

SLOŽENÍ GLUKOSINOLÁTŮ V BIOMASE BRUKVOVITÝCH PLODIN A JEJICH ÚLOHA V PĚSTEBNÍM SYSTÉMU

Composition of Glucosinolates in Biomass of Brassica Genus and their Role in Crop System

HELENA ZUKALOVÁ, JAN VAŠÁK, PETR KROUTIL, PŘEMYSL ŠTRANC
Česká zemědělská univerzita v Praze

Souhrn, klíčová slova

Glukosinoláty jsou diskutovány vedle antinutričních vlastností, také jako složky tvořící přirozenou obranu rostliny a jako přirozené biofumiganty. Principem těchto účinků je pasivní obrana tvořená dvousložkovým systémem, glukosinoláty – myrosináza, který je spuštěn při napadení chorobou, hmyzem a v případě biofumigačních účinků, pak rozkladem posklizňových zbytků ve vodném prostředí. Vzhledem k tomu byl sledován obsah a složení glukosinolátů v průběhu růstu. Nejvýznamnější rezistence proti chorobám a škůdcům má hořčice bílá a řeďka olejná, které se výrazně svým složením a obsahem liší od řepky, řepice a hořčice sareptské u kterých převládají alifatické rozkladné produkty. Hořčice bílá pak obsahuje aromatický sinalbin a řeďka sulfinitový glukorafanin. Biosyntéza glukosinolátů, kdy jejich transport z šešulí do semen, ukazuje, že celý biofumigační efekt leží na obsahu a složení glukosinolátů kořenů brukvovitých.

Klíčová slova: glukosinoláty; biosynthesa; biocidy; biofumiganty; řepka; hořčice bílá; řeďka; *Brassica juncea*.

Summary, Keywords

Glucosinolates are discussed besides their anti – nutrition effect, also as compounds which create natural defend and with its chemical composition they are ranked among natural pesticides and natural biofumigators. The principle of these effects is passive protection created by the two – component system, glucosinolates – myrosinase. The two – component system of glucosinolate – myrosinase is activated only due to an attack diseases, insects and in the case biofumigators is soil after ploughing in their biomass as green fertilizing or after ploughing in after harvest the left overs of rape. In accordance was observed content and composition of glucosinolates during growth. The most resistance against diseases and insects has white mustard (*Sinapis alba*) and radish (*Raphanus sativus*), which differ from Rape, Turnip rape and *Brassica juncea*, where prevail aliphatic decomposition products. White mustard contains aromatic sinalbin and radish has 4 - ethylsulfinylbutyl glucosinolat – glucoraphanin. Biosynthesis of glucosinolates when go over from pods into seeds, shows, that biofumigative effect lies on the content and composition of *Brassica* roots glucosinolates.

Key word: glucosinolates; biosynthesis; biocides; biofumigants; white mustard; radish; *Brassica juncea*

Úvod

Řepka patří mezi konkurenceschopné komodity českého zemědělství. Její zastoupení na osevní ploše a rozšíření bezorebných způsobů zpracování půd, ale překračují únosnou hranici. To vede k vysokému tlaku chorob a škůdců. S tím souvisí rozsáhlé používání insekticidů, které má negativní vliv na rovnováhu agroekosystému. Vzhledem k tomuto je

sekticidů, které má negativní vliv na rovnováhu agroekosystému. Vzhledem k tomuto je nutné využít všechny prostředky k omezení těchto negativních dopadů. Jedním z nich je využití přirozeného obranného mechanismu a biofumigačních účinků, které jsou vlastní brukvovitým plodinám.

Materiál a metody

Pokus byl realizován na pozemku Výzkumné stanice agronomické fakulty ČZU v Červeném Újezdě, okres Praha - západ. Půda - hluboká hnědozem, zásoba P, K, Mg dobrá, koloidní komplex plně nasycen, nadmořská výška 405m, průměrná roční teplota 7,7°C a průměrné roční srážky 493mm.

Složení glukosinolátů v biomase, jejich obranný mechanismus a biofumigační účinky byly sledovány u předplodin:

1. liniové ozimé řepky Navajo
2. hořčice bílé Veronika
3. ředkve olejné
4. ozimé hořčice sareptské a u následné plodiny ozimé pšenice EBI

Každá předplodina byla vyseta v bloku po 12 parcelách a pěstována ve dvou variantách hnojení sírou (0 a 80 kg S/ha).

Stanovení jednotlivých glukosinolátů bylo provedeno metodou plynové chromatografie po konverzi na desulfoglukosinoláty a následnou silylací na silylderiváty glukosinolátů dle vlastní úpravy metody HEANEY (1986).

Výsledky a diskuse

Přirozená ochrana vlastní rostliny

Glukosinoláty jsou řazeny mezi přirozené biocidy, které vyšší rostliny produkují za účelem zvýšení odolnosti vůči nepříznivým vlivům predátorů, konkurentů a parazitů, neboť vykazují toxické či odpudivé účinky, a tudíž mají důležité postavení v obranném mechanismu řepky proti škůdcům a chorobám (MITHEN, 1992; WALLSGROVE at al., 1999). Dvě významné třídy přirozených biocidů (pesticidů) mezi které je možno zařadit i glukosinoláty, tvoří fytoalexiny a fytoanticipiny.

Fytoalexiny vznikají v důsledku vnějším podnětem vyvolané pozměněné metabolické aktivity rostliny *de novo* (představují aktivní obranný mechanismus). Fytoanticipiny vznikají z již vytvořených prekurzorů, které zdravá rostlina produkuje od počátku svého růstu a které tedy slouží pouze jako pasivní obrana proti případným škůdcům. Typickým příkladem fytoanticipinů jsou glukosinoláty. Dvousložkový systém glukosinoláty - myrosinasa představuje předem připravený pasivní obranný systém, který je spuštěn až v důsledku napadení a následného poškození rostlinného pletiva, po kterém okamžitě dochází k enzymové hydrolyze glukosinolátů za vzniku bioaktivních isothiokyanátů.

Vzhledem k hodnocení přirozené ochrany brukvovitých i jejich biofumigačních efektů pro následné plodiny jsme studovali obsah a složení glukosinolátů a jejich rozkladních produktů v průběhu růstu.

Významné rozdíly u zkoušených předplodin jsou především v odlišném chemickém složení a obsahu glukosinolátů, (obr. 1 a tab. 1) aby bylo možno snáze vysledovat jejich biocidní a biofumigační účinky. U řepky Navajo ve vegetativních orgánech převládá glu-cobrassicin, který v průběhu růstu klesá a v dalším vývoji především glukonapin a progo-trin přechází do generativních orgánů – šešulí z kterých se transportují do semen. Trendy ve vývoji glukosinolátů jak ve vegetativních a generativních orgánech řepek liniových i hybridních (Embleme) jsou podobné a plně potvrzují teorii, že stěny šešulí jsou místem odkud jsou glukosinoláty transportovány do semen v takovém složení jaké mají semena. Poměrně vysoké jsou obsahy glukonasturtiinu (fenylethyl glukosinolát) – aromatického glukosinolátu, který by měl mít vyšší biocidní i biofumigační účinky, oproti ostatním dru-hům a typům Brassica. Zcela odlišná je hořčice sareptská, kde převažuje alkenylový glu-kosinolát sinigrin, jehož enzymatickou hydrolyzou vzniká allylisothiokyanát (obr. 1 a tab. 1). Tento majoritní glukosinolát v průběhu růstu ve vegetativních částech rostlin kle-sá, v generativních pak stoupá. Nejvyšší je pak v šešulích, kdy svým vysokým obsahem jednoznačně a modelově prokazuje rovněž, že z šešulí jsou glukosinoláty transportovány do semen. U hořčice bílé je hlavním glukosinolátem aromatický sinalbin – 4- hydroxy-benzylglukosinolát, který v průběhu růstu výrazně stoupá v generativních orgánech. Obsah glukosinolátů u hořčice bílé výrazně oproti řepce reaguje na zvýšené hnojení sírou (obr. 1). Velmi podobně se chová ředkev s tím rozdílem, že jejím hlavním glukosinolátem je glukorafanin 4- methylsulfinylbutylglukosinolát (obr. 1).

Fytofágní hmyz se všeobecně málo liší ve svých požadavcích na potravu a tudíž se zdá, že je schopen přežít na jakékoli zelené rostlině. Není tomu ale tak, vzhledem k tomu, že některý hmyz má odpor k potravě specifických hostitelských rostlin. Specifika hostitelské rostliny jsou charakterizována sekundárními metabolity, která působí jako atraktanty nebo toxiny či repelenty pro škůdce, které ovlivňují příjem potravy a jejich chování. Tyto sekundární metabolity jsou definovány jako nenutriční chemické sloučeni-ny produkované jedním druhem, který ovlivňuje chování, zdraví, růst nebo populační bio-logii jiných druhů. Po řadu let je studováno chování sekundárních metabolitů brukvovi-tých - glukosinolátů (obr. 1 a tab. 1.) a jejich štěpných produktů. Hmyz je lákán především vůní a v případě rodu Brassica zřejmě vůní rozkladních produktů glukosinolátů, které na specializovaný hmyz působí jako atraktanty. na jiný hmyz působí toxicky či repellentně. Vedle chemického složení glukosinolátů a jejich štěpných produktů významná je i jejich koncentrace. Pro kladení vajíček je v některých případech důležité zastoupení jak intakt-ních glukosinolátů, tak jejich rozkladních produktů, které podporují větší aktivitu škůdců vedoucí ke vzrůstajícímu počtu vajíček.

Tab. 1: Složení glukosinolátů (GSL) v brukvovitých olejninách

Druh	Dominantní GSL*	Celk. obsah GSL (mg/100g biomasy)			
		butoni-zace	kořen	zrání	kořen
Ozimá hořice sareptská	SINI, NAPI	33	12	107	9
Ozimá řepka	NAPI, BRNA, PROG, NAPO, GB, NGB, MGB	16 – 45	6 – 14	16 – 21	4 - 11
Ozimá řepice	NAPI, BRNA, PROG,	34	28	13	22
Hořice bílá	SNB	27	37	197	37
Ředkev	RAFA, RAFE	23	33	209	21

* Alifatické -SINI-sinigrin, NAPI glukonapi, BRNA glukobrassicanapin, PROG progoitrin, NAPO glukonapoleiferin, RAFA glukorafanin, RAFE glukorafenin, Aromatické – SNB sinalbin, Indolové -GB glukobrassicin, NGB neoglukobrassicin, MGB 4-hydroxyglukobrassicin

fytoalexiny – aktivní obrana brukvovitých je spouštěna po napadení nebo při stresových situacích (mráz, choroby). V těchto situacích je indolový metabolismus brukvovitých schopen uvolnit auxin a cytokinin. Tento aktivní obranný (specifický pro brukvovité) mechanismus byl studován a sehrává významnou roli při nádorovitosti kořenů (*Plasmodesmophora brassicae* Wor). Studium této aktivní obrany je velmi náročné vzhledem k nestabilitě indolových sloučenin a vyžadují zcela samostatný výzkum.

fytoanticipiny – pasivní obrana brukvovitých, kdy dvousložkový systém glukosinoláty – myrosinasa představuje předem připravený pasivní obranný systém. Ten je spuštěn až v důsledku napadení a následného poškození rostlinného pletiva. Po něm okamžitě dochází k enzymové hydrolýze glukosinolátů za vzniku bioaktivních isothiokyanátů. Tento mechanismus je podstatou:

1. vlastního obranného mechanismu brukvovité plodiny
2. ochranných a signalizačních obsevů
3. biofumigačního působení brukvovitých předplodin na ozimou pšenici.

1. Obranný mechanismus. Pokud se týká nejvýznamnějších chorob brukvovitých tj. *Phoma* a *Verticillium* nejvíce rezistentní byla hořice bílá a ředkev olejná (tab. 2) zatímco řepice byla stoprocentně zasažena. Po ní pak méně *Phomou* byly atakovány ozimá řepka, jarní řepka a hořice sareptská. U *Verticilia* se projevila rezistence u ozimé řepky Navajo. Z těchto výsledků je zřejmé, že aromatické glukosinoláty hořice bílé a sulfinylové u ředkve, plní plně úlohu obranného mechanismu na rozdíl od alifatických glukosinolátů ozimé řepky, řepice a hořice sareptské. Vedle tohoto mechanismu, svou roli sehrává i geneticky zakódovaná rezistence jako je tomu v případě *Verticilia*, kdy ozimá řepka Navajo nebyla napadena, zatímco řepice a hořice sareptská v poměrně velkém rozsahu (tab. 1) i když obsah a složení glukosinolátů je velmi podobné.

Tab. 2.: Výskyt chorob brukvovitých předplodin

Varianta	Sclerotinia (%)	Phoma (%)	Verticillium (%)	Čerň (stupnice) ²⁾
Řepka ozimá Navajo	1	85 (19) ¹⁾	0	7
Hořčice bílá	0	0	0	9
Řepice ozimá	18	100 (100) ¹⁾	79	7
Ředkve olejná	0	4	0	6
Hořčice sareptská ozimá	11	60 (13) ¹⁾	83	5
Řepka jarní	0	75	0	6

Pozn. :)¹⁾ zcela napadené – primární napadení; zbytek je napadení hlavně následkem žíru

²⁾ čerň - stupnice napadení listové plochy (9 = nenapadeno, 1 = zcela napadeno)

Pokud se týká škůdců, uvolněné štěpné produkty glukosinolátů – alifatické izothiocyanáty působí jako atraktanty pro blýskáčka řepkového a krytonosce šešulového. Stejně jako u chorob obsahy a složení glukosinolátů a jejich štěpných produktů u hořčice bílé a ředkve působí spíše repellentním účinkem (tab. 3).

Tab.3: Celkový počet škůdců a parazitoidů - sklepy

Plodina	Blyskáček řepkový	Psyll	Phyll	Krytonosec řepkový	Krytonosec čtyřzubý	Krytonosec šešulový	Bejلومorka kapustová	Parazito-id
Řepka ozimá	540	0	0	0	2	1688	21	69
Hořčice bílá	36	0	151	0	0	14	0	0
Řepice ozimá	272	0	0	0	0	2214	5	22
Ředkve olejná	91	0	59	0	0	15	0	5
Hořčice sareptská ozimá	755	0	21	8	6	654	26	35
Řepka jarní	442	0	0	0	0	1934	12	32

Pozn.: Psyll = dřepčík olejkový; Phyll = dřepčíci rodu *Phyllotreta*; Sklepy byly prováděny od 2.5.02 do 20.5.02 (1. časový interval), u hořčice bílé a ředkve 30.5.02 (2. časový interval)

2. Ochranné obsevy jsou založeny na stejném principu, jako obrana vlastní rostliny s tím, že glukosinoláty, jako atraktanty především z jarní řepky vyseté na podzim, řepice ozimé, jsou vzhledem k velkému ataku škůdců schopny zachytit hlavní jejich tlak a tak omezit tři celoplošné aplikace na jednu a dvakrát provést ošetření pouze obsevů. Ekonomika takto připravených porostů bude stále pozitivní i když obsevová plodina bude mít nižší výnos, ale musí mít zachovánu „00“ kvalitu (NERAD, 2000)

3. Biofumigační působení brukvovitých předplodin. Brukvovité předplodiny mají významné ozdravující půdní účinky. Vedle obrovského množství biomasy kořenů a posklizňových zbytků brukvovitých přinášejí i biocidní účinky glukosinolátů a jejich ště-

ných produktků. Biosynteza glukosinolátů (obr. 1) jasně ukazuje na transport glukosinolátů z šešulí do semen a proto po sklizni, celý biofumigační efekt leží na obsahu a složení glukosinolátů kořenů brukvovitých (BIALY et al., 1990). Vzhledem k těmto skutečnostem se projevil výrazně menší počet napadených listů hlavního stébla ozimé pšenice listovými skvrnitostmi navíc s menší intenzitou. Výrazně menší byl výskyt braničnatky plevové na praporcovém listu ve srovnání s předplodinou, kterou byla pšenice (tab. 4). Jednotlivé brukvovité předplodiny se chovají k výskytu chorob specificky (tab. 4). Obecně lze konstatovat výrazné zlepšení u listové skvrnitosti a braničnatky plevové na praporcovém listu ozimé pšenice po brukvovitých předplodinách ve srovnání s předplodinou ozimou pšenicí.

Použitá literatura

- BIALY, Z., OLESZEK, W., LEWIS J. and FENWICK, G.R.(1990). Allelopathic potential of glucosinolates (mustard oil glycosides) and their degradation products against wheat. Plant and Soil 129, p.277 –281.
- HEANEY, R.K., SPINKS, E.A., HANLEY, A.B., FENWICH, G.R. (1986): Technical Bulletin: Analysis of glucosinolates in rapeseed. Agricultural and Food Research Council, Food Research Institute, Norwich, Colney Lane, Norwich NR4 7UA, Great Britain.
- MITHEN, R. (1992): Leaf glucosinolate profiles and their relationship to pest and disease resistance in oilseed rape. Euphytica, 63, 71 - 83.
- NERAD, D., (2000): Biologizace ochrany řepky ozimé. Písemná práce ke státní doktorské zkoušce.ČZU, AF – katedra rostlinné výroby. Praha.
- WALLSGROVE, R., BENNETT, R., KIDDLE, G., BARTLET, E., LUDWIG - MUELLER, J. (1999): Glucosinolate biosynthesis and pest disease interactions. Proc. 10th Int.Rapeseed Congr., Canberra, Australia.

Kontaktní adresa

Ing. Helena Zukalová, CSc. KRV AF, Česká zemědělská univerzita v Praze, tel: 224382539,
e-mail: Zukalova@af.czu.cz

Řešeno v rámci grantu NAZV (QE1251) – Využití produkčního potenciálu hybridních a geneticky modifikované řepky ozimé s důrazem na biofumigační účinky glukosinolátů.

Tab. 4: Choroby pšenice ozimé Ebi (9.7.2002)

Varianta (předplodiny)	Choroby (praporcový list, stéblo, klas)							
	listová skvrnitost (% listové plochy)	Stéblo- lam (%)	Septoria nodorum		Rez		Padlí	Fusarium
			prap. list (% list. plochy)	klasy (%)	prap. list (stupnice)	klasy (%)	prap. list (% list. plochy)	klasy (%)
Ozimá řepice Rex	13,2	10	31,3	70	4,8	5	0	13
Ozimá řepka Pronto	9,8	15	31,3	35	5,5	8	0	28
Jarní řepka Star	7,4	13	28,8	40	5	0	0	25
Ozimá řepka Prestol	12,3	0	22,5	63	5,8	0	do 0,25	30
Směs Rex+Star+Prestol	14,4	0	37,5	43	4,8	0	0	28
Ozimá hořčice sareptská	11,0	0	26,3	75	5,3	3	do 0,25	20
Hořčice bílá Veronika	11,4	3	23,8	30	5	3	do 0,25	33
Pšenice ozimá Ebi	17,4	0	92,5	55	6	0	0	23

Pozn.: Hodnotilo se 10 stébel, klasů a praporcových listů z opakování = průměry 4 opakování (40 rostlin).

Stupnice 1 - 9 (9 = zcela bez rzi, 1 = zcela napadeno

