



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

218813
(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
A 01 G 17/00

(22) Přihlášeno 22 12 78
(21) (PV 8827-78)

(43) Zveřejněno 30 07 82

(45) Vydáno 15 04 85

(75)

Autor vynálezu

PONERT JIŘÍ prom. biol. ing. CSc., PRAHA

(54) Způsob stanovení pohlaví dvoudomých, androdynamických a gynodynamických rostlin, zejména klíčících

1

2

Vynález popisuje stanovení pohlaví dvou-
domých nebo androdynamických a gynody-
namických rostlin prostřednictvím stanove-
ní obsahu amylázy na jednotku hmotnosti
čerstvé rostliny.

Vynález se týká stanovení pohlaví u těch rostlin, které jsou zčásti či zcela dvoudomé, tedy u těch druhů rostlin, jejichž jednopohlavé květy jsou vytvářeny podle pohlaví na různých rostlinných jedincích. Mezi kulturními rostlinami patří mezi dvoudomé druhy například konopí, chmel, špenát, košíkářská vrba, topoly, palma datlová a jiné druhy palem. U některých rostlin se sice vyvíjejí květy obojaké, leč u některých jedinců převládají květy funkčně prašníkové, a u jiných rostlin téhož druhu květy funkčně pestíkové — v tomto případě rozlišujeme androdynamické a gynodynamické rostliny. Způsob podle tohoto vynálezu umožňuje rovněž vzájemně odlišit androdynamické a gynodynamické rostliny.

Pokud jsou na rostlině vyvinuty květy, nečiní stanovení jejich pohlaví obtíží. Způsob podle tohoto vynálezu však umožňuje určit pohlaví i u takových rostlin, u nichž květy nejsou vytvořeny, ať již z důvodu ontogenetických či fyziologických. Výhodně je možné způsobem podle tohoto vynálezu rozlišovat pohlaví dvoudomých rostlin, respektive odlišovat androdynamické a gynodynamické rostliny, již ve velmi mladém věku. Tím je umožněno i laboratorní zkoumání poměru pohlaví ve vzorku semen.

Ačkoli jsou známy rozdíly v průměrné enzymatické aktivitě tkání pocházejících z jedinců dvoudomých rostlin různého pohlaví, nebyly tyto rozdíly dosud použitelné k odlišení pohlaví rostlin. To platí i o hydrolytické aktivitě amylázy (DŽAPARIDZE L.I.: Pol u rastenij, tom. 2. str. 75 — 76, Tbilisi 1965), která bývá v průměru vyšší u „ženských“ rostlin.

Způsob podle tohoto vynálezu umožňuje určení pohlaví i u jednotlivých rostlin, čehož doposud nebylo možno dosáhnout. Tím je například umožněno určit číselně poměr pohlaví v populaci na základě analýzy semenáčků získaných ze vzorku semen po jeho vyklíčení v laboratorních podmínkách.

Postup podle tohoto vynálezu spočívá v tom, že v každé rostlině se jednak stanoví aktivita amylázy nebo/a její obsah, jednak čerstvá hmotnost živé rostliny (například u semenáčků s pomocí torzních mikrovah), vypočte se relativní obsah amylázy na jednotku čerstvé hmotnosti rostliny a získané výsledky, jmenovitě čerstvá hmotnost rostliny a obsah amylázy na jednotku čerstvé hmotnosti rostliny se sestaví do korelační tabulky. Graficky jsou pak odlišitelné dvě skupiny výsledků. Příslušnost analýzy ke skupině výsledků pak určuje pohlaví analyzované rostliny.

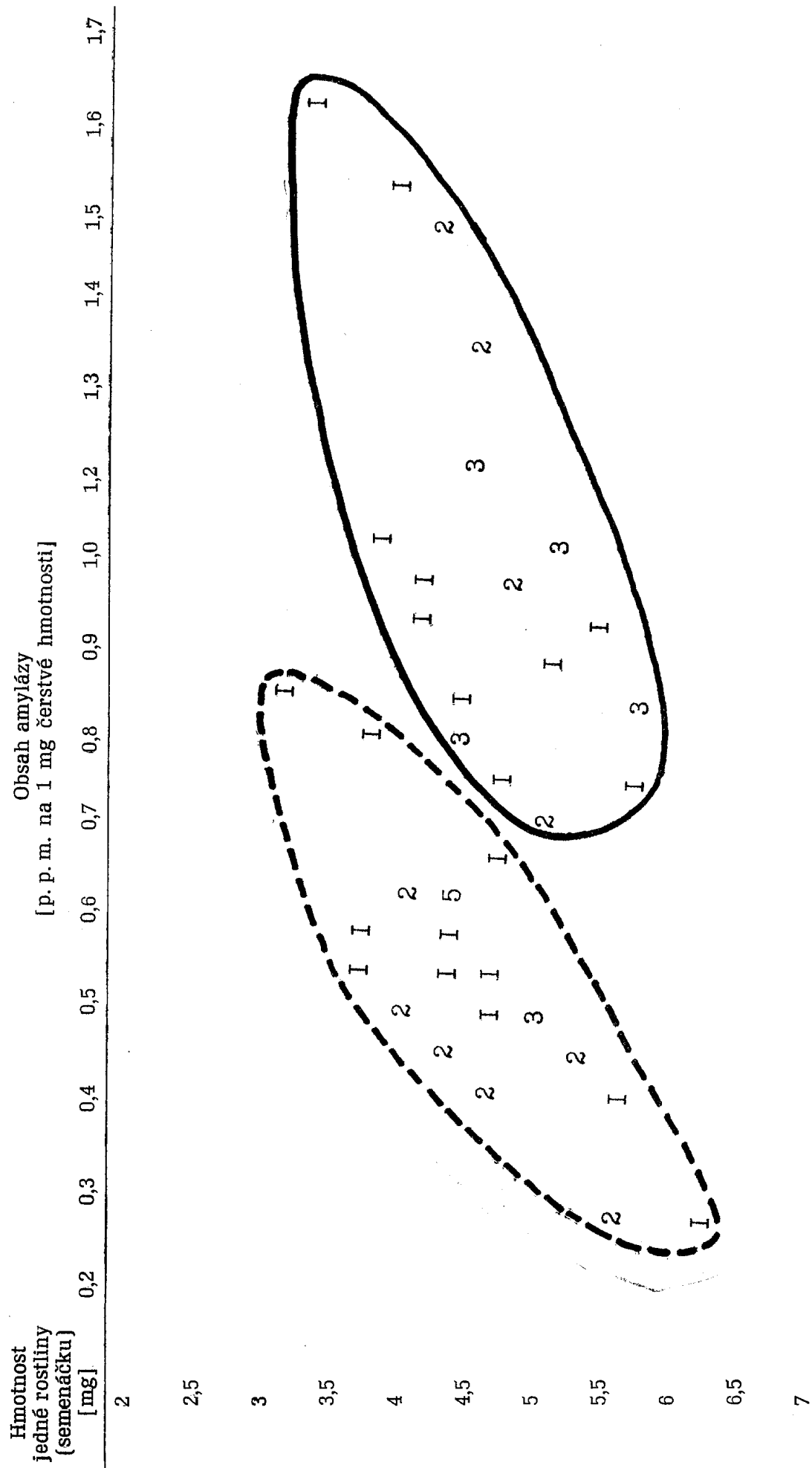
Příklad 1

Nažky druhu *Petasites georgicus* byly vsety do misek Petri na dvojitou vrstvu filtračního papíru zvlhčeného destilovanou vodou. Po vyklíčení byly odebírány semenáčky a po osušení kořínků suchým filtračním papírem zváženy jednotlivě na torzních mikrovahách. Po sériové mikroanalýze enzymatické hydrolytické aktivity amylázy, při které se stanovení provádí s celými jednotlivými semenáčky byl vypočten relativní obsah amylázy na 1 mg čerstvé hmotnosti semenáčku.

V následující tabulce je vyneseno počet semenáčků (odpovídající počtu analýz), v závislosti na zjištěném obsahu amylázy v p. p. m. na 1 mg čerstvé hmotnosti semenáčku a na zjištěné čerstvé hmotnosti semenáčku vyjádřené v miligramech. Po sestavení této korelační tabulky jsou výsledky graficky rozděleny do dvou skupin, podle celkového průběhu dvou korelačních závislostí, z nichž jedna odpovídá androdynamickým (tedy funkčně převážně „mužským“) a druhá gynodynamickým (tedy funkčně převážně „ženským“) jedincům.

Poměr počtu androdynamických a gynodynamických jedinců v daném vzorku tedy činí 31 : 30.

Tabulka 1



Příklad 2

13,3 g Na_2HPO_4 a 4,3 g kyseliny benzoové se rozpustí v 250 ml vody. Roztok se uvede do varu. Zvlášť se rozpustí 0,2 g rozpustného škrobu v 5 ml studené vody a přidá se potom do prvního roztoku, při přerušení varu. Spojené roztoky se uvedou opět do varu na dobu 1 min. Po ochlazení se doplní na 500 ml vodou. Po 5 ml tohoto roztoku se pipetuje do 2 měrných baněk (o objemu 50 ml), z nichž jedna slouží jako kontrolní, druhá se používá ke zkoumání rostlinného extraktu. Tato druhá měrná banka se ponoří do vodní lázně teplé 37°C na dobu 5 min., poté se přidá 10 ml rostlinného extraktu (řapíky listů dospělých rostlin *Petasites georgicus* se homogenizují v 20násobném množství vody a po filtraci se změní objem získaného filtrátu) a po smíchání se pokračuje přesně 7,5 min. v inkubaci. Po vynětí z teplé vodní lázně se přidá 5 ml roztoku jodu (způsob jeho přípravy se uvádí v později následujícím samostatném odstavci).

5 ml roztoku jodu se přidá i do kontrolní

měrné baňky, a v obou měrných baňkách se doplní objem na 50 ml vodou a obsah se důkladně promíchá. Extinkce se měří fotokolorimetricky s použitím červeného filtru. Vhodné je změřit i vlastní zbarvení rostlinného extraktu v pufru bez přidání roztoku jodu.

Příprava roztoku jodu: 3,567 g KIO_3 a 45 g KI se rozpustí v 800 ml vody a za míchání se přidá 9 ml koncentrované HCl; vodou se doplní na 1000 ml. K roztoku 25 g NaF v 350 ml vody se přidá 50 ml předchozího roztoku a směs se doplní na 500 ml vodou.

Aktivita amylázy na 1 g čerstvé hmotnosti listových řapíků se tabletuje v závislosti na celkové čerstvé hmotnosti řapíku. V tomto případě, protože šlo o dospělé rostliny, bylo známo, zda analyzované listy pocházejí z gynodynamických (G), či androdynamických (A) rostlin *Petasites georgicus*. Sběr listů se prováděl těsně před jejich homogenizací, v měsíci dubnu, v Adžarské ASSR na černomořském pobřeží SSSR. Příklad slouží jako kontrolní, dokumentující efektivnost způsobu podle vynálezu.

Tabulka 2

Hmotnost řapíku (g)	Obsah amylázy (mezinárodních jednotek na 1 g čerstvé hmotnosti řapíku)				
	0,193	0,264	0,268	0,70	1,31
19,7	.	.	.	.	A
21,0	.	G	.	.	.
22,4	G	.	.	.	.
36,6	.	.	.	A	.
63,0	.	.	G	.	.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob stanovení pohlaví dvoudomých nebo androdynamických a gynodynamických rostlin, vyznačený tím, že ve vzorku rostlin se nejprve určí čerstvá hmotnost jednotlivých rostlin a stanoví množství amylázy a/nebo její aktivity v každé jednotlivé rostlině, vypočte se obsah amylázy na jednotku čerstvé hmotnosti rostliny a/nebo její aktivity na jednotku čerstvé hmotnosti rostliny a výsledky sériově provedených analýz se sestaví do korelační tabulky vzájemné závislosti obsahu amylázy na jednotku čerstvé hmotnosti rostliny nebo její aktivity na

jednotku čerstvé hmotnosti rostliny a čerstvé hmotnosti rostliny a posléze po grafickém ohraničení dvou skupin výsledků se stanoví pohlaví každé jednotlivé rostliny na základě příslušnosti výsledků jejích analýz k jedné ze zmíněných dvou skupin.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že se analyzují semenáčky rostlin.

3. Způsob podle bodů 1 a 2, vyznačený tím, že se analyzují semenáčky získané ze vzorku semen naklíčených současně v laboratorních podmínkách.