

Acta fytotechnica et zootecnica 3
Nitra, Slovaca Universitas Agriculturae Nitriae, 2010, s. 60–64

ZMENY NESTABILNÝCH POZÍCIÍ GENÓMU GENETICKÝCH ZDROJOV ĽANU SIATEHO V STRESOVÝCH PODMIENKACH

THE CHANGES OF UNSTABLE GENOME POSITIONS IN FLAX GERMLASM UNDER THE STRESS CONDITIONS

Katarína RAŽNÁ, Jana ŽIAROVSKÁ, Milan BEŽO, Slavomíra SENKOVÁ

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

The paper is focused on identification of LIS event (*Linum Insertion Sequence*) of flax. The identification was realized on two levels. On the level of determination of the presence of target insertion sites of LIS and on the level of particular insertion of LIS. Six different genotypes of flax were evaluated in field conditions with and without abiotic stress. Abiotic stress was induced *in vitro* conditions by cultivation medium (Murashige and Skoog, 1962) and UV light exposure. In another treatment it was induced by reduction of nutrition via cultivation medium (with half content of macroelements and without microelements). Analysis of LIS was realized by real-time PCR with designed primers. Sequences of forward primer for proof of insertion of LIS were: TTTATTTGGTTGAGTTTGGGTTTA and sequences of reverse primer were: GATCTCTTGAGTGATGTTTATCT. Based on evaluation of melting temperature of qRT PCR product, the presence of target insertion sites of LIS was confirmed in all plants planted in field and in *in vitro* conditions. By the same method the insertion of LIS has been studied. By UV light exposure and nutrition stress condition, the insertion of LIS was activated in two flax genotypes Rembrandt and Gisa. Insertion of LIS was not observed in other growth conditions. Stress factors like limited nutrition and UV light exposure have influenced LIS activity within sensitive individuals.

Key words: LIS event, flax, qRT PCR

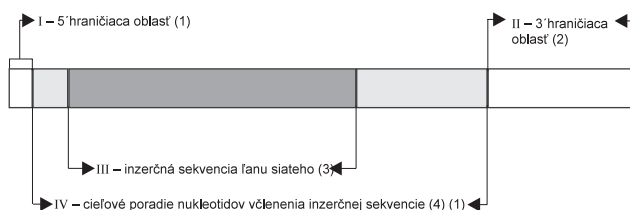
Genóm ľanu vykazuje v porovnaní s inými rastlinami niekoľko odlišností. Sú to, vyššie zastúpenie vysoko-, stredne a málopočetne sa opakujúcich poradí nukleotidov, oveľa nižšia aktivita mobilných prvkov (transpozónov a retrotranspozónov) v genóme ako celku a existencia náhlych zmien genómu v závislosti od podmienok prostredia (Cullis, 1986; Schneeberger a Cullis, 1991; Oh a Cullis, 2003). Línie, v ktorých boli pozorované dedičné genomické zmeny vyvolané faktormi vonkajšieho prostredia sú označované ako genotropy (Durrant, 1962). Prvou, a dodnes intenzívne študovanou odrodou ľanu siateho je Stormont Cirrus, označovaná ako PI – plastická línia, v genóme ktorej bola popísaná a charakterizovaná inzerčná sekvencia ľanu (LIS – *Linum insertion sequence*). LIS (obrázok 1) predstavuje 5,7 kb fragment DNA, ktorého indukcia a následný výskyt v presne definovanom mieste genómu, je dôsledkom špecifickej a komplexnej inzerčnej udalosti, pričom prirodzený potenciál k

environmentálne navodeným zmenám majú viaceré genotypy ľanu (Chen, 2005). Výskyt LIS prvku je špecificky viazaný iba na senzitivne genotypy ľanu siateho schopné pomerne rýchlejšej genomickej reakcie na zmenu životného prostredia začlenením tohto prvku do typického cieľového miesta.

Testovanie hypotézy, podľa ktorej by výskyt LIS prvku mal byť súčasťou modifikácie genómu všetkých odrôd ľanu pri navodení špecifických podmienok a nielen LIS-senzitívnych uskutočnili Chen et al. (2005). Testovali tri línie – Saskia, CI1303 a stabilný genotrof L1. Všetky tri v podmienkach vodného stresu a pri rôznych dávkach živín. Žiaden variant (pri všetkých sledovaných stresových podmienkach), počas pozorovaných štádií, nestabilný prvok genómu nevykazoval. Ak sa však rovnaké podmienky experimentu a termíny odberu vzoriek použili pri odrode Stormont Cirrus, výsledkom bolo, že z 61 prípadov bolo pozorovaných 36 prípadov rastlín potomstva PI línie so zaznamenanou indukciou aktivity LIS. Výskyt LIS bol najvýraznejší vo variante s nedostatočnou výživou. Celkovým vyhodnotením výsledkov Chen et al. (2009) konštatujú úplnú závislosť aktivity začlenenia sa LIS-1 v ľane siatom od výživy ľanu.

Genomická odpoveď, v spojitosti s LIS prvkom, ako dôsledok environmentálnych podmienok, je dokumentovaná aj pri odrodách Hollandia, Rembrandt a Liral Monarch (Cullis, 2005; Chen, 2009).

Práca bola zameraná na identifikáciu prítomnosti cieľového miesta začlenenia LIS prvku vo vybraných genotypoch ľanu siateho a následnom vyhodnotení včlenenia tohto prvku v podmienkach abiotického a v kombinácii abiotického a nutričného stresu technikou real-time PCR. Práve odroda Rembrandt slúžila v práci ako kontrolná odroda navodenia dostatočne účinného abiotického stresu prejavujúceho sa indukciou inzerčnej sekvencie ľanu siateho.



Obrázok 1 Genomické usporiadanie inzerčnej sekvencie v genotrofoch ľanu siateho
Prístupové čísla v NCBI databáze: I – AJ131992, II – AJ131993, III – AJ131994, IV – AJ131991

Figure 1 Genomic alignment of insertion sequence in flax genotrophs
Accession numbers in NCBI database: I – AJ131992, II – AJ131993, III – AJ131994, IV – AJ131991
(1) 5' terminal area, (2) 3' terminal area, (3) insertion sequence, (4) target sequences of lis insertion

Materiál a metódy

Biologický materiál bol získaný z Génovej banky Piešťany a tvorený šiestimi genotypmi ľanu siateho (tabuľka 1) vybranými tak, aby reprezentovali svojim pôvodom rôzne geografické podmienky, hospodárske využitie ako aj typ genetického zdroja.

Odbery vzoriek biologického materiálu prebehli v troch variantoch podmienok rastu. Prvým variantom rastu boli poľné podmienky pestovania ľanu. Označenie PP. Maloparcelový pokus bez opakovania bol realizovaný na pokusnej parcele Katedry genetiky a šľachtenia rastlín v Nitre, v roku 2009. Porast bol založený, vedený a ošetrovaný v súlade so štandardnými agrotechnickými postupmi pre pestovanie ľanu siateho. Rastlinný materiál z tohto variantu bol odobraný v počte 10 náhodne vybraných vrchných listov v období žltej zrelosti. Druhým variantom bolo dopestovanie rastlín v *in vitro* podmienkach na kultivačnom médiu (Murashige and Skoog, 1962). Označené MS I. Počas tridsiatich dní rastu boli rastliny 9-krát (každý tretí deň) ožarované UV svetlom po dobu 20 minút. Materiál na izoláciu DNA bol získaný z listov piatich rastlín po 30 dňoch. Tretím variantom boli rastliny dopestované v *in vitro* podmienkach na upravenom kultivačnom médiu (MS II) s polovičným obsahom makroelementov a nulovým obsahom mikroelementov. Tieto rastliny boli zároveň ožarované UV svetlom. Časový harmonogram ožarovania, ako aj odber materiálu sa zhoduje s druhým variantom.

DNA bola izolovaná súpravou Invisorb® Spin Plant Mini Kit, Invitrek, kvalita a kvantita DNA bola stanovená prístrojom Qubit™ Fluorometer Invitrogen.

Identifikácia cieľového miesta začlenenia LIS prvku bola uskutočnená v qRT PCR reakcii dvojicou prajmerov podľa Chen et al. (2009). Optimalizácia koncentrácie každého z dvojice prajmerov bola uskutočnená pri 30 ng obsahu DNA genotypu Albidum. Efektivita reakcie bol vyhodnotená na optimálny obsah DNA v qRT PCR reakcii (obrázok 2). Testované boli varianty 30 ng – 45 ng – 60 ng – 70 ng.

Genomická analýza LIS prvku a návrh prajmerov LIS prvku bola uskutočnená na základe poradia nukleotidov v NCBI databáze – modul BLAST, pod prístupovým číslom AJ131994 a softvérom Primer3 so sekvenciou priameho prajmera: TTTATTTTGGTTGAGTTTGGGTTTA a spätného prajmera: GATCTCTTGGAGTGATGTTTGATCT. Výpočet relatívnej kvantifikácie efektivity qRT PCR bol uskutočnený podľa matematického modelu Pfaffl (2001).

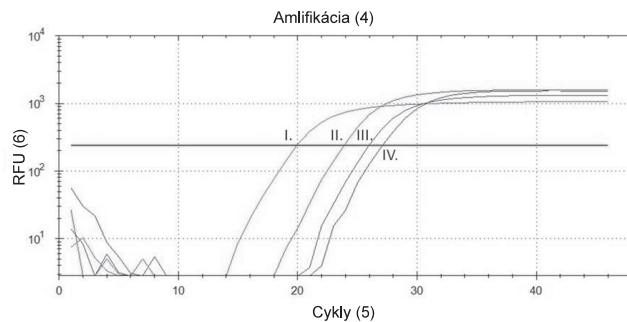
qRT PCR sa uskutočnili v roztokoch obsahujúcich 45 ng DNA, iQ™ SYBR® Green Supermix (Bio-rad) a koncentraciami prajmerov 500 nM priamy a 400 nM spätný (obrázok 3) v prístroji CFX96 Real-time system. Časový a teplotný profil qRT PCR bol nasledovný, úvodná denaturácia DNA 3 min. pri 95 °C,

Tabuľka 1 Charakteristiky genotypov ľanu siateho použitých v práci

Názov genotypu (1)	Pôvod (2)	Typ genetického zdroja (3)	Hospodárske využitie (4)
Albidum	India	krajová odroda (9)	olej (11)
Flanders	Kanada (5)	odroda (10)	olej (11)
Gisa	Egypt	odroda (10)	vlákno (12)
La Plata 1938	Argentína (6)	odroda (10)	olej (11)
Rembrandt	Holandsko (7)	odroda (10)	vlákno (12)
Svaloeif	Švédsko (8)	krajová odroda (9)	nezistené (13)

Table 1 Analysed flax genotypes characteristics

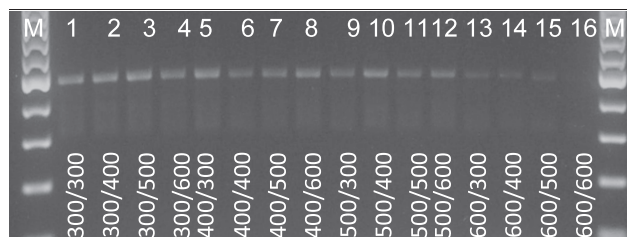
(1) name of genotype, (2) origin, (3) type of germplasm, (4) commercial utilization, (5) Canada, (6) Argentina, (7) The Netherlands, (8) Sweden, (9) Landrace, (10) cultivar, (11) oil, (12) fibre, (13) unknown



Kód (1)	ng.dm ⁻³ DNA	Ct hodnota (2)	Efektivita (3)
I.	30	19,85	89 %
II.	60	23,82	91 %
III.	45	25,91	93 %
IV.	75	27,05	23 %

Obrázok 2 Efektivita qRT PCR reakcie pri rôznej koncentracii DNA v ng.dm⁻³ sa uskutočnila v 25 µl reakčnom roztoku

Figure 2 Reaction efficiency different DNA concentration in ng dm⁻³. Reaction accomplished in 25 µl of reaction solution (1) code, (2) Ct value, (3) efficiency, (4) amplification, (5) cycles, (6) RFU – relative fluorescence units



Obrázok 3 Efektivita syntézy produktu v real-time PCR pri rôznych koncentraciách prajmerov. Označenie 300/400 znamená – čitateľ je koncentrácia priameho prajmera a menovateľ je koncentrácia spätného prajmera. Koncentrácie prajmera sú v nM.dm⁻³

Figure 3 The synthesis product efficiency in real-time PCR, while different primers concentrations were used. Identification 300/400 means – numerator is concentration of forward primer and denominator is concentration of reverse primer. Primer concentrations are in nM dm⁻³

(denaturácia DNA 15 s pri 95 °C, naviazanie prajmerov 40 s pri 54 °C – cieľové miesto začlenenia LIS alebo pri 49 °C – LIS prvok, syntéza refazcov DNA 2 min pri 72 °C) 45-krát a záverečná syntéza DNA 2 min pri 72 °C. Odčítania fluorescence vznikajúceho produktu prebehli po amplifikačnej fáze a analýzy teploty denaturácie fragmentu boli odčítavané počas 1 sekundy

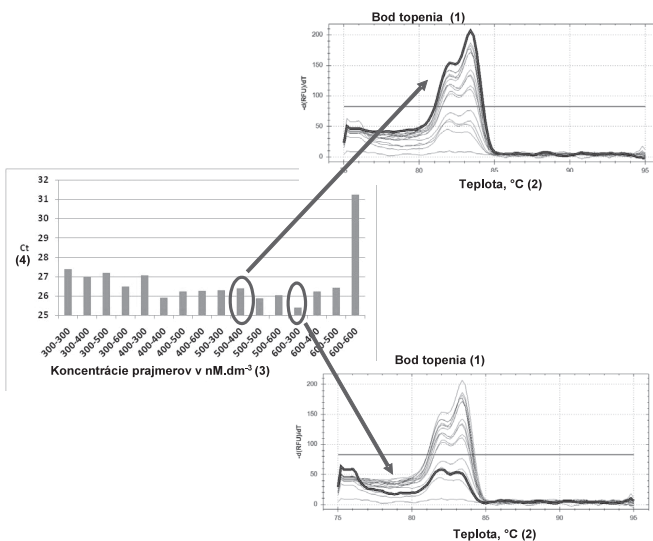
a v teplotných nárastoch 0,2 °C. qRT PCR reakcia bola analyzovaná pomocou CFX™ Manager Software. Elektroforetická separácia produktov získaných qRT PCR reakciou sa uskutočnila v 2% agarózovom géle. Molekulárno-genomické analýzy boli uskutočnené v Laboratóriu biodiverzity, fyziológie a genetiky rastlín excelentného centra ochrany a využívania agrobiodiverzity na Katedre genetiky a šľachtenia rastlín, Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov, SPU v Nitre.

Výsledky a diskusia

Schopnosť prajmerov v qRT PCR reakcii zmožiť oblasť cieľového miesta včlenenia sa LIS prvku (obrázok 4) bola potvrdená analýzou teploty denaturácie, resp. teploty topenia syntetizovaného produktu, ako aj vizualizáciou produktu v agarózovom géli (obrázok 5). Cieľové miesto včlenenia LIS prvku v géome ľanu siateho bolo pozitívne identifikované vo všetkých genotypoch. Pri 6 genotypoch pestovaných v poľných podmienkach, tak aj pri 6 genotypoch pestovaných v *in vitro* podmienkach.

Vypočítaná teplota topenia produktu identifikujúceho miesto včlenenia LIS prvku predstavuje 81 °C a konkrétne hodnoty analýzy bodu topenia (obrázok 6) sa pohybovali v rozpätí 81,2–82,8 °C. Silnú fluorescenciu a najvýraznejšie výstupy na úrovni hodnôt RFU 2084-2255 boli pri odrode La Plata 1938.

Identifikácia samotného LIS prvku v rastlinách pestovaných v poľných a *in vitro* podmienkach bola uskutočnená analýzou teploty topenia qRT PCR produktu, ktorý bol výpočtom určený v rozpätí 78–81 °C a experimentálne potvrdený na úrovni 78,8 a 81,40 °C. Identifikácia bola v prípade rastlín pestovaných v poľných podmienkach a *in vitro* podmienkach pri plnom obsahu živín spolu s pôsobením UV žiarenia, vo všetkých prípadoch negatívna (tabuľka 2). Navodením nutričného stresu (MS II) sa podarilo navrhnutou dvojicou prajmerov potvrdiť včlenenie LIS prvku v prípade genotypu Rembrandt a Gisa (obrázok 7). Odroda Rembrandt je v literatúre (Cullis, 2005) uvádzaná ako geno-



Obrázok 4 Špecifita syntézy produktu v qRT PCR pri rôznych koncentráciách prajmerov. Koncentrácie prajmera sú v $\text{nM}\cdot\text{dm}^{-3}$
Figure 4 Specificity of product synthesis in qRT PCR while different primers concentrations were used. Primer concentrations are in $\text{nM}\cdot\text{dm}^{-3}$
 (1) melt peak, (2) temperature in °C, (3) primer concentration in $\text{nM}\cdot\text{dm}^{-3}$, (4) threshold cycle

typ, pri ktorom bola genomická odpoveď na nutričný stres v podobe inzercie LIS prvku dokázaná. Ct hodnoty v prípade oboch genotypov určujú za daných podmienok qRT PCR reakcie približne 2-násobok kópií zmožneného LIS prvku v prospech odrody Gisa.

Výsledky uvádzané v literatúre (Evans, Durrant and Rees, 1966; Cullis, 2005) ukazujú, že k inzercii LIS prvku dochádza v priamej reakcii na rast jedincov v podmienkach stresu. K inzercii dochádza počas vývinu rastlín a najlepšie je identifikovateľná vo vegetatívnych orgánoch – listoch. Tieto zistenia sú súhlasné s našimi výsledkami. Použité prajmery v podmienkach qRT PCR reakcie sú schopné efektívne zistiť začlenenie sa LIS prvku aj vo vzorke DNA, ktorá reprezentuje populáciu

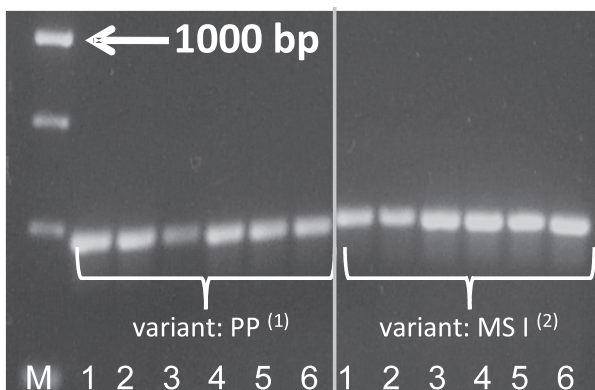
Tabuľka 1 Prehľad výsledkov identifikácie cieľového miesta včlenenia LIS prvku a jeho prítomnosť vo vybraných genotypoch ľanu siateho

Genotyp (1)	Produkt (2)	Identifikácia vo variantoch (3)		
		poľné podmienky (4)	<i>in vitro</i> podmienky MS I (5)	<i>in vitro</i> podmienky MS II (6)
Albidum	CMI	+	+	+
	LIS	-	-	-
Flanders	CMI	+	+	+
	LIS	-	-	-
Gisa	CMI	+	+	+
	LIS	-	-	+
La Plata 1938	CMI	+	+	+
	LIS	-	-	-
Rembrandt	CMI	+	+	+
	LIS	-	-	+
Svaloef	CMI	+	+	+
	LIS	-	-	-

CMI – cieľové miesto včlenenia LIS prvku, LIS – identifikácia LIS prvku, MS I – plné MS médium a pôsobenie UV, MS II – MS médium s polovičným obsahom makroprvkov a nulovým obsahom mikroprvkov a pôsobenie UV, + áno, - nie
 CMI – Target insertion site of LIS event, LIS – LIS event identification, MS I – full-value MS medium and influence of UV radiation, MS II – MS medium with half content of macroelements and zero content of microelements and influence of UV radiation, + means yes, - means no

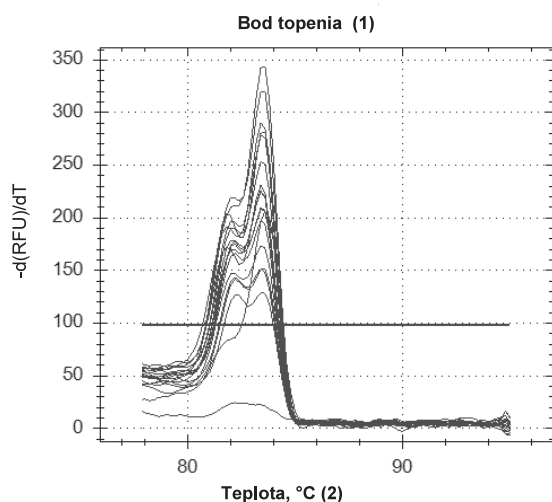
Table 1 Overview of results of identification of target insertion site of LIS event and its presence in selected flax genotypes

(1) genotype, (2) product, (3) the identification in individual variants, (4) field conditions, (5) *in vitro* conditions MS I, (6) *in vitro* conditions MS II



Obrázok 5 Identifikácia miesta včlenenia LIS prvku lanu siateho v agarózovom géli
(1) PP – poľné podmienky; (2) MS I – kultivačné médium s neredukovanou výživou

Figure 5 Identification of LIS event target sequences of flax in agarose gel
(1) PP – field conditions, (2) MS I – cultivation medium without reduction of nutrition

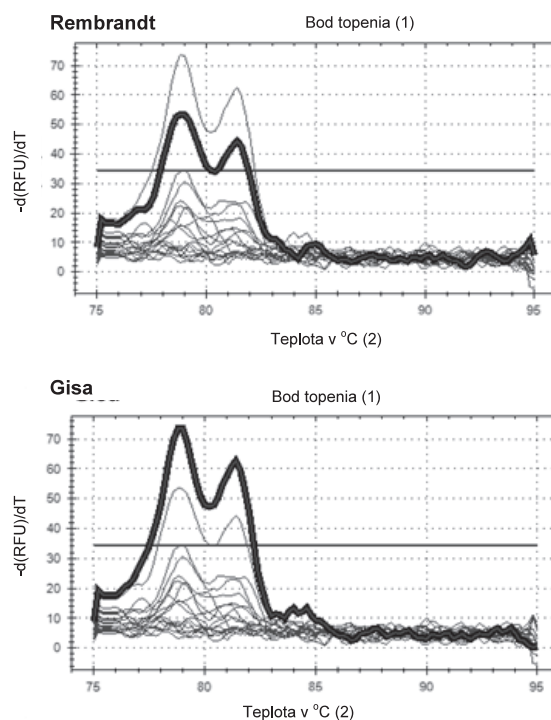


Obrázok 6 Identifikácia miesta včlenenia LIS prvku na základe teploty topenia qRT PCR produktu vo variante MS II pestovania rastlín
-d(RFU)/dT – prahové hodnoty topenia produktu

Figure 6 LIS insertion place identification based on analysis of melting temperature of qRT PCR product in treatment MS II of plant cultivating
-d(RFU)/dT – default melt threshold
(1) melt peak, (2) temperature in °C

rastlín daného genotypu. Identifikácia LIS prvku zaznamenávala slabšie hodnoty fluorescenčného signálu. Slabší signál bol pravdepodobne spôsobený individuálnymi rozdielmi medzi rastlinami v populácii, z ktorých bola skúmaná vzorka DNA vytvorená (z náhodne vybraných 10 listov a nie samostatne z jednotlivých listov). Načasovanie inzercie LIS prvku je závislé od konkrétnych podmienok, v ktorých rastlina rastie. Výsledky ako pre jednotlivé ošetrenia dusíkom, tak aj vodno-stresové varianty naznačujú, že ak sa rastlina vyvíja za týchto špecifických podmienok, tak inzercia LIS vykazuje homozygotnosť a prechádza na všetkých potomkov (Chen et al., 2009).

Je tiež zrejme, že nie všetky genotypy lanu reagujú na nutričný stres inzerciou LIS prvku, alebo nie takou mierou, ako je dokumentovaná pre PI líniu (Cullis, 2005), nakoľko samotná podstata takejto genomickej odpovede v súčasnosti nie je dostatočne zodpovedaná, stabilita, prípadne citlivosť jednotlivých odrôd lanu siateho nemôže byť uzatvorená ako konečná.



Obrázok 7 Identifikácia LIS prvku na základe teploty topenia produktu qRT PCR v genotypoch Rembrandt a Gisa

Figure 7 LIS event identification based on melting temperature of qRT PCR product, which identified insertion of LIS event in genotypes Rembrandt and Gisa
(1) melt peak, (2) temperature in °C

Súhrn

Práca bola zameraná na identifikáciu LIS prvku (*Linum Insertion Sequence* – inzerčná sekvencia lanu) lanu siateho. Identifikácia bola realizovaná na dvoch úrovniach. Na úrovni určenia prítomnosti cieľových miest začlenenia sa LIS prvku a na úrovni sledovania vlastného začlenenia sa LIS prvku. Hodnotených bolo šesť odlišných genotypov lanu siateho v poľných podmienkach bez abiotického stresu a v podmienkach s abiotickým stresom. Abiotický stres bol navodený v *in vitro* podmienkach na kultivačnom médiu (Murashige and Skoog, 1962) a UV ožiarením a v ďalšom variante s redukcíu výživy (s polovičným obsahom makroelementov a bez mikroelementov). Analýza LIS prvku bola uskutočnená pomocou real-time PCR s navrhnutými prajmermi, sekvencia priameho prajmera pre dôkaz začlenenia sa LIS prvku: TTTATTTTGGTTGAG-TTTGGGTTTA a sekvencia spätného prajmera: GAT-CTCTTGGAGTGATGTTTGATCT. Na základe hodnotenia teploty topenia qRT PCR produktu bola potvrdená prítomnosť cieľového miesta začlenenia sa LIS prvku pri všetkých rastlinách pestovaných v poľných podmienkach a v *in vitro* podmienkach. Rovnakou metódou bolo sledované aj začlenenie sa LIS prvku. Vplyvom dávok UV žiarenia a nutričného stresu bolo aktivované začlenenie sa LIS prvku pri dvoch genotypoch lanu siateho, Rembrandt a Gisa. Pri iných podmienkach rastu nebolo sledované začlenenie sa LIS prvku. Stresové faktory, nedostatočná výživa a ožarovanie UV svetlom, mali vplyv na aktivitu LIS prvku pri citlivých jedincoch.

Kľúčové slová: LIS prvok, lan siaty, qRT PCR

Podakovanie

Táto práca bola vytvorená realizáciou projektu Excelentné centrum ochrany a využívania agrobiodiverzity, na základe podpory operačného programu Výskum a vývoj financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja (0,5) a VEGA 1/0112/08 Vývoj molekulových markérov odvodených od tandemovo a rozptýlene sa opakujúcich poradí nukleotidov v genóme ľanu siateho (0,5).

Literatúra

- CULLIS, C. A. 1986. Phenotypic consequences of environmentally induced changes in plant DNA. In: Trends Gene., vol. 2, 1986, p. 307–310.
- CULLIS, C. A. 2005. Mechanisms and control of rapid genomic changes in flax. In: Annals of Botany. vol. 95, 2005, p. 201–206.
- DURRANT, A. 1962. The environmental induction of heritable change in *Linum*. In: Heredity. vol. 17, 1962, p. 27–61.
- EVANS, G. M. – DURRANT, A. – REES, H. 1966. Associated nuclear changes in the induction of flax genotrophs. In: Nature., vol. 212, 1966, p. 697–699.
- CHEN, Y. – SCHNEEBERGER, R. G. – CULLIS, C. A. 2005. A site-specific insertion sequence in flax genotrophs induced by environment. In: New Phytologist. vol. 167, 2005, p. 171–180.

- CHEN, Y. – LOWENFELD, R. – CULLIS, C. A. 2009. An environmentally induced adaptive (?) insertion event in flax. In: International Journal of Genetics and Molecular Biology., vol. 1, 2009, no. 3, p. 038–047.
- MURASHIGE, T. – SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. In: Physiol. Plant., vol. 15, 1962, p. 473–479.
- OH, T. J. – CULLIS, C. A. 2003. Labile DNA sequences in flax identified by combine sample representational difference analysis (csRDA). In: Plant Molecular Biology., vol. 52, 2003, p. 527–536.
- SCHNEEBERGER, R. – CULLIS, C. A. 1991. Specific DNA alteration associated with the environmental induction of heritable change in flax. In: Genetics., vol. 128, 1991, p. 619–630.
- PFAFFL, M. W. 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. In: Nucleic Acid Research., vol. 29, 2001, p. 2002–2007.

Kontaktná adresa:

doc. Ing. Katarína Ražná, PhD., SPU v Nitre, Katedra genetiky a šľachtenia rastlín, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, tel.: 037/641 42 45, e-mail: katarina.razna@uniag.sk

Acta fytotechnica et zootechnica 3

Nitra, Slovaca Universitas Agriculturae Nitriae, 2010, s. 64–66

POROVNANIE ENERGETICKEJ HODNOTY ZŔN OBILNÍN STANOVENEJ ROZDIELNYMI METÓDAMI COMPARISON OF CEREAL GRAIN ENERGY VALUE DETECTED BY DIFFERENT METHODS

Daniel BÍRO, Branislav GÁLIK, Milan ŠIMKO, Miroslav JURÁČEK, Michal ROLINEC,
Peter ŠEVČÍK, Maroš KURUC

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

The aim of the experiment was the cereal grains energy value by different methods determination. In the experiment we analyzed energy value of maize, wheat, barley and oat grains. The energy value of feeds we detected by calculations and by direct calorimetric method also. For energy value detected by calculation were the contents of crude protein, crude fat, crude fibre and nitrogen free extract analyzed. By this method we found the highest gross energy (18.83 MJ.kg⁻¹ of dry matter) in maize, significantly ($P < 0.05$) in comparison with wheat and oat. The lowest gross energy content (18.25 MJ.kg⁻¹ of dry matter) we detected in oat and barley. In calorimetric energy value we found different results. The highest calorimetric gross energy value (18.66 MJ.kg⁻¹ of dry matter), significantly in comparison with barley and wheat, was for oat typical. Calorimetric gross energy value of barley and wheat (18.59 and 18.58 MJ.kg⁻¹ of dry matter) were lower. The lowest calorimetric gross energy value we detected in maize, significantly ($P < 0.05$) in comparison with wheat. We found different results of cereal grains energy value detected by different methods. By calculations we found the highest gross energy value in maize, by calorimetric method in oat.

Key words: feeds, cereal grains, gross energy, calculation, calorimeter

Dosahovanie vysokej úžitkovosti zvierat a tým efektívnej živočíšnej produkcie je podmienené najmä dostatočným energetickým zásobením živočíšneho organizmu (Hoffmann, 1998; Bíro, 2006). Energia v rôznej forme je v živočíšnom organizme potrebná pre všetky prebiehajúce procesy, jej zdrojom vo výžive zvierat sú krmivá (Hoffmann, 1998). Energetickú hodnotu krmiva vyjadruje jeho energetický obsah, resp. jeho energetický účinok v živočíšnom organizme (Pajtáš et al., 2009). Najvýznamnejším energetickým zdrojom sú vo výžive zvierat obilniny (Pajtáš,

1997; Mlynek a Halo, 1999; Horniaková et al., 2003). Ich vysoká energetická hodnota je determinovaná vysokým obsahom škrobu (McDonald et al., 2002; Blasel et al., 2006; Mareček, 2008), ktorý sa v zrnách obilnín asimiluje do plnej fyziologickej zrelosti (Frančáková a Líšková, 2009). Podľa Šimka et al. (2010) sa najvyššou energetickou hodnotou spomedzi obilnín vyznačuje zrnko kukurice, ktorú Bíro (2006) označuje za nosný energetický zdroj vo výžive zvierat, najmä prežúvavcov. V praktickom kŕmení zvierat je potrebné aj podľa Petrikoviča a Som-