

Patogenní metabolity v obilkách ječmene a jejich vliv na kvalitu sladovnického ječmene a sladu

Pathogenic Metabolites in Barley Caryopses and Their Effect on Quality of Malting Barley and Malt

KAROLÍNA BENEŠOVÁ, VRATISLAV PSOTA, RENATA MIKULÍKOVÁ, SYLVIE BĚLÁKOVÁ, ZDENĚK SVOBODA
Výzkumný 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
e-mail: benesova@beerresearch.cz

Benešová, K. – Psota, V. – Mikulíková, R. – Běláková, S. – Svoboda, Z.: Patogenní metabolity v obilkách ječmene a jejich vliv na kvalitu sladovnického ječmene a sladu. Kvasny Prum. 57, 2011, č. 7–8, s. 215–218.

V letech 2008–2010 bylo analyzováno 69 vzorků pluchatých i bezpluchých odrůd a linií zrna ječmene a z něj vyrobeného sladu. Byla sledována aktivita enzymů zapojených v obranné reakci rostlin vůči napadení patogeny – chitinasy a 1,3- β -glukanasy. Dále byla pomocí aglutinačního testu EPS sledována přítomnost polysacharidu galaktomananu, který je součástí buněčných stěn vláknitých mikromycet. V nesladovaných obilkách ječmene a ve sladině byl sledován obsah β -glukanů. Současně byl sledován potenciál gushingu ječmene a sladu a obsah prekurzorů dimethylsulfidu ve sladu. Aktivita 1,3- β -glukanasy ve sladu je především výsledkem procesu klíčení a nelze ji tudíž považovat za důsledek napadení patogeny. Obsah β -glukanů ve sladině není pravděpodobně znakem, který je zásadním způsobem ovlivněn kontaminací obilky. Naproti tomu úroveň gushingu ve sladu a obsah PDMS ve sladu jsou výrazně spjaté se znaky spojenými s kontaminací obilky vláknitými mikromycetami.

Benešová, K. – Psota, V. – Mikulíková, R. – Běláková, S. – Svoboda, Z.: Pathogenic metabolites in barley caryopses and their effect on quality of malting barley and malt. Kvasny Prum. 57, 2011, No. 7–8, p. 215–218.

In 2008–2010 69 samples of hulled and hullless barley varieties and lines and malt made from them were analyzed. Activity of enzymes involved in the plant defense response to the pathogenic attack – chitinase and 1,3- β -glucanase was monitored. In addition, galactomanan polysaccharide present in the cell walls of filamentous micromycetes was studied using the agglutination EPS test. β -glucan content was studied in non-malted barley caryopses and in wort. Simultaneously, gushing potential of barley and malt and content of dimethyl sulfide precursors in malt were studied. 1,3- β -glucanase activity in malt is mostly a result of the germination process and therefore it is not a result of a pathogenic assault. Most likely, contamination of caryopsis does not principally affect β -glucan content. On the contrary, level of gushing and PDMS content in malt are markedly associated with the contamination of caryopses with filamentous micromycetes.

Benešová, K. – Psota, V. – Mikulíková, R. – Běláková, S. – Svoboda, Z.: Pathogene Metabolite in der Gerstengrasfrucht und ihren Einfluß auf die Qualität der Braugerste und des Malzes. Kvasny Prum. 57, 2011, Nr. 7–8, S. 215–218.

In den Jahren 2008–2010 wurden 69 Muster spelzige und spelzenlosen Gerstensorten und -Linien und aus diesen Gersten hergestelltes Malz analysiert. Es wurde verfolgt die Aktivität der Enzyme, die an der Abwehrreaktion der Pflanze gegen die Pathogenangriff Chitinase und 1,3- β -Glukanase teilnehmen. Durch den Agglutinationstest wurde weiterhin die Anwesenheit des Polysaccharids Galaktomanan, der ein Teil der Zellwände von faserigen Micromyzeten ist, verfolgt. In den ungemalzten Gerstengrasfrüchten und in der Würze wurde ein Gehalt an β -Glukan getestet. Gleichzeitig wurde das Gushingspotential der Gerste, des Malzes und Gehalt an Dimethylsulfid Precursoren im Malz verfolgt. Die Aktivität der 1,3- β -Glukanase im Malz ist vor allem ein Resultat des Keimungsprozesses und deswegen als eine Folge der Pathogenattacke kann nicht betrachtet werden. Der Gehalt an β -Glukan in der Süßwürze stellt wahrscheinlich keinen Parameter, der durch die Kontamination der Grasfrucht grundsätzlich beeinflusst werden kann. Spiegel an Gushing im Malz und der Gehalt an PDMS im Malz sind wesentlich mit den Parametern, die mit der Grasfruchtkontamination durch faserigen Mikromyzeten wesentlich verbunden sind.

Klíčová slova: obilka, patogen, stresové proteiny, gushing, PDMS

Keywords: caryopsis, pathogen, stress proteins, gushing, PDMS

1 ÚVOD

Ječmen, podobně jako jiné rostliny, se často musí vyrovnávat s velmi nepříznivými podmínkami okolního prostředí. Stav, ve kterém se rostlina nachází pod vlivem nepříznivého působení, označujeme jako *stres*, nepříznivé faktory potom jako *stresové faktory* neboli *stresory*. Oproti živočichům je stres u rostlin komplikovanější tím, že před působením stresorů nemají možnost přímého úniku. Kromě abiotických stresorů, jako jsou například silné záření, změny teploty, poměru minerálů v půdě či nedostatek nebo přebytek vláhy, působí na rostlinu biotické stresory, například nebezpečné chemické látky nebo napadení fytopatogeny. Rostlinám chybí adaptivní imunitní systém pro ochranu proti patogenům. Vyvinuly se u nich jiné ochranné mechanismy a schopnost regenerace. Rezistence rostliny spočívá ve vytvoření podmínek, za kterých patogen není schopný na rostlině růst nebo se množit a rozšiřovat [1]. Po napadení fytopatogenem vykazují rostliny mnohostrannou obrannou odpověď. Podnětem ke spuštění obranných reakcí obvykle bývá specifický metabolit (*elicitor*) uvolňovaný při počáteční interakci buňky s patogenem a identifikovaný vhodným receptorem hostitelské rostliny. Jako elicitory mohou sloužit jednak některé metabolity vylučované patogeny (exogenní elicitory, např. některé polysacharidy, specifické enzymy a peptidy), ale i sloučeniny, které se uvolňují z narušovaných buněčných stěn obou organismů (endogenní elicitory). K těm patří např. oligomery chitinu, oligoglukany a glykoproteiny uvolňované hydrolyzou buněčné stěny patogenních hub, či oligogalakturonany uvolňované z buněčné stěny napadené buňky [2]. Vlastní obranné reakce zahrnují jednak tvorbu specifických

1 INTRODUCTION

Barley, similarly as other plants, often has to cope with very unfavorable conditions of the environment. State of plant into which the plant gets due to this unfavorable effect is denoted as *stress*, unfavorable factors as *stress factors* or *stressors*. Compared to animals, stress in plants is more complicated as plants have no possibility of direct escape from the action of stressors. Besides abiotic stressors, such as strong radiation, high temperature, distribution of minerals in soil and lack or excess of humidity, plant is affected by biotic stressors, e.g. dangerous chemical substances or a phytopathogenic assault. Plants do not possess an adaptive immune system for protection against pathogens. They have developed other protective mechanisms and regenerative capacity. Plant resistance is based on creating the conditions under which the pathogen is not able to grow on the plant or reproduce and spread [1]. Many plants exhibit multiple defense reaction to a phytopathogenic assault. Frequently, an impetus for triggering the defense reaction is a specific metabolite (*elicitor*) released at the initial interaction between a cell and a pathogen and identified by a suitable host plant receptor. Elicitors can be some metabolites released by pathogens (exogenous elicitors, such as some polysaccharides, specific enzymes and peptides) and also compounds released from disrupted cellular walls of both the organisms (endogenous elicitors), such as chitin oligomers, oligoglucans and glycoproteins released by pathogenic fungi cell wall hydrolysis or oligogalacturonans released from a cell wall of the attacked cell. [2]. The defense reactions include both creation of specific stress pro-

stresových proteinů a jednak syntézu a hromadění chemicky jednodušších sloučenin s výrazným antibiotickým účinkem. K těmto sekundárním metabolitům s ochrannou funkcí patří nejrůznější flavonoidy, terpenoidy, fenolické látky, fytoalexiny a alkaloidy, které bývají souhrnně označovány jako *fytoncidy* či *inhibitory*. Účinnou reakcí na průnik patogenů do buňky je řízená tvorba ochranných nekrot. Při této tzv. *hypersenzitivní reakci* dochází k náhlému zvýšení koncentrace aktivních forem kyslíku („oxidative burst“) a aktivaci lipáz, i když někdy je provázeno tvorbou některých dalších pro patogen toxických látek (např. polyfenolů). Současně dojde k inhibici antioxidantních enzymů přítomných v buňce. V důsledku pak dochází k rychlé peroxidaci a k rozpadu membránových systémů, a tím i ke smrti buňky. V další fázi dojde k odumření buněk i v blízkém okolí místa infekce. Lokalizovaná nekroza většinou dosti spolehlivě zastaví pronikání a další šíření infekce. Syntéza proteinů indukovaných patogeny (*ang. pathogenesis-related proteins, PRP*) [3] je další obrannou reakcí rostlin. Tyto proteiny deaktivují proteasy, rozkládají buněčné stěny patogenu a jeho proteiny, zasahují reprodukci, deaktivují ribozomy a omezují pronikání patogenu [4]. Některé mají specifické antimikrobiální účinky, například chitinasy a 1,3- β -glukanasy, které hydrolyzují buněčné stěny patogenních hub a produkují elicitory pro další obranné reakce. Přirozeným zdrojem substrátů pro tyto stresové proteiny jsou právě strukturální polysacharidy buněčných stěn hub. Vzniklé fragmenty pak pravděpodobně spouštějí další obranné reakce infikované rostliny [5]. Glukanasy a chitinasy mají synergický účinek. Patogenní mikroorganismy a jejich metabolity negativně ovlivňují nejen kvalitu obilky ječmene, ale i kvalitu sladu a finálního produktu – piva. V naší práci sledujeme vztahy mezi aktivitou enzymů chitinasy a 1,3- β -glukanasy a vybranými technologickými znaky v nesladovaných obilkách ječmene a ve vyrobeném sladu.

2 MATERIÁL A METODY

V letech 2008–2010 byly z pokusných stanovišť Žabčice a Kroměříž odebrány vzorky zrna pluchatých i bezpluchých odrůd a linií ječmene jarního. Pro meziporovnání byly vybrány vzorky, které byly ve všech třech letech shodné. Šlo o pluchaté sladovnické odrůdy Bojos,

teins and synthesis and accumulation of chemically simpler compounds with pronounced antibiotic effects. These *secondary metabolites with defensive function* are various flavonoids, terpenoids, phenolic substances, phytoalexins and alkaloids, summarily denoted as *phytoncides or inhibitors*. A controlled formation of protective necroses is an effective reaction to penetration of pathogens into a cell. During this so-called *hypersensitive reaction* concentration of active oxygen forms („oxidative burst“) is suddenly increased and lipase activated, although sometimes it can be accompanied with production of some other and for the pathogen toxic substances (for example polyphenols). At the same time antioxidant enzymes present in a cell are inhibited. This results in rapid peroxidation and breakdown of the membrane systems and thus cell death. In the next phase, cells in the immediate vicinity of the infection die. Localized necrosis quite reliably stops penetration and further spread of the infection.

Another plant reaction during pathogenesis is a production of new proteins denoted as PR- proteins (*pathogenesis-related proteins, PRP*) [3]. These proteins deactivate protease, degrade cell walls of the pathogen and its proteins, affect reproduction, deactivate ribosomes and impede penetration of the pathogen [4]. Some of these proteins have specific antimicrobial effects, e.g. chitinase and 1,3- β -glucanase which hydrolyze cell walls of pathogenic fungi and produce elicitors for other defense reactions. Structural polysaccharides of cell walls of fungi are a natural source of substrates for these stress proteins. The fragments formed probably trigger the defense reactions of the infected plant. [5]. Glucanase and chitinase have synergic effect. Pathogenic microorganisms and their metabolites affect negatively not only barley caryopsis quality but also quality of malt and final product – beer. The aim of this paper was to study the relationships between activity of enzymes chitinase and 1,3- β -glucanase and selected technological parameters in non-malted barley caryopses and produced malt.

2 MATERIAL AND METHODS

In 2008–2010 samples of hulled and hulless spring barley varieties and lines were collected from the testing localities Žabčice and Kroměříž. In all three years the same samples were selected for the

Tab. 1 Základní číselné charakteristiky / Basic numeric characteristics – Žabčice

Sklizeň / Harvest	Ošetření / Treatment		Gushing		β -glukany / β -glucans		Chitinasa / chitinase		β -glukanasa / β -glucanase		PDMS
			Ječmen/Barley	Slad/Malt	Ječmen/Barley	Sladina/Wort	Ječmen/Barley	Slad/Malt	Ječmen/Barley	Slad/Malt	Slad/Malt
			ml	ml	%	mg.l ⁻¹	U.kg ⁻¹	U.kg ⁻¹	U.kg ⁻¹	U.kg ⁻¹	mg.kg ⁻¹
2008	Neošetřeno/ Non-treated	Počet vzorků/ Sample size	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		Minimum	0	0	2.91	44	51	62	202	277	5.1
		Maximum	17	10	6.7	1018	63	75	285	352	14.9
		Průměr / Average	5	1	4.79	380	56	67	245	326	11.2
	Ošetřeno/ Treated	Počet vzorků/ Sample size	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		Minimum	0	0	2.91	44	51	62	202	277	5.2
		Maximum	17	10	6.7	1018	63	75	285	352	13.4
		Průměr/Average	5	1	4.79	380	56	67	245	326	8.1
	Neošetřeno/ Non-treated	Počet vzorků/ Sample size	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		Minimum	0	0	4.12	71	46	43	313	277	6.2
		Maximum	6	86	7.09	1393	61	60	365	352	11.1
		Průměr/Average	1	37	5.28	474	49	49	239	334	8.2
2009	Ošetřeno/ Treated	Počet vzorků/ Sample size	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		Minimum	0	0	3.94	95	31	47	174	287	5.9
		Maximum	3	14	5.91	901	59	65	235	376	12.2
		Průměr/Average	0	3	5.08	377	49	52	213	337	8.2
	Ošetřeno/ Treated	Počet vzorků/ Sample size	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		Minimum	0	0	3.11	93	91	99	133	230	NQ
		Maximum	0	0	5.93	1064	107	117	187	339	NQ
		Průměr/Average	0	0	4.36	414	98	108	167	290	NQ
	Ošetřeno/ Treated	Počet vzorků/ Sample size	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		Minimum	0	0	3.11	93	91	99	133	230	NQ
		Maximum	0	0	5.93	1064	107	117	187	339	NQ
		Průměr/Average	0	0	4.36	414	98	108	167	290	NQ

Jersey, Sebastian a Prestige a bezpluché linie KM 1057, KM 2084, KM 2283 a KM 1910 (v letech 2009 a 2010 odrůda AF Lucius). Linie KM 1057 byla v lokalitě Kroměříž odebrána až v roce 2010. Byly použity dvě varianty pěstební technologie, kdy ošetřená varianta zahrnovala pěstební technologii s použitím minerálního hnojení, herbicidů a fungicidů. Vzorky ječmene byly sladovány tradičním postupem v mikrosladovně Sladařského ústavu v Brně [6]. V nesladovaných obilkách [7] a ve vyrobeném sladu byla stanovena úroveň gushingu patentovanou metodou vyvinutou na VÚPS [8], aktivita stresových enzymů chitinázy [9] a 1,3- β -glukanasy [10] metodami na principu chromogenních substrátů a byl proveden aglutinační test EPS (*Encapsulated Polysaccharide*) na přítomnost galaktomananu, extracelulárního polysacharidu produkovaného vláknitými mikromycetami [11]. Dále byl stanoven obsah neškrobových polysacharidů β -glukanů v obilkách ječmene i ve sladině metodou Flow-injection analysis (FIA) [12] a obsah prekurzorů dimethylsulfidu (PDMS) ve sladu metodou plynové chromatografie s plamenofotometrickou detekcí [13].

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Obsah β -glukanů v ječmeni a ve sladině se pohyboval v širokém rozpětí. Toto bylo ovlivněno především výběrem pěstovaných odrůd a linií. Bezpluché linie KM 1910 (později odrůda AF Lucius), KM 2283 a KM 2084 měly výrazně vyšší obsah β -glukanů v ječmeni (4,22–7,09 %) než pluchaté sladovnické odrůdy (3,8–5,05 %). Rovněž obsah β -glukanů ve sladině je výrazně (8–10x) vyšší u bezpluchých odrůd a linií. Výjimkou byla linie KM 1057, měla naopak nejnižší obsah β -glukanů v ječmeni (2,28–4,12 %) i ve sladině (71–146 mg/l). Se znaky spojenými s kontaminací vláknitými mikromycetami má obsah β -glukanů ve sladině jen slabý nebo nevýznamný vztah. Obsah β -glukanů ve sladině není pravděpodobně znakem, který je zásadním způsobem ovlivněn kontaminací obilky [14,15]. V průběhu sladování se zvýšila aktivita 1,3- β -glukanasy. Byla přibližně o třetinu vyšší ve sladu než v obilkách (tab. 1 a 2). Je však obtížné oddělit aktivitu 1,3- β -glukanasy způsobenou obrannou reakcí živých buněk obilky při klíčení od aktivity 1,3- β -glukanasy potřebné k modifikaci stěn buněk škrobového endospermu. Aktivita chitinázy v nesladovaných obilkách i ve sladu byla v podstatě na stejné úrovni, ale její hodnoty byly výrazně ovlivněny ročníkem – ve sklizni 2010 byly hodnoty aktivity chitinázy přibližně dvakrát vyšší, než v předchozích dvou letech. Můžeme říci, že v roce 2010 vykazovaly obilky ječmene a sladu silnější odezvu na napadení plísněmi, než v předchozích dvou letech. Aglu-

inter-year comparison, i.e. hulled malting varieties Bojos, Jersey, Sebastian, and Prestige, and hullless line KM 1057, KM 2084, KM 2283, and KM 1910 (the variety AF Lucius in 2009 and 2010). The line KM 1057 was taken in the locality Kroměříž only in 2010. Two variants of growing technology were used; the treated variant included growing technology using mineral fertilizing, herbicides and fungicide. Barley samples were malted using a traditional method in the micromalting plant of the Malting Institute in Brno [6]. In non-malted caryopses [7] and produced malt [8] the level of gushing, [9], activity of stress enzymes were chitinase [10] and 1,3- β -glucanase [9] was determined using the methods employing chromogenic substrates and the EPS (*Encapsulated Polysaccharide*) agglutination test was carried for the presence of galactomannan, extracellular polysaccharide produced by filamentous micromycetes [11]. Further, content of non-starch polysaccharides, β -glucans, in barley caryopses and wort was determined employing the flow-injection analysis (FIA) [12] and precursors of dimethyl sulphide (PDMS) in malt by the method of gas chromatography with flame photometric detection [13].

3 RESULTS AND DISCUSSION

Content of β -glucans in barley and wort varied within a wide range depending on the selection of the grown varieties and lines. The hullless lines KM 1910 (later the variety AF Lucius), KM 2283 and KM 2084 had significantly higher content of β -glucans in barley (4.22–7.09 %) than the hulled malting varieties (3.8–5.05 %). β -glucan content in wort was also significantly (8–10x) higher than in the hullless varieties and lines, with the exception of the line KM 1057 which had the lowest β -glucan content in barley (2.28–4.12 %) as well as in wort (71–146 mg/l). Relationship between β -glucan content in wort and parameters associated with contamination with filamentous micromycetes is only weak or non-significant. Presumably, β -glucan content in wort is not a parameter affected significantly by a caryopsis contamination [14,15]. 1,3- β -glucanase activity increased during malting. It was by a third higher in malt than in caryopses (Tab. 1 and 2). However, it is difficult to differentiate between the activity of 1,3- β -glucanase due to the defense response of live cells of a caryopsis during germination and the activity of 1,3- β -glucanase needed for the modification of cell walls of starch endosperm. Chitinase activity in non-malted caryopses and malt was generally at the same level but its values were markedly affected by year – in harvest year 2010 the values of chitinase activity were approximately twice as high as in preceding two years. We can

Tab. 2 Základní číselné charakteristiky / Basic numeric characteristics – Kroměříž

Sklizeň / Harvest	Ošetření / Treatment		Gushing		β -glukany / β -glucans		Chitináza / chitinase		β -glukanasa / β -glucanase		PDMS
			Ječmen/Barley	Slad/Malt	Ječmen/Barley	Sladina/Wort	Ječmen/Barley	Slad/Malt	Ječmen/Barley	Slad/Malt	
			ml	ml	%	mg.l ⁻¹	U.kg ⁻¹	U.kg ⁻¹	U.kg ⁻¹	U.kg ⁻¹	
2008	Neošetřeno/ Non-treataed	Počet vzorků/ Sample size	7	7	7	7	7	7	7	7	7
		Minimum	0	0	3.97	151	47	91	187	282	6.1
		Maximum	17	0	6.21	1036	53	70	277	375	11.5
		Průměr / Average	2	0	4.95	429	50	65	237	324	8.5
2009	Neošetřeno/ Non-treataed	Počet vzorků/ Sample size	7	7	7	7	7	7	7	7	7
		Minimum	0	6	3.41	99	45	43	204	259	4.4
		Maximum	0	60	6.18	1109	54	49	288	434	11.7
		Průměr/Average	0	28	4.27	422	49	46	246	345	8.6
	Ošetřeno/ Treated	Počet vzorků/ Sample size	7	7	7	7	7	7	7	7	7
		Minimum	0	7	3.09	178	38	40	210	308	4.8
		Maximum	0	63	6.14	1540	51	49	290	370	16.8
		Průměr/Average	0	31	4.12	602	45	43	248	339	7.9
2010	Ošetřeno/ Treated	Počet vzorků/ Sample size	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		Minimum	0	0	3.11	93	91	99	133	230	NQ
		Maximum	0	0	5.93	1064	107	117	222	339	NQ
		Průměr/Average	0	0	4.36	414	98	108	167	290	NQ

tinační EPS test pro stanovení napadení obilek některými skupinami mikromycet ukázal ve sledovaných letech střední až vysokou kontaminaci. Přítomnost polysacharidu galaktomananu, zjišťovaná EPS testem, byla většinou vyšší u nesladovaných obilek než u sladu. To by znamenalo, že část houbových vláken je z povrchu obilky v průběhu sladování odstraněna. Gushing, který je významným kvalitativním nedostatkem finálního produktu, piva, a jeho výskyt je spojován s kontaminací obilek vláknitými mikromycetami, je možno do jisté míry predikovat již v ječmeni a ve sladu [16]. Hodnoty gushingu ve sladu byly silně ovlivněny ročníkem. Zatímco predikce gushingu v ječmeni byla většinou negativní a pouze ojediněle se vyskytly v ječmeni nízké hodnoty, ve sladu z roku 2009 z obou sledovaných lokalit byly naměřeny relativně vysoké hodnoty gushingu. Těkavé sírné látky mohou nepříznivě ovlivnit chuť piva i ve velmi nízkých koncentracích. Jejich prekurzory jsou sírné aminokyseliny, které jsou přirozenou součástí ječmene, sladu i piva. V současné době je nejsledovanější sírnou sloučeninou dimethylsulfid. Dimethylsulfid v pivu pochází převážně ze sladu. Hlavními prekurzory dimethylsulfidu (PDMS) jsou S-methylmethionin a dimethylsulfoxid (DMSO), které se vyskytují ve sladu během sladování ve vysokých koncentracích. Úroveň gushingu ve sladu a obsah PDMS ve sladu jsou výrazně spjaté se znaky spojenými s kontaminací obilky vláknitými mikromycetami [14, 15].

4 ZÁVĚR

V průběhu tří let byly sledovány vztahy mezi aktivitou stresových proteinů chitinasy a 1,3- β -glukanasy a napadením houbami rodu *Fusarium* (EPS) v nesladované obilce i ve sladu s vybranými technologickými znaky – predikce gushingu v ječmeni a gushing ve sladu, obsah β -glukanů v ječmeni a ve sladině a obsah prekurzorů dimethylsulfidu ve sladu. Interakce patogenu s obilkou ječmene je provázána celou řadou procesů, jejichž cílem je omezit nebo eliminovat jeho působení. V rámci tohoto procesu produkují buňky obilky a patogenu specifické metabolity, které mohou nepříznivě ovlivnit průběh zpracování zrna a kvalitu a zdravotní nezávadnost finálních výrobků. Stanovením aktivit stresových enzymů chitinasy a 1,3- β -glukanasy, kterými se snaží napadená obilka bránit, lze sledovat úroveň reakce obilky na napadení mikromycetami. Přítomnost některých skupin mikromycet je možno sledovat pomocí přítomnosti polysacharidu galaktomananu. Získané výsledky jsou však ovlivněny komplexním charakterem kvalitativních znaků a vztahy mezi nimi.

PODĚKOVÁNÍ

Práce publikovaná v tomto článku byla finančně podporována z grantu 1M0570 – Výzkumné centrum pro studium obsahových látek ječmene a chmele.

Recenzovaný článek / Reviewed paper

Do redakce došlo / Manuscript received: 16. 5. 2011

Přijato k publikování / Accepted for publication: 8. 6. 2011

LITERATURA / REFERENCES

1. Mauch, F., Mauch-Mani, B., Boller, T.: Antifungal Hydrolases in Pea Tissue II, Inhibition of Fungal Growth by Combination of Chitinase and β -(1 \rightarrow 3)-glucanase. *Plant Physiol.* **88**, 1998, 936–942.
2. Procházková, S., Macháčková, I., Krekule, J., Šebánek, J. a kol.: Fyziologie rostlin. Kap. Fyziologie stresu. Academia Praha, 1998.
3. Heřmanová, V., Bárta, J., Čurn, J.: Antifungální proteiny rostlin – klasifikace, charakteristika, možnosti využití. *Chem. Listy* **100**, 2006, 495–500.
4. Zareie, R., Melanson, D. L., Murphy, P. J.: Isolation of Fungal Cell Wall Degrading Proteins from Barley (*Hordeum Vulgare* L.) Leaves Infected with *Rhynchosporium secalis*. *Molecular-Plant Microbe Interactions* **15**, 2002 (10), 1031–1039.
5. Rothe, G. M., Welschbillig, N., Reiss, E.: Molecular size and net charge of pathogenesis-related proteins from barley (*Hordeum vulgare* L., v. Karat) infected with *Drechslera teres* f. *teres* (sacch.). *Shoem. Electrophoresis* **19**, 1998, 745–751.
6. Psota, V., Horáková, V.: Barley varieties registered in Czech Republic in 2007. *Kvasný Prum.* **53**, 2007, 168–173.
7. Vaag, P., Riis, P., Knudsen, A. D., Pedersen, S. and Meiling, E.: A simple and rapid test for gushing tendency in brewing materials. *Proceedings of the European Brewery Convention Congress*, Oslo, IRL Press, Oxford, 1993, 155–162.
8. Způsob stanovení konečného přepěňování baleného piva vlivem ječmene. Patentový spis č. 302041, 2010.
9. Wirth, S. J., Wolf, G. A.: Microplate, colourimetric assay for endo-

acting cellulase, xylanase, chitinase, 1,3- β -glucanase and amylase extracted from forest soil horizons. *Soil Biology and Biochemistry* **24**, 1992, 511–519.- 10. McCleary, B. V., Shamer, I.: Assay of malt β -glucanase using Azo Barley Glucan: an improved precipitant. *J. Inst. Brew.* **93**, 1987, 87–90.
- 11. Schwabe, M., Kamphuis, H., Trumner, U., Offenbacher, G., Kramer, J.: Comparison of the latex agglutination test and the ergosterol assay for the detection of moulds in foods and feedstuffs. *Food and Agricultural Immunology* **4** (1) 1992, 19–25.
- 12. Munck, L., Jorgensen, K. G., Ruud-Hansen, J., Hansen, K. T.: The EBC methods for determination of high molecular weight β -glucan in barley, malt, wort and beer. *J. Inst. Brew.* **95**, 1989, 79–82.
- 13. Mikulíková, R.: Studium vybraných typů sírných látek v pivu a pivovarských surovinách. Ph. D. Thesis. VUT Brno, 2010.
- 14. Psota, V., Benešová, K., Sachambula, L., Havlová, P.: Vztah aktivity glukanasy, chitinasy a výskytu galaktomananu k úrovni gushingu, PDMS a obsahu β -glukanů ve sladu a obilkách ječmene (*Hordeum vulgare* L.). *Kvasný Prum.* **56**, 2010, 74–78.
- 15. Psota, V., Benešová, K., Sachambula, L., Havlová, P.: Vztah aktivity chitinasy, β -glukanasy a extracelulárních polysacharidů ke kvalitě sladu. *Úroda* **58**, 2010, 103–109.
- 16. Schwarz, B. P., Beattie, S., Casper, H. H.: Relationship between *Fusarium* infestation of barley and the gushing potential of malt. *J. Inst. Brew.* **102**, 1996, 93–96.

4 CONCLUSION

Over the three year period relationships between the activity of stress proteins, chitinase and 1,3- β -glucanase, and contamination with fungi of *Fusarium* sp. (EPS) in a non-malted caryopsis and malt and the selected technological parameters – prediction of gushing in barley and gushing in malt, β -glucan content in barley and wort and content of dimethyl sulphide precursor in malt were studied. Interaction of pathogen with barley caryopsis is accompanied with a number of processes with the aim to restrict or eliminate its operation. Within this process cells of caryopses and pathogen produce specific metabolites, which can unfavorably affect process of grain processing and quality and health suitability of final products. Determination of activities of stress enzymes, chitinase and 1,3- β -glucanase, by which the attacked cell tries to defend, can be used for studying the caryopsis response to micromycete assault. The presence of some groups of micromycetes can be studied based on the presence of the polysaccharide galactomannan. However, the obtained results are affected by a complex character of quality parameters and relationships between them.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was funded by the grant 1M0570 – 70 (Research Centre for Study of Extract Compounds of Barley and Hop)

Translated by Mgr. Vladimíra Nováková