.89***	34.66***	16.69***	0.12***
odr x rež x rok / Var x reg x year	8	19.78***	9.60***	0.03***	1.03***	0.20***	22.56***	1.34***	0.05***
Chyba / Error	90	3.41	2.09	0.00	0.15	0.05	2.67	0.26	0.01

Pozn. / Note: * – $p \leq 0.05$; ** – $p \leq 0.01$; *** – $p \leq 0.001$; PČ = průměrný čtverec / mean square

Tab. 3 Obsah isomerů a aktivita vitamínu E / *Isomer content and vitamin E activity*

Obilka / <i>Caryopsis</i>			Obsah (mg.kg ⁻¹ sušiny) / <i>Content (mg.kg⁻¹ of dry matter)</i>							
Režim / <i>Regime</i>	Odrůdy / <i>Varieties</i>	Rok / <i>Year</i>	E vit	α-T	β-T	γ-T	δ-T	α-T3	β+γ-T3	δ-T3
Sucho <i>Drought</i>	Wabet	2009	9.43 fghij	5.78 ghij	0.37 ghij	2.09 ghij	0.37 ab	10.49 ghi	4.36 defg	0.66 bc
		2010	8.11 efgh	4.68 efgh	0.28 defg	1.60 defg	0.86 defg	9.90 gh	5.30 hij	1.18 j
	Wanubet	2009	9.69 ghij	4.53 defg	0.37 ghij	2.09 ghij	1.22 hijkl	15.51 no	4.68 fghi	0.65 bc
		2010	7.08 def	3.71 cdef	0.22 abcde	1.22 abcde	0.66 bcde	10.02 gh	4.52 defg	0.99 ghi
	Kompakt	2009	9.95 ghij	5.81 ghij	0.67 o	3.79 o	0.95 efgh	11.12 hijk	4.56 defg	0.75 cd
		2010	6.40 cde	4.16 defg	0.36 ghij	2.04 ghij	0.71 cdef	5.90 bcde	3.68 bcd	0.84 def
	Krona	2009	11.24 ijk	6.70 hijk	0.46 jkl	2.58 jkl	0.89 defg	13.14 klm	4.66 fgh	0.65 bc
		2010	8.00 defgh	5.35 efghi	0.28 cdefg	1.56 cdefg	0.64 abcd	7.52 ef	3.91 cde	0.90 fg
	KM1057	2009	18.08 n	13.70 m	0.62 no	3.49 no	0.95 efgh	11.86 hijkl	6.74 m	0.90 defg
		2010	4.01 abc	2.54 abcd	0.15 ab	0.87 ab	0.51 abc	4.02 abc	3.36 bc	1.18 j
Pozdní Sucho <i>Late drought</i>	Wabet	2009	11.83 jk	7.36 ijk	0.44 ijk	2.48 ijk	0.99 fghi	12.99 jklm	4.35 defg	0.54 ab
		2010	3.50 ab	1.73 abc	0.19 abcd	1.07 abcd	1.05 ghij	4.75 bcd	4.63 fgh	0.98 fghi
	Wanubet	2009	10.54 hijk	5.61 fghi	0.44 ijk	2.51 ijk	1.44 l	14.50 mno	4.46 defg	0.47 a
		2010	6.66 de	3.54 bcde	0.31 fgh	1.78 fgh	1.28 ijkl	8.70 fg	6.08 klm	0.93 fgh
	Kompakt	2009	12.72 kl	7.79 jk	0.77 p	4.35 p	1.02 ghi	13.42 lmn	5.00 ghi	0.54 ab
		2010	2.33 a	0.91 a	0.22 abcdef	1.27 abcdef	0.67 bcde	3.61 ab	3.74 bcd	0.75 cde
	Krona	2009	8.33 efgh	4.99 efgh	0.35 ghi	1.97 ghi	0.84 defg	9.64 fgh	3.13 b	0.44 a
		2010	7.40 defg	5.09 efgh	0.30 efgh	1.70 efgh	0.88 defg	6.17 cde	4.84 ghi	1.12 ij
	KM1057	2009	15.09 lm	11.36 l	0.49 klm	2.75 klm	1.33 jkl	10.23 ghi	5.75 jkl	1.09 ij
		2010	5.45 bcd	3.71 cdef	0.18 abc	1.02 abc	0.62 abcd	4.73 bcd	4.31 defg	1.42 k
Mokro <i>Wetness</i>	Wabet	2009	11.25 ijk	5.64 fghi	0.55 lmn	3.13 lmn	1.36 kl	16.40 o	4.85 ghi	0.41 a
		2010	2.37 a	1.53 ab	0.13 a	0.75 a	0.48 abc	2.10 a	2.37 a	1.00 ghi
	Wanubet	2009	12.87 klm	5.84 ghij	0.53 klmn	3.02 klmn	1.81 m	20.98 p	6.51 m	0.75 cde
		2010	8.75 efghi	5.14 efgh	0.25 bcdef	1.39 bcdef	0.64 abcd	10.70 ghij	4.92 ghi	1.05 hij
	Kompakt	2009	11.08 ijk	6.03 ghij	0.68 op	3.85 op	1.26 ijkl	13.96 lmn	6.45 lm	0.52 ab
		2010	7.00 def	4.60 defg	0.38 hij	2.17 hij	0.85 defg	6.31 de	4.01 cdef	0.71 cd
	Krona	2009	12.57 kl	8.12 k	0.56 mn	3.19 mn	1.12 ghijk	12.44 ijklm	5.38 ijk	0.52 ab
		2010	8.79 efghi	6.16 ghijk	0.28 defg	1.61 defg	0.67 bcde	7.39 ef	4.02 cdef	0.84 def
	KM1057	2009	15.41 m	11.09 l	0.53 klmn	3.00 klmn	1.08 ghijk	11.73 hijkl	8.95 n	1.39 k
		2010	6.56 cde	4.52 defg	0.18 abc	1.04 abc	0.36 a	5.68 bcde	4.89 ghi	1.12 ij

Pozn.: Průměrné hodnoty označené odlišnými písmeny ve sloupcích se od sebe statisticky významně liší při $P=0.05$; T = tokoferoly, T3 = tokotrienoly
 Note.: Mean values denoted with different letters in the columns differ statistically significantly at $P=0.05$; T = tocopherols, T3 = tocotrienols

v roce předchozím (2009) v režimu sucho vyznačovala aktivitou vitamínu E nejvyšší a významně se tak odlišila od všech vzorků z obou režimů sucha i z mokra. V roce 2009 rovněž měla významně vyšší aktivitu vitamínu E i v režimu pozdní sucho (15,09 mg.kg⁻¹) a v režimu mokro (15,41 mg.kg⁻¹), těmito hodnotami se lišila od vzorků Wanubet ostatních odrůd v rámci těchto režimů (s výjimkou odrůdy Wanubet v mokrému režimu – 12,87 mg.kg⁻¹). Odrůda Kompakt ve vzorcích z pozdního sucha (2,33 mg.kg⁻¹), odrůda Wabet ze stejného režimu (3,50 mg.kg⁻¹) i z mokra (2,37 mg.kg⁻¹) měly stanoveny v roce 2010 významně nižší aktivitu vitamínu E oproti celému souboru ve všech vláhových režimech (tab. 3). Současně měly tyto odrůdy v režimu pozdního sucha i významně nižší hodnoty isomeru α-T (0,91 a 1,73 mg.kg⁻¹) ve srovnání se všemi ostatními vzorky odrůd v tomto roce (2,54–6,16 mg.kg⁻¹) ze všech režimů pěstování.

Byly zjištěny významné rozdíly mezi aktivitou vitamínu E v suchých a mokřích režimech pokusu u některých odrůd v letech, což je možné zjistit z tab. 3. Největší významný rozdíl byl zjištěn u odrůdy Wabet (5,74 mg.kg⁻¹) ve prospěch suchého režimu v roce 2010. Linie KM 1057 se rovněž lišila významně vyšší hodnotou v suchém režimu o 2,67 mg.kg⁻¹ od mokré varianty v roce 2009. Jeví se tedy, že odrůda a linie reagovaly ze všech odrůd nejcitlivěji na stres ze sucha. Můžeme tedy usuzovat na silnější obranný mechanismus odrůdy Wabet a linie KM 1057 k oxidativnímu stresu ze sucha a jejich vyšší aktivitu vitamínu E považovat za obrannou reakci. Podobně [20] pozorovali, že koncentrace celkových tokolů byla závislá na genotypu ječmene a prostředí pěstování. Rovněž v dřívější práci jsme pozorovali biosyntézu odlišného množství isomerů vitamínu E v závislosti na povětrnostních podmínkách ročníků pěstování [18].

the range of activity from 9.43–11.24 mg.kg⁻¹. The lowest activity belonged to the variety Wabet. On the contrary, in 2010 this variety exhibited the highest activity in the set (8.11 mg.kg⁻¹), the varieties Kompakt, Wanubet and Krona had insignificantly lower values (6.40–8.00 mg.kg⁻¹). The line KM 1057 had statistically lower activity in this year (4.01 mg.kg⁻¹). However, in the previous year (2009) this line under the dry regime had the highest activity of vitamin E differing thus significantly from all samples from both dry and wet regimes. In 2009 it also had significantly higher activity of vitamin E in the late drought regime (15.09 mg.kg⁻¹) and in the wetness regime (15.41 mg.kg⁻¹), by these values it differed from the samples of all other varieties within these regimes (with the exception of the variety Wanubet in the wet regime (12.87 mg.kg⁻¹). In 2010 the variety Kompakt in late drought samples (2.33 mg.kg⁻¹), variety Wabet from the same regime (3.50 mg.kg⁻¹) and from wetness (2.37 mg.kg⁻¹) had significantly lower vitamin E activity versus the whole set in all variants of the moisture regime (Tab. 3). At the same time these varieties also had in late drought regime significantly lower values of the α-T isomer (0.91 and 1.73 mg.kg⁻¹) compared to all other samples of varieties in that year (2.54–6.16 mg.kg⁻¹) from all growing regimes.

Significant differences between vitamin E activity in dry and wet regimes of the experiment in some varieties in years were found, as shown in Tab. 3. The highest significant difference was found in the variety Wabet (5.74 mg.kg⁻¹) in favor of the dry regime in 2010. In 2009 the line KM 1057 also differed significantly in a higher value of the dry regime versus the wet one (higher by 2.67 mg.kg⁻¹). It appears that the variety and line reacted most sensitively of all the varieties to the drought-induced stress. Therefore we can assume a stronger

Tab. 4 Obsahy isomerů a aktivity vitamínu E v průměru souboru odrůd / Isomer contents and vitamin E activity on the average of varieties

Režim / Regime	Rok/Year	Obsah (mg.kg ⁻¹ sušiny) / Content (mg.kg ⁻¹ of dry matter)									
		E vit	α-T	β-T	γ-T	δ-T	α-T3	β+γ-T3	δ-T3		
Sucho / Drought	2009	11.68 ^b	7.31 ^b	0.50 ^b	2.81 ^b	0.88 ^b	12.42 ^c	5.00 ^c	0.65 ^{ab}		
Pozdní sucho / Late drought		11.70 ^b	7.42 ^b	0.50 ^b	2.81 ^b	1.12 ^c	12.16 ^c	4.54 ^{abc}	0.62 ^a		
Mokro / Wetness		12.63 ^b	7.34 ^b	0.57 ^c	3.24 ^c	1.33 ^d	15.10 ^d	6.43 ^d	0.79 ^b		
Sucho / Drought	2010	6.72 ^a	4.09 ^a	0.26 ^a	1.46 ^a	0.67 ^a	7.47 ^b	4.15 ^{ab}	0.97 ^c		
Pozdní sucho / Late drought		5.07 ^a	3.00 ^a	0.24 ^a	1.37 ^a	0.90 ^b	5.59 ^a	4.72 ^{bc}	1.04 ^c		
Mokro / Wetness		6.69 ^a	4.39 ^a	0.25 ^a	1.39 ^a	0.60 ^a	6.44 ^{ab}	4.04 ^a	0.99 ^c		

Pozn.: Průměrné hodnoty označené odlišnými písmeny ve sloupcích se od sebe statisticky významně liší při $P=0.05$; T = tokoferoly, T3 = tokotrienoly
 Note.: Mean values denoted with different letters in the columns differ statistically significantly at $P=0.05$; T = tocopherols, T3 = tocotrienols

Jak je patrné z tab. 3, významně vyšší obsah majoritního α -tokotrienolu měly obilky odrůd Wanubet (15,51 mg.kg⁻¹), Krona (13,14 mg.kg⁻¹), linie KM 1057 (11,86 mg.kg⁻¹) a odrůda Kompakt (11,12 mg.kg⁻¹) ze suchého režimu pokusu oproti ostatním vzorkům z tohoto režimu v obou letech pokusu. V mokřím režimu pokusu v roce 2009 však bylo dosaženo statisticky významně vyšší hodnoty (20,98 mg.kg⁻¹) u odrůdy Wanubet oproti vzorkům odrůd ze všech variant z obou let pokusu. Odrůdy Wabet, Kompakt a Wanubet měly v roce 2009 významně vyšší obsah tohoto isomeru i v režimu pozdní sucho (12,99–14,50 mg.kg⁻¹) oproti ostatním vzorkům v tomto režimu. Druhá nejvyšší hodnota stejného isomeru patřila v témže roce odrůd Wabet (16,40 mg.kg⁻¹) ve vzorku z mokřého režimu.

3.2 Hodnocení režimů pěstování

V roce 2009 (tab. 4) nebyly vzorky v průměru odrůd z mokré varianty bohatší na isomer α -T (7,34 mg.kg⁻¹) než v režimu sucho a pozdní sucho, minoritní isomery β , γ a δ -T však v průměru vzorků všech odrůd vyústily ve statisticky významně vyšší množství z tohoto režimu.

Hladina isomeru α -T3 byla rovněž statisticky významně vyšší ve vzorcích z mokřého režimu (15,10 mg.kg⁻¹) oproti vzorkům z režimu sucho a pozdní sucho (12,42–12,16 mg.kg⁻¹). Podobně tomu bylo u minoritních isomerů β + γ -T3 s významně vyšším obsahem v mokřím režimu (6,43 mg.kg⁻¹), obdobná situace byla i u isomerů δ -T3, tj. vyšší obsah byl v průměru vzorků mokřého režimu. V experimentu [23] byly zjištěny genotypové rozdíly na oxidativní stres a obranné reakce v důsledku mokra. Naše výsledky jsou obdobné, neboť jsme zjistili genotypové odlišné obranné reakce v odlišných půdních vláhových režimech pěstování. Ty byly hodnoceny jako obsah isomerů a aktivita vitamínu E. V roce 2010 nebyly zaznamenány v průměru všech odrůd významné rozdíly v hodnotách aktivity vitamínu E a isomerů α , β , γ -T a δ -T3 mezi režimy pěstování, vyšší hodnoty však patřily vzorkům ze suchého režimu. Hodnoty α -T3 isomeru byly významně vyšší (7,47 mg.kg⁻¹) v průměru suchého režimu oproti dalším dvěma režimům.

3.3 Hodnocení pokusných roků

V rámci hodnocení souboru odrůd jako celku byly nejnižší hodnoty většiny sledovaných parametrů vitamínu E stanoveny v obilkách z režimu pěstování pozdní sucho (tab. 5). Aktivita vitamínu E v obilkách pak v souhrnu (součtu) všech odrůd převyšovala v letech 2009 a 2010 v režimu mokra o 32 % a v režimu sucha 22–32 % (obr. 1 a 2) režim pozdní sucho. Obdobně tomu bylo i u isomeru α -T, v roce 2010 měl o 36 % vyšší hodnoty v suché a o 46 % v mokřím režimu pěstování, isomer α -T3 měl ke srovnávanému režimu v témže roce o 46 % vyšší hodnoty v suché a v roce 2009 o 24 % v mokřím variantě pokusu. Výsledky statistického hodnocení však mezi vzorky v průměru odrůd nepotvrdily významné rozdíly v aktivitě vitamínu E a obsahu isomeru α -T mezi režimy pěstování v jednotlivých letech pokusu (tab. 4), avšak v průměru obou roků byly rozdíly jak v obsahu α -T, α -T3 i aktivitě vitamínu E významné (tab. 5).

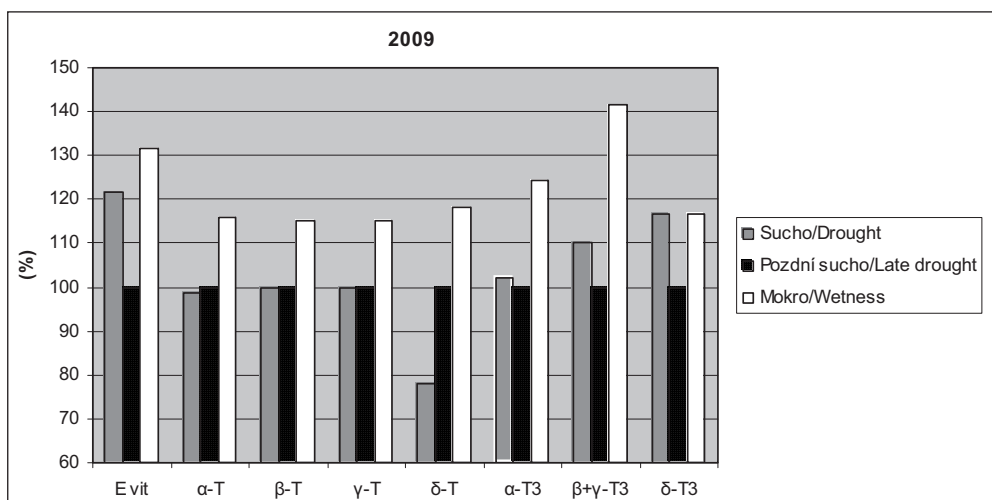
defensive mechanism of the variety Wabet and line KM 1057 to the oxidative stress induced by drought and their higher vitamin E activity. Similarly, the authors [20] observed that concentration of total tocopherols depended on barley genotypes and environment in three growing localities. In our earlier study we also observed biosynthesis of different amount of vitamin E isomers depending on the weather conditions of the growing years [18].

As evident from Tab. 3, significantly higher content of the majority α -tocotrienol was found in the caryopses of the varieties Wanubet (15.51 mg.kg⁻¹), Krona (13.14 mg.kg⁻¹), line KM 1057 (11.86 mg.kg⁻¹) and the variety Kompakt (11.12 mg.kg⁻¹) from the dry regime versus the other samples from this regime from both the experiment years. However, in the dry regime in 2009 statistically significantly higher value (20.98 mg.kg⁻¹) was achieved in the variety Wanubet versus the samples of varieties from all variants from both experiment years. In 2009 the varieties Wabet, Kompakt and Wanubet also had significantly higher content of this isomer in the late drought regime (12.99 – 14.50 mg.kg⁻¹) compared to the other samples in this regime. The variety Wabet had the second highest value of the same isomer in the same year (16.40 mg.kg⁻¹) in the sample from this wet regime.

3.2 Evaluation of the growing regimes

In 2009 (Tab. 4), on average of varieties from the wet regime, the samples were not more abundant in isomer α -T (7.34 mg.kg⁻¹) than in the drought and late drought regime, however, the minority β , γ and δ -T isomers on the average of samples of all varieties from this regime had statistically significantly higher amount. The level of α -T3 isomer was also statistically significantly higher in samples from the wet regime (15.10 mg.kg⁻¹) versus the samples from the regime drought and late drought (12.42–12.16 mg.kg⁻¹). Similar situation was in the minority β + γ -T3 isomers with a significantly higher content in the wet regime (6.43 mg.kg⁻¹) and in δ -T3 isomers, i.e. higher content was on the average of the samples from the wet regime. In the experiment [23] genotype differences to oxidative stress and defense responses due to wet were found. Our results are similar as genotype-different defense responses in different growing moisture regimes were found. They were assessed as isomer content and vi-

Obr. 1 Obsahy isomerů a aktivita vitamínu E v procentickém vyjádření k variantě pozdní sucho (100 %) v roce 2009 / Fig. 1 Isomer contents and vitamin E activity in percentage to the late drought variant (100 %) in 2009



V režimu pozdního sucha byla v průměru aktivita vitamínu E nižší ($8,38 \text{ mg.kg}^{-1}$), oproti režimu sucho ($9,19 \text{ mg.kg}^{-1}$) a významně nižší i oproti variantě mokro ($9,66 \text{ mg.kg}^{-1}$) (tab. 5). Stejná tendence byla pozorována v hladině α -T, která byla statisticky významně vyšší rovněž v mokřím režimu ($5,86 \text{ mg.kg}^{-1}$) ve srovnání se suchým režimem ($5,20 \text{ mg.kg}^{-1}$) a hodnota α -T3 byla ve vzorcích z mokřého režimu ($10,76 \text{ mg.kg}^{-1}$) opět významně vyšší nejen oproti vzorkům z pozdního sucha ($8,87 \text{ mg.kg}^{-1}$), ale i ze sucha ($9,94 \text{ mg.kg}^{-1}$). Dá se tedy předpokládat, že většina odrůd pocítovala větší míru stresu z podmínek sucha, které trvalo delší dobu, i z podmínek mokra.

V jednotlivých letech pokusu však lze pozorovat specifické trendy. V roce 2010 s chladnějším počasím a vyšší relativní vlhkostí vzduchu, vzhledem k vyšším srážkám (tab. 1), byl průměrný obsah α -T celého souboru odrůd mírně vyšší v mokřím režimu oproti suchému, v obsahu druhého majoritního isomeru α -T3 tomu bylo naopak (obr. 2, tab. 4), dokonce průměrná hodnota ze suchého režimu byla významně vyšší oproti pozdnímu suchu.

Vyšší teploty s nižší relativní vlhkostí vzduchu (v důsledku nižších srážek) v roce 2009 oproti roku 2010 (tab. 1) mohly být jednou z příčin vyšší aktivity vitamínu E a biosyntézy jeho majoritních isomerů α -T a α -T3 u souboru odrůd (tab. 5). Jmenovitě u linie KM 1057 se jednalo o zvýšení isomeru α -T a u odrůdy Wanubet, případně odrůdy Krona o isomer α -T3 (tab. 3). Po převedení hodnot jednotlivých isomerů na aktivitu pak linie KM 1057 měla v roce 2010 o $2,55 \text{ mg.kg}^{-1}$ a odrůda Wanubet v roce 2009 o $3,18 \text{ mg.kg}^{-1}$ zvýšenou aktivitu vitamínu E v mokřím režimu oproti suchému. Bylo by tedy možné považovat tyto dva genotypy za citlivé i k vlhčím podmínkám v mokřím režimu pokusu.

Významně zvýšená biosyntéza isomerů α -T3 v suchém i mokřím režimu pokusu je patrná v průměru vzorků z celého pokusu (tab. 5), což může svědčit o významu tohoto isomeru v obranné reakci rostlin na stres ze sucha i z vlhčích podmínek (mokřý režim). Byly potvrzeny naše dřívější výsledky o nejvyšší schopnosti biosyntézy isomerů vitamínu E, zejména majoritních, odrůdami s waxy endospermem – Wabet a Wanubet a k nim můžeme přidat bezpluchou linii KM 1057 (tab. 5). Podobně jako [17,6] můžeme potvrdit přítomnost všech osmi isomerů vitamínu E v obilkách ječmene.

Tab. 5 Průměrné hodnoty aktivity a obsahu majoritních isomerů vitamínu E (mg.kg^{-1}) / Mean values of activity and content of majority vitamin E isomers (mg.kg^{-1})

Odrůda / Variety	E (mg.kg^{-1})	a-T	a-T3
KM1057	7.74	a	4.45
Kompakt	8.24	ab	4.72
Krona	9.26	bc	4.88
Wabet	9.38	c	6.06
Wanubet	10.76	d	7.81
Režim / Regime			
Pozdní sucho / late drought	8.38	a	5.20
Sucho / drought	9.19	ab	5.69
Mokro / wetness	9.66	b	5.86
Rok / Year			
2010	6.15	a	3.82
2009	12.01	b	7.35

Pozn.: Průměrné hodnoty označené odlišnými písmeny ve sloupcích se od sebe statisticky významně liší při $P=0,05$; T = tokoferoly, T3 = tokotrienoly

Note.: Mean values denoted with different letters in the columns differ statistically significantly at $P=0.05$; T = tocopherols, T3 = tocotrienols

tamin E activity. In 2010 on the average of all varieties no significant differences were recorded in the values of vitamin E activity and α , β , γ -T and δ -T3 isomers in the growing regimes but the dry regime samples had higher values. The values of α -T3 isomer were significantly higher (7.47 mg.kg^{-1}) on the average of the dry regime versus the other two regimes.

3.3 Evaluation of the years of the experiment

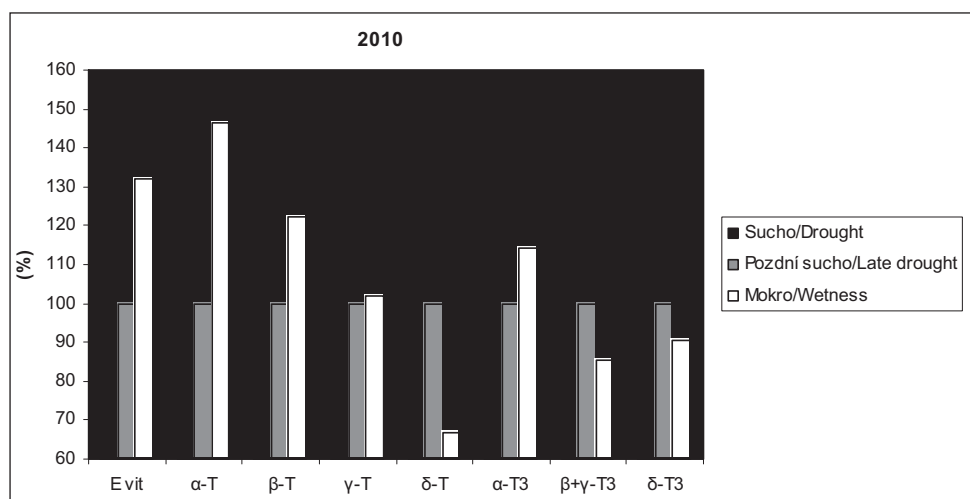
Within the evaluation of the set of the varieties as a whole, the lowest values of most of the studied parameters of vitamin E were determined in caryopses in the growing regime late drought (Table 5). In 2009 and 2010 activity of vitamin E in the caryopses then in a sum of all varieties exceeded in the wet regimes by 32 % and in the drought regime by 22–32 % (Figures 1 and 2) the late drought variant. In α -T isomer it was similar, in 2010 it had by 36 % higher values in the dry and by 46 % in the wet growing regime, isomer α -T3 had versus the compared regime in the same year by 46 % in the dry and in 2009 by 24 % higher values in the wet regime of the experiment.

The results of the statistical evaluation of samples, however, did not confirm significant differences in vitamin E activity and content of isomer α -T between the growing regimes in the individual experiment years on the average of varieties (Tab. 4) but on the average of both years, the differences both in the α -T, α -T3 isomer content and vitamin E activity were found (Tab. 5). Vitamin E activity was on average lower (8.38 mg.kg^{-1}) in the late drought regime versus the drought variant (9.19 mg.kg^{-1}) and significantly lower also versus the wet variant (9.66 mg.kg^{-1}) (Tab. 5). The same tendency was observed in the α -T level which was statistically significantly higher also in the wet regime (5.86 mg.kg^{-1}) compared to the wet regime (5.20 mg.kg^{-1}) and the value of α -T3 was in all samples from the wet regime (10.76 mg.kg^{-1}) again significantly higher not only compared to the samples from late drought (8.87 mg.kg^{-1}) but also from the drought (9.94 mg.kg^{-1}). Therefore, it may be assumed that most of the varieties felt a higher degree of stress from the conditions of drought which lasted a longer time as well as from the wet conditions. However, specific trends can be observed in the individual experimental years. In 2010 with a colder weather and higher relative air humidity – due to higher precipitation (Tab. 1) average content of α -T was slightly higher in the whole set of the varieties in the wet versus to dry variant unlike the content of the second majority α -T3 isomer (Fig. 2, Tab. 4), even the average value from the dry variant was significantly higher compared to the late drought regime.

Higher temperatures in 2009 versus 2010 (Tab. 1) could be one of causes of higher vitamin E activity and biosynthesis of its majority α -T and α -T3 isomers in the set of varieties (Tab. 5). Namely in the line KM 1057 α -T and in the variety Wanubet or Krona α -T3 isomers were increased (Table 3). After converting the values of the individual isomers to activity, the line KM 1057 in 2010 had by 2.55 mg.kg^{-1} and the variety Wanubet in 2009 by 3.18 mg.kg^{-1} increased activity of vitamin E in wet compared to the dry regime.

Therefore, these two genotypes may be sensitive also to wetter conditions in the wet regime of the experiment. Significantly increased biosynthesis of α -T3 isomer in the dry and wet regimes of the experiment is evident on the average of samples from the whole experiment (Tab. 5), confirming thus the significance of this isomer in the defense plant response to stress induced by drought and wetter conditions (wet regime). It confirmed our earlier results about the highest capacity of biosynthesis of vitamin E isomers, namely majority ones, by

Obr. 2 Obsahy isomerů a aktivita vitamínu E v procentickém vyjádření k variantě pozdní sucho (100 %) v roce 2010 / Fig. 2 Isomer contents and vitamin E activity in percentage to the late drought variant (100 %) in 2010



4 ZÁVĚR

Můžeme konstatovat, že podmínky pěstování ve variantě pozdní sucha, které bylo navozeno až na začátku fáze metání, vedly k nejnižším obsahům většiny isomerů a aktivity vitamínu E. Pravděpodobně se tento režim nejvíce blížil přirozeným podmínkám pěstování. Na zvýšení obsahu většiny isomerů a aktivity vitamínu E měly vliv režimy sucha i mokra, a to v obou letech, což je možné považovat za obrannou reakci na stres pěstovaných odrůd, navozený vláhovými podmínkami v těchto režimech pěstování. Výjimkou byl obsah α -T v roce 2009, jehož hodnoty byly shodné ve všech režimech pěstování. Byly také zjištěny odrůdové reakce na odlišné režimy pěstování odrůd, které se projevíly obsahy isomerů a aktivitou vitamínu E. Byl pozorován i vliv ročníků pěstování, především teploty a relativní vlhkosti ovzduší.

Byl pozorován silnější obranný mechanismus odrůdy Wabet a linie KM 1057 k oxidativnímu stresu ze sucha, a jejich nejvyšší aktivitu vitamínu E v tomto režimu je možné považovat za obrannou reakci. Odrůdy Wabet a Wanubet, které se od dalších odrůd v souboru liší genetickým původem i proveniencí (USA), se v sušším a teplejším roce 2009 vyznačovaly vyšší biosyntézou α -tokotrienolu v mokřím i suchém režimu, což by mohlo být označeno za projev obranné reakce vůči stresu z mokra i ze sucha.

Vzhledem k rozdílům výše aktivity i obsahu majoritních isomerů (α -T a α -T3) mezi roky pěstování odrůd v odlišných půdních vláhových režimech, je žádoucí pro zobecnění výsledků experimentu pokračovat ve výzkumu v dalším roce (což je již realizováno).

Poděkování

Práce vznikla za podpory projektu 1M0570 „Výzkumné centrum pro studium obsahových látek ječmene a chmele“ Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

Recenzovaný článek / Reviewed paper

Do redakce došlo / Manuscript received: 5. 6. 2011

Přijato k publikování / Accepted for publication: 21. 6. 2011

LITERATURA / REFERENCES

1. Ryšlavá, H., Doubnerová, V.: Enzymy Hatchova-Slackova cyklu v C3 rostlinách. *Chem. Listy* **104**, 2010, 1175–2010.
2. Havlová, M., Dobrev, P. I., Motyka, V., Štorchová, H., Libus, J., Dobrá, J., Malbeck, J., Gaudinová, A. and Vanková, R.: The role of cytokinins in responses to water deficit in tobacco plants over-expressing *trans*-zeatin O-glucosyltransferase gene under **35S** or **SAG12** promoters. *Plant, Cell & Environment* **31**, 2008, 341–353.
3. Dobrá, J., Motyka, V., Dobrev, P., Malbeck, J., Prasil, I. T., Haisel, D., Gaudinová, A., Havlova, M., Gubis, J., Vankova, R.: Comparison of hormonal responses to heat, drought and combined stress in tobacco plants with elevated proline content. Original Research Article. *Journal of Plant Physiology* **167**, Issue 16, 1 November 2010, 1360–1370.
4. Středa, T., Dostál, V., Chloupek, O., Bodner, G.: Šlechtění a výběr odrůd obilnin s větší tolerancí k suchu. *Úroda*. 2009. sv. **LVII**, č. 5, 10–12.
5. Brinch-Pedersen, H., Borg, S., Tauris, B., Holm, P. B.: Molecular genetic approaches to increasing mineral availability and vitamin content of cereals. *Journal of Cereal Science*. 2007 (46), 308–326.
6. Panfili, G., Frantianni, A., Di Criscio, T., Marconi, E.: Tocol and β -glucan levels in barley varieties and in pearling by-products. *Food Chemistry*, 2008 (107), 84–91.
7. Ehrenbergerová, J., Březinová Belcredi, N., Kopáček, J., Melišová, L., Hrstková, P., Macuchová, S., Vaculová, K., Paulíková, I.: Antioxidant enzymes in barley green biomass. *Plant Foods for Human Nutrition* **64**, 2009, 122–128.
8. Hosmanová, R., Douša, M.: HPLC stanovení obsahu vitamínu E v krmných surovinách, krmivech a potravinách. *Chem. Listy* **101**, 2007, 578–583.
9. Gimeno, E., Castellote, A. I., Lamuela-Renentós, R. M., Torre, M. C. de la, López-Sabater, M. C.: Rapid determination of vitamin E in vegetable oils by reversed phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **881**, 2000, 251–254.
10. Březinová Belcredi, N., Ehrenbergerová, J., Benešová, K., Vaculová, K.: Variabilita aktivity vitamínu E a jeho izomerů v zrna ječmene. *Kvasný Prum.* **56**, 2010, 88–92.

the varieties with the waxy endosperm – Wabet and Wanubet and the hullless line KM 1057 (Tab. 5). Similarly as [17,6], we can confirm the presence of all eight isomers of vitamin E in barley caryopses.

4 CONCLUSIONS

We can state that the growing conditions in the variant late drought which was induced only at beginning of the heading phase led to the lowest contents of most isomers and vitamin E activity. Presumably, this regime was the closest to the natural growing conditions. The regimes of the dry and wet variant of the experiment in both years affected the increase in content in most isomers of the experiment in both years which can be explained as the variety defense response to the stress induced by the moisture conditions in these growing regimes, with the exception of α -T content in 2009 which had the same values in all growing regimes. Varietal responses to different growing regimes were also found, they were reflected in isomer contents and vitamin E activity. The effect of growing years, especially temperature and soil moisture was observed.

Stronger defense mechanism in the variety Wabet and line KM 1057 to oxidative stress induced by drought and their highest vitamin E activity in this regime can be explained as the defense response. The varieties Wabet and Wanubet, differing from the other varieties in the set by their genetic origin and provenience (USA), exhibited in a drier and warmer year 2009 higher α -tocotrienol biosynthesis in the wet and dry regimes, which could be denoted as manifestation of the defense response to stress due to wetness and drought.

Considering the differences in the activity and content of majority isomers (α -T and α -T3) between the growing years under different soil moisture regimes, it is desirable for the assessment of general results of the experiment to continue in research in next year (already being realized).

Acknowledgements

This study was funded by project 1M0570 (Research Centre for Study of Extract Compounds of Barley and Hop) of the MEYS.

11. Weber, S., U., Rimbach, G.: Handbook of Antioxidants. 2nd edition. Switzerland: Marcel Dekker. Biological Activity of Tocotrienols, 2002, 109–115.
12. Velíšek, J.: *Chemie potravin* 2. vyd. 2. Tábor: OSSISS, Vitamin E, 2002, 51–60.
13. Chen, S., Li, H., Liu, G.: Progress of vitamin E metabolic engineering in plants. *Transgenic Research* **15**, 2006, 655–665.
14. Suzuki, Y. J., Tsuchiya, M., Wassall, S. R., Choo, Y. M., Govil, G., Kagan, V. E., Packer, L.: Structural and dynamic membrane properties of alpha-tocopherol and alpha-tocotrienol: implication to the molecular mechanism of their antioxidant potency. *Biochemistry* **32**, 1993, 10682–10689.
15. Packer, L., Weber, S. U., Rimbach, G.: Molecular aspects of alpha-tocotrienol antioxidant action and cell signalling. *Journal of Nutrition*, **131**, 2001, 369–373.
16. Cavallero, A., Gianinetti, A., Franca, F., Delogu, G., Stanca, A. M.: Tocols in hull-less and hulled barley genotypes grown in contrasting environments. *Journal of Cereal Science* **39**, 2004, 175–180.
17. Velíšek, J.; Cejpek, K.: *Biosynthesis of Food Components*. 1st edition. Tábor: OSSIS, Vitamins, 2008, 181–185.
18. Ehrenbergerová, J., Belcrediová, N., Prýma, J., Vaculová, K., Newman, C. W.: Effect of Cultivar, Year Grown, and Cropping System on the Content of Tocopherols and Tocotrienols in Grains of Hulled and Hullless Barley. *Plant Foods for Human Nutrition* **61**, 2006, 145–150.
19. Kalač, P.: *Funkční potraviny: kroky ke zdraví*. České Budějovice: DONA s. r. o., 2003, 130.
20. Peterson, D. M., Qureshi, A. A.: Genotype and Environment Effects on Tocols of Barley and Oats. *Cereal chemistry* **70**, 1993, 157–162.
21. Prýma, J., Ehrenbergerová, J., Belcrediová, N., Vaculová, K.: *Acta Chim. Slov.* **54**, 2007, 102.
22. McLaughlin, P. J., Weibrauch, J. L.: Vitamin E content of foods. *J. Am Diet Assoc.* **75**, 1979, 647.
23. Zhang, G., Tanakamaru, K., Abe, J., Morita, S.: Influence of waterlogging on some anti-oxidative enzymatic activities of two barley genotypes differing in anoxia tolerance. *Acta Physiol Plant* **29**, 2007, 171–176.