

## ANALÝZA BIELKOVINOVÉHO PROFILU GENOTYPOV RAŽE SIATEJ POMOCOU ELEKTROFORETICKÝCH METÓD

LENKA PETROVIČOVÁ a ZDENKA GÁLOVÁ

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko  
Zdenka.Galova@uniag.sk

Došlo 3.9.14, prijaté 30.10.14.

Kľúčové slová: raž siata, SDS-PAGE, A-PAGE, bielkovinový polymorfizmus, elektroforetický profil

### Úvod

Raž sa pestuje predovšetkým v severnej oblasti mierneho pásma, môže byť úspešne pestovaná v suchých a kyslých pôdach, kde sa ostatným obilninám ako je pšenica, jačmeň a ovos nedarí<sup>1</sup>. Uvedené vlastnosti v kombinácii s tým, že raž sa používa na výrobu chleba, ju zaraďujú medzi dôležité obilniny pre ľudskú spotrebu v niektorých častiach sveta<sup>2</sup>.

Zásobné bielkoviny obilnín sa vyznačujú vysokým polymorfizmom, preto sa využívajú ako markery na identifikáciu a diferenciaciu genotypov, pričom v porovnaní s ďalšími markermi genetickej variability majú viaceré výhody. Jednou z nich je, že nie sú závislé od podmienok prostredia a ontogenetickej fázy vývinu rastliny. Metódy založené na analýze zásobných bielkovín nie sú tak nákladné z hľadiska prístrojového vybavenia a spotrebného materiálu, ako metódy využívané na detekciu polymorfizmu DNA. Vzhľadom k týmto aspektom, polymorfizmus zásobných bielkovín v zrne obilnín je veľmi vhodný pre detekciu genetickej variability obilnín<sup>3,4</sup>.

Majoritnou bielkovinovou frakciou zrna raže sú sekalíny, ktoré sú vysoko polymorfne a môžeme ich z hľadiska ich aminokyselínového zloženia rozdeliť na síru bohaté ( $\gamma$ -sekalíny), síru chudobné ( $\omega$ -sekalíny) a vysokomolekulárne sekalíny (HMW)<sup>5</sup>.

Cieľom našej práce bolo charakterizovať elektroforetické spektrum zásobných bielkovín raže siatej prostredníctvom SDS-PAGE a A-PAGE.

### Experimentálna časť

#### Rastlinný materiál

Na analýzu boli použité vzorky genotypov raže siatej, ktoré nám poskytla Génová banka semenných druhov Slo-

venskej republiky VÚRV v Piešťanoch a Génová banka semenných druhov Českej republiky VÚRV Praha-Ruzyně. Celkovo bolo analyzovaných 45 genotypov raže siatej (*Secale cereale* L.), ktoré boli vyšľachtené v strednej Európe – Československu (15), Poľsku (15), Českej republike (5) a Maďarsku (5). Pre porovnanie odrôd európskeho pôvodu bolo analyzovaných ďalších 5 genotypov pochádzajúcich zo Zväzu sovietskych socialistických republík (ZSSR).

#### Extrakcia sekalínov

Extrakcia zásobných bielkovín bola uskutočnená podľa štandardnej referenčnej metódy ISTA v prostredí dodecylsírnanu sodného<sup>6</sup>. Mechanicky rozdrvené celé, suché zrno jednotlivých genotypov bolo vložené do 1,5 ml eppendorfovej skúmavky. Pred extrakciou bol pripravený vždy čerstvý extrakčný roztok, ktorý obsahoval 4,25 ml zásobného roztoku (12,5 ml 1 M Tris-HCl pH 6,8; 20 ml glycerolu; 24,1 ml redistilovanej vody; 4 g SDS; 20,0 mg Pyronínu G) + 0,75 ml 2-merkaptetanolu + 10 ml redistilovanej vody. Na 1 mg rozdrveného zrna bolo pridaných 8  $\mu$ l extrakčného roztoku. Extrakcia prebiehala počas 30 min za stáleho miešania na magnetickej trepačke pri teplote 100 °C. Po odstredení pri 15 000 rpm počas 10 min, bol supernatant pipetovaný do nových eppendorfových skúmaviek.

#### Elektroforetická frakcionácia bielkovín (SDS-PAGE)

Elektroforetická separácia bielkovín bola realizovaná v systéme vertikálnej diskontinuálnej SDS-PAGE (Hoefer™ SE 600 Croma), podľa štandardnej metodiky ISTA (Wrigley, 1992). Na začiatku bol pripravený deliaci gél v zložení 11,43 ml 1 M Tris-HCl (pH 8,8); 17,48 ml roztoku AA-BIS (54,49 g akrylamidu a 0,72 g *N,N'*-metylénbisakrylamidu v objeme 250 ml); 0,3 ml 10% (w/v) roztoku SDS; 0,76 ml 4% (w/v) roztoku persíranu amónneho; 0,06 ml TEMED, ktorý bol vliaty medzi sklenené platne do výšky asi 1,5 cm od horného okraja. Na vyrovnanie hladiny gélu bolo použitých niekoľko kvapiek butanolu. Deliaci gél sa nechal polymerizovať asi 10 min. Na separačný gél bol navrstvený štartovací gél, ktorý pozostával z 1,236 ml 1 M Tris-HCl (pH 6,8); 8,3 ml roztoku AA-BIS (7,29 g akrylamidu a 0,125 g *N,N'*-metylénbisakrylamidu v objeme 100 ml); 0,1 ml 10% (w/v) roztoku SDS; 0,8 ml 2% (w/v) roztoku persíranu amónneho; 0,03 ml TEMED. Ako štandard bol použitý nízko molekulárny marker M3913 MW 6500–66 000 a vysoko molekulárny marker M3788 MW 36 000–205 000 (Sigma-Aldrich, Nemecko). Vyextrahované bielkoviny boli nanesené do gélu v množstve 10  $\mu$ l na jednu aplikačnú dráhu. Platne s nanesenými vzorkami boli umiestnené do elektroforetickej komory, kde sa nalial elektródový roztok (28,2 g glycínu; 6 g Tris-HCl; 2 g SDS v objeme 2000 ml). Separácia bola vykonaná za podmienok 10 mA, 500 V a 50 W približne 12–13 h, pri konštantnej teplote 10 °C, pokiaľ far-

bička Pyronín G nedosiahla spodnú časť gélu. Z každej odrody *Secale cereale* L. bola uskutočnená 15 zrnová analýza.

#### Extrakcia sekalínov pre A-PAGE

Extrakciu sekalínov sme uskutočnili podľa štandardnej referenčnej metódy ISTA v kyslom prostredí, pričom sekalíny boli mechanicky extrahované z endospermu celých, suchých zŕn<sup>7</sup>. Pred extrakciou bol pripravený čerstvý extrakčný roztok z 25% 2-chlóretanolu a 0,05% Pyronínu G, v ktorom boli zásobné bielkoviny rozpustné. Na 1 mg zhomogenizovaného zrna sa pridalo 5 µl extrakčného roztoku. Vzorky sa premiešali a nechali extrahovať cez noc pri laboratórnej teplote. Pred nanesením vzorky do gélu sa extrakt odstredil v odstredivke pri 12 000 rpm počas 10 min.

#### Elektroforetická frakcionácia sekalínov v A-PAGE

Elektroforetická separácia sekalínov bola realizovaná v systéme vertikálnej diskontinuálnej elektroforézy (Hoefler™ SE 600 Series), podľa štandardnej metodiky ISTA v kyslom prostredí (Draper, 1987). Na realizáciu tejto metódy bolo potrebné pripraviť zásobný roztok obsahujúci 50 g akrylamidu, 2 g *N,N'*-metylénbisakrylamidu, 30 g močoviny, 0,5 g kyseliny askorbovej, 0,5 g glycinu, 10 ml kyseliny octovej ľadovej doplnený do 500 ml deionizovanou vodou. Samotná príprava gélu spočívala v príprave 49,43 ml vychladeného zásobného roztoku, 300 µl FeSO<sub>4</sub> (0,5 g FeSO<sub>4</sub>, 40 ml vody, 5–6 kvapiek 96% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 120 µl 10% (w/v) roztoku persíranu amónneho a 150 µl TEMED.

Po polymerizácii gélu sa do jamiek nanieslo 10 µl vzorky. Pre každý genotyp sa uskutočnila 5 zrnová analýza. Ako štandardy boli použité odrody pšenice letnej formy ozimnej Bonita a Sana. Vlastná elektroforéza prvých

30 min prebiehala pri 130 V, ďalších 45 min pri 380 V a zvyšný čas pri 500 V. Delenie prebiehalo po dobu dvojnásobku behu Pyronínu G. Teplota bola udržiavaná na 10 °C pomocou chladiaceho zariadenia.

#### Farbenie gélu a vizualizácia

Všetky frakcie sekalínov separované v SDS-PAGE a A-PAGE boli zafarbené v roztoku pripravenom zmiešaním 190 ml 10% kyseliny trichlóroctovej a 10 ml 0,5% Comassie Brilliant Blue R250 v etanole. Po zafarbení bolo prebytočné farbivo zliate a gél sa odfarboval v destilovanej vode do bezfarebného pozadia. Elektroforetické záznamy profilov jednotlivých genotypov boli fotografované a vyhodnotené pomocou dokumentačného programu Doc-It LS Image analysis UVP.

#### Výsledky a diskusia

Nutričná a technologická kvalita cereálií sa hodnotí nielen z hľadiska obsahu bielkovín, ale predovšetkým zo zastúpenia jednotlivých bielkovinových frakcií. Výživná hodnota zrna je ovplyvnená vyšším obsahom esenciálnych aminokyselín, kým technologická kvalita závisí najmä od podielu zásobných bielkovín, ktoré súvisia s kvalitou lepku a jeho vplyvom na finálny produkt<sup>8</sup>.

Elektroforetickou separáciou zásobných bielkovín zrna raže v prostredí dodecylsírnanu sodného (tab. I) sme identifikovali v prvej tretine gélu vysokomolekulárne podjednotky sekalínov (HMW sekalíny), ďalšou frakciou boli monoméne prolamíny ( $\gamma$ -75k sekalíny,  $\omega$ -sekalíny,  $\gamma$ -40k sekalíny), a v poslednej časti polyakrylamidového gélu bolo detegovaných niekoľko subfrakcií zvyškových albumínov a globulínov.

V analyzovanej kolekcii 45 odrôd raže siatej sme zaznamenali minoritný podiel vysokomolekulárnych podjednotiek sekalínov (8,21 %), pričom najvyššie percentuál-

Tabuľka I

Zastúpenie elektroforetických subfrakcií bielkovín genotypov raže prostredníctvom SDS-PAGE a A-PAGE, ich pôvod a viacliniovosť

Odroda	Krajina pôvodu	HMW [%] <sup>a</sup>	$\gamma$ , $\omega$ [%] <sup>b</sup>	alb+glo [%] <sup>c</sup>	L <sup>d</sup>	$\gamma$ -75k [%] <sup>e</sup>	$\omega$ [%] <sup>f</sup>	$\gamma$ -40k [%] <sup>g</sup>
Valtické	CSK	10,86	68,72	20,97	4	53,93	37,78	8,28
Tešovské	CSK	7,02	61,96	31,02	8	53,85	35,22	10,93
Keřkovské	CSK	8,69	69,89	21,42	9	39,39	43,43	17,18
Zenit	CSK	8,80	68,82	22,38	9	41,53	52,33	6,15
Chlumecké	CSK	8,67	67,01	24,32	8	30,9	50,39	18,74
České	CSK	6,67	64,12	29,20	6	29,6	58,68	11,71
Albedo	CSK	10,39	67,52	22,08	9	44,98	45,12	9,9
Židlochovický Panis	CSK	9,68	69,87	20,43	7	16,55	77,67	5,78
Nalžovské	CSK	9,18	70,10	20,69	6	31,05	37,88	31,57
Dobrovické	CSK	8,37	71,60	20,03	7	26,47	39,39	34,14

Tabuľka I  
Pokračovanie

Odroda	Krajina pôvodu	HMW [%] <sup>a</sup>	$\gamma$ , $\omega$ [%] <sup>b</sup>	alb+glo [%] <sup>c</sup>	L <sup>d</sup>	$\gamma$ -75k [%] <sup>e</sup>	$\omega$ [%] <sup>f</sup>	$\gamma$ -40k [%] <sup>g</sup>
Vígľašské	CSK	7,00	70,90	22,09	7	40,33	27,22	32,44
Ratbořské	CSK	7,48	70,10	22,42	5	49,42	35,84	14,84
Laznické	CSK	7,96	65,26	26,78	6	41,06	37,63	21,31
Breno	CSK	5,72	64,05	30,23	9	52,68	26,27	21,05
Dobřeničské krmné	CSK	7,06	65,80	27,13	8	25,81	38,4	35,79
Aventino	CZE	5,41	59,31	35,28	8	41,46	38,79	19,74
Selgo	CZE	6,46	63,60	29,93	8	44,35	30,14	25,5
Radomske	CZE	6,72	73,27	20,01	6	53,62	25,83	20,54
České normální	CZE	10,5	69,36	20,14	6	25,83	47,17	27,0
Křmne žito	CZE	6,23	74,22	19,55	5	37,93	40,15	21,91
Warko	POL	8,12	76,65	15,23	6	28,71	47,43	23,95
Dankowskie Złote	POL	8,00	71,56	20,44	6	40,32	35,33	24,32
Zduno	POL	7,90	69,52	22,57	6	32,71	43,87	23,42
Motto	POL	5,83	68,50	25,65	5	29,14	42,34	28,50
Pancerne	POL	8,27	75,78	15,94	7	49,4	29,96	20,13
Wojcieszycie	POL	6,78	66,70	26,52	7	40,07	35,04	24,90
Universalne	POL	7,89	68,15	23,95	8	27,10	63,49	9,40
Dankowskie Nowe	POL	6,67	69,01	24,31	7	27,11	63,47	9,41
Amilo	POL	8,70	70,37	20,93	8	32,34	47,20	20,44
Wibro	POL	8,34	67,74	23,92	4	34,82	46,70	18,48
Bosmo	POL	9,10	69,48	21,42	6	62,54	25,63	11,84
Rostockie	POL	8,23	65,50	25,37	6	47,17	36,99	15,84
Hegro	POL	7,42	68,28	24,30	7	58,60	21,31	20,09
Walet	POL	7,35	67,50	25,15	8	32,02	26,04	11,94
Kier	POL	8,90	58,73	32,40	7	37,79	46,34	16,84
Tetra Start	SUN	9,65	70,96	19,39	6	35,96	41,39	22,63
Čerkascanka tetra	SUN	9,68	73,08	17,24	7	22,86	51,56	25,57
Voschod 1	SUN	10,62	69,82	19,56	5	38,22	39,65	22,13
Golubka	SUN	8,43	69,58	21,99	5	30,67	42,58	26,74
Mnogokoloskaja	SUN	9,13	74,82	16,05	7	39,64	38,42	21,93
Lovaszpatonai	HUN	8,71	76,81	14,48	7	48,28	36,15	15,56
Ovari	HUN	7,84	71,76	20,47	7	47,84	40,14	12,02
Kecskeméti	HUN	8,39	68,69	22,92	9	49,26	33,79	16,94
TetraSopronkorpasci	HUN	11,6	67,72	20,68	4	49,61	32,87	17,52
Varda	HUN	9,39	71,56	19,05	7	40,08	47,83	12,09
X <sup>h</sup>		8,21	68,97	22,80	6,75	39,84	40,89	19,26
$\sigma$ [%] <sup>i</sup>		1,42	3,94	4,51	1,40	10,85	11,0	7,38
$v$ [%] <sup>j</sup>		17,32	5,72	19,81	20,7	27,25	26,90	38,34

<sup>a</sup> HMW – vysokomolekulárne sekalíny, <sup>b</sup>  $\gamma$  –  $\gamma$ -75k a  $\gamma$ -40k sekalíny,  $\omega$  –  $\omega$ -sekalíny, <sup>c</sup> alb + glo – zvyškové albumíny a globulíny, <sup>d</sup> L – Líniovosť, <sup>e</sup>  $\gamma$ -75k –  $\gamma$ -75k sekalíny, <sup>f</sup>  $\omega$  –  $\omega$ -sekalíny, <sup>g</sup>  $\gamma$ -40k –  $\gamma$ -40k sekalíny, <sup>h</sup> x – aritmetický priemer, <sup>i</sup>  $\sigma$  – smerodajná odchýlka, <sup>j</sup> v – variačný koeficient

ne zastúpenie HMW podjednotiek sme detegovali v maďarskej odrode Tetra Sopronkorpasci (11,66 %) a najnižší podiel vykazovala česká odroda Aventino (5,41 %) (tab. I). Počet subfrakcií HMW podjednotiek v analyzovanej kolekcii bol od 1 do 4.

Zastúpenie prolaminov ( $\gamma$ -75k sekalíny,  $\omega$ -sekalíny,  $\gamma$ -40k sekalíny) v nami hodnotených odrodách bolo v priemere 68,97 % s variabilitou od 58,73 % (poľská odroda Kier) do 76,81 % (maďarská odroda Lovaszpato nai) (tab. I). Počet subfrakcií týchto podjednotiek bol od 12 do 17.

Nutričná kvalita zrna je ovplyvnená okrem iného aj zastúpením albumínov a globulínov, ktoré sa vyznačujú najvhodnejším aminokyselinovým zložením, nakoľko sa v nich nachádza najviac esenciálnych aminokyselín<sup>9</sup>. Výsledky našich výskumov ukázali, že priemerný obsah albumínov a globulínov bol 22,80 %, pričom ich obsah bol v rozsahu od 14,48 % (česká odroda Aventino) do 35,28 % (maďarská odroda Lovaszpato nai). Počet subfrakcií albumínov a globulínov varíroval od 6 do 10.

Naše výsledky potvrdili aj výsledky iných autorov, ktorí pomocou SDS-PAGE zistili, že obsah HMW podjednotiek v raži bol priemerne 6,3 %, zastúpenie prolaminov sa pohybovalo v priemere 68,1 % a zbytkové albumíny a globulíny tvorili 16,7% podiel<sup>10</sup>. V ďalšej štúdií zaznamenali 7,52% podiel HMW podjednotiek v raži, 74,61% podiel prolaminov a 17,80% podiel albumínov a globulínov<sup>11</sup>. Ďalší demonštrujú podobné zastúpenie jednotlivých podjednotiek sekalínov<sup>12,13</sup>. Stanovenie molekulovej hmotnosti je pri štúdiu bielkovín jednou zo základných požiadaviek a jej určenie pomocou SDS-PAGE je ľahko realizovateľné s odpovedajúcou presnosťou. Molekulová hmotnosť HMW-sekalínov bola v rozsahu od 160 kDa do 100 kDa, prolaminov od 98 kDa do 28 kDa a zvyškových albumínov a globulínov bola molekulová hmotnosť v rozsahu od 26 kDa do 7 kDa. Uvedené je v súlade aj s výsledkami iných autorov<sup>13–15</sup>.

U všetkých 45 genotypov raže siatej sme zaznamenali viacliniovosť (tab. I). Z porovnávaných genotypov tri genotypy boli 4 líniové, päť genotypov bolo 5 líniových, jedenásť genotypov bolo 6 líniových, trinásť genotypov bolo 7 líniových, osem genotypov bolo 8 líniových a päť genotypov bolo 9 líniových.

Metóda SDS-PAGE neumožňuje presné rozlíšenie  $\gamma$ -75k sekalínov,  $\omega$ -sekalínov a  $\gamma$ -40k sekalínov, preto bola realizovaná polyakrylamidová elektroforéza v kyslom prostredí (A-PAGE), pomocou ktorej je možné odlíšiť jednotlivé frakcie. Z výsledkov uvedených v tab. I vyplýva, že obsah  $\gamma$ -75k sekalínov je 39,84 %, podiel  $\omega$ -sekalínov tvoril 40,89 % a najnižšie zastúpenie (19,26 %) mali  $\gamma$ -40k sekalíny. Najvyšší podiel  $\gamma$ -75k sekalínov sme detegovali v poľskej odrode Walet (62,54 %), na druhej strane najnižší obsah týchto podjednotiek sme zistili v československej odrode Židlochovický Panis (16,55 %). Podobne, obsah  $\omega$ -sekalínov sa pohyboval v rozpätí od 21,31 % (odroda Tetra Start) do 77,67 % (odroda Židlochovický Panis). V našej kolekcii raže  $\gamma$ -40k sekalíny tvorili minoritný podiel, pričom najvyššie

zastúpenie týchto frakcií sme zaznamenali v československej odrode Dobřeničské křmne (35,79 %) a najnižší podiel vykazovala československá odroda Židlochovický Panis (5,78 %). Z výsledkov elektroforetickej analýzy sekalínov raže vyplýva, že existuje vysoká variabilita medzi obsahom jednotlivých frakcií, čo potvrdzujú aj výsledky<sup>16,17</sup>, pričom medzi genotypmi vyšľachtenými v rozdielnych krajinách pôvodu neboli v priemere zistené štatisticky preukazné rozdiely.

Poloha a intenzita bielkovinových zón v elektroforeograme raže odpovedá jej genetickej konštitúcii a je pre danú odrodu charakteristická, čím sa aplikovaná metóda stáva ideálnym nástrojom pre oblasť verifikácie odrôd pri kontrole produkcie, šľachtenia i výskumu vrátane genetickej zdrojov.

## Záver

Cieľom tejto práce bolo vyhodnotiť bielkovinový profil 45 genotypov raže siatej (*Secale cereale* L.) na základe elektroforetického spektra zásobných bielkovín v SDS-PAGE a A-PAGE. Polyakrylamidová gélová elektroforéza v prostredí SDS bola použitá na separáciu zásobných bielkovín a to agregovaných glutelínov (HMW sekalínov), prolaminov ( $\gamma$ -75k sekalínov,  $\omega$ -sekalínov,  $\gamma$ -40k sekalínov) a zvyškových albumínov a globulínov. Výsledky ukázali, že genotypy raže sú viacliniové, čo znamená, že spracovateľ môže mať problém pri zabezpečení požadovaných parametrov technologickej kvality z dôvodu rozdielnosti bielkovinového spektra jednotlivých genotypov. Metóda SDS-PAGE neumožňuje dostatočne presné rozlíšenie prolaminov, preto bola realizovaná polyakrylamidová gélová elektroforéza v kyslom prostredí, pomocou ktorej bolo možné odlíšiť  $\gamma$ -75k sekalíny,  $\omega$ -sekalíny a  $\gamma$ -40k sekalíny.

## Použitá skratky

A-PAGE	acid polyacrylamide gel electrophoresis (polyakrylamidová elektroforéza v kyslom prostredí)
ISTA	International Seed Testing Association (medzinárodné združenie pre kontrolu osív)
SDS-PAGE	sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (polyakrylamidová elektroforéza v prítomnosti dodecylsírnanu sodného)
TEMED	tetrametyletyléndiamín
VÚRV	Výskumný ústav rastlinnej výroby (Plant Production Research Institute)

*Práca bola riešená s finančnou podporou Európskeho spoločenstva v rámci projektu: Výbudovanie výskumného centra „AgroBioTech“, projekt číslo 26220220180 (100 %).*

## LITERATÚRA

1. Carena M. J. (ed.): *Cereals*. Springer, Fargo 2009.
2. Bell G. D. H. (ed.): *Cultivated plants of the farm*. Cambridge University Press, New York 2011.
3. Vyhnanek T., Bednár J.: *Plant, Soil Environ.* 51, 151 (2005).
4. Chňápek M., Tomka M., Gálová Z., Balážová Ž.: *J. Microbiol., Biotechnol. Food Sci. 1 Part B*, 2087 (2013).
5. Gálová Z., Balážová Ž., Chňápek M., Vivodík M., Oslovičová V.: *Bielkovinové a DNA markery pšenice*. SPU, Nitra 2011.
6. Wrigley C. W.: *Mod. Methods Plant Anal.* 14, 17 (1992).
7. Draper S. R.: *Seed Sci. Technol.* 15, 431 (1987).
8. Shewry P. R., Halford N. G.: *J. Exp. Bot.* 53, 947 (2002).
9. Chňápek M., Gálová Z., Tomka M., Rückschloss L.: *Potravinárstvo* 4, 20 (2010).
10. Petr J. (ed.): *Žito a triticales: biologie, pěstování, kvalita a využití*. Profi Press, Praha 2008.
11. Michalík I., Gálová Z., Urminská D., Knoblochová H. (ed.): *Výživná a technologická kvalita rastlinných produktov a ich potravinárske využitie*. SPU, Nitra 2006.
12. Markowska A., Rzepka-Plevneš D.: *Biuletyn IHAR* 236, 125 (2005).
13. Ribeiro M., Seabra L., Ramos A., Santos S., Pinto-Carnide O., Carvalho C., Igrejas G.: *Hereditas* 149, 72 (2012).
14. Lubkowski K., Grzmił B., Markowska-Szczupak A., Tymejczyk A.: *Pol. J. Commodity Sci.* 3, 81 (2009).
15. Simpson B. K. (ed.): *Food Biochemistry and Food Processing*. Wiley-Blackwell, Iowa 2012.
16. Gellrich C., Schieberle P., Wieser H.: *Cereal Chem.* 80, 102 (2003).
17. Rzepka-Plevneš D., Smolik M.: *Plant Breeding and Seed Science* 48, 49 (2003).

**L. Petrovičová and Z. Gálová** (*Department of Biochemistry and Biotechnology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak Agriculture University, Nitra, Slovakia*): **Analysis of The Protein Profile of Rye Genotypes by Electrophoretic Methods**

The aim of this study was to analyze the protein profile in 45 genotypes of rye by SDS-PAGE and A-PAGE methods. The obtained results confirm that the electrophoresis of seed proteins is a simple and reliable method giving reproducible results. The method can be used in growing rye for identification and detection of the variety.