



Európska únia
Európsky fond regionálneho rozvoja



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

Vybudovanie výskumného centra "AgroBioTech" ITMS 26220220180

Partner	Ústav genetiky a biotechnológií rastlín SAV v Nitre (Partner 2)
Aktivita	3.1 Aplikovaný výskum v rastlinných biotechnológiách
Zodpovedná osoba	RNDr. Alena Gajdošová, CSc.
Cieľ	B. Realizácia aplikovaného výskumu v oblasti rastlinných biotechnológií
Výstup 1	Vytvorenie nových cenných genotypov
Autori	Ing. Andrea Hricová, PhD. RNDr. Alena Gajdošová, CSc. RNDr. Gabriela Libiaková, CSc. Ing. Michal Záhorský

V Nitre, dňa:

RNDr. Alena Gajdošová, CSc.
zodpovedná osoba odbornej aktivity 3.1

prof. Ing. Marián Brestič, PhD.
predseda vedeckého výboru a vedecký
garant



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

Vytvorenie nových cenných genotypov ako výsledok mutačného šľachtenia láskavca

Autori: Andrea Hricová, Alena Gajdošová, Gabriela Libiaková, Michal Záhorský

1. Stav v riešení problematiky v zahraničí a na Slovensku

Molekulárne šľachtenie rastlín je rozvíjané ako komplementárne ku klasickému spôsobu šľachtenia a patrí sem okrem inovatívnych metód genetického inžinierstva a rastlinných biotechnológií aj indukovaná mutagenéza, ktorá významne prispieva k zefektívneniu šľachtiteľského procesu a môže byť aplikovaná pre mnohé poľnohospodárske plodiny (1). Cieľom jej využitia je zavedenie nových genotypov do poľnohospodárskej produkcie, čo bude príspevkom pre trvalo udržateľné poľnohospodárstvo, udržanie biologickej diverzity a potravinovú bezpečnosť (2, 3).

Indukované mutácie sa využívajú na zlepšenie vlastností a znakov hlavných poľnohospodárskych plodín, akými sú ryža, pšenica, jačmeň, kukurica či bavlník. Od založenia spoločného FAO/IAEA oddelenia jadrových technológií bolo vyvinutých viac než 3000 nových kultivarov a odrôd s mutantným fenotypom (1). Takto získané vylepšené genotypy a odrody sa dnes bežne pestujú v päťdesiatich krajinách sveta.

Hlavnou stratégiou šľachtenia plodín založeného na využití indukovaných mutácií pomocou radiácie je zlepšiť jeden, najviac dva znaky výkonných a dobre prispôsobivých odrôd. Medzi znaky a vlastnosti, ktoré sa mutagenézou najviac ovplyvňujú, v zmysle ich vylepšenia, sú výška rastlín, synchronne dozrievanie a ľahšie spracovanie semien, odolnosť proti chorobám, profil a obsah mastných kyselín, veľkosť škrobových zŕn a obsah škrobu. Pozitívnu zmenou týchto vlastností sa tak pomocou mutačného šľachtenia významne prispieva k zvýšeniu výnosu a kvality plodín (4).

V súčasnosti je mutačné šľachtenie zamerané najmä na vylepšenie vlastností ryže, ktorá patrí medzi najpestovanejšie obilniny. Medzi množstvo vylepšených odrôd a kultivarov ryže, odvodených indukovanou mutáciou pomocou radiácie patria napr. nízko rastúce genotypy Calrose 76 pestovaný najmä v USA a Basmati 370 pestovaný hlavne v Pakistane, vysoko výnosná odroda PNR pestovaná najmä v Indii, Zhefu 802, ktorá sa v Číne pestuje na viac než 10,6 mil ha. Indica typ ryže RD6 získaná gama žiarením sa pestuje na približne 2,4 mil ha čo predstavuje takmer 30% rozlohy určenej pre pestovanie ryže (5).

Najznámejšími mutagenézou indukovanými odrodami jačmeňa sú vysoko výnosné odrody Diamant a Golden Promise, ktoré boli použité ako rodičovské genotypy pri šľachtení iných kultivarov jačmeňa. Je známe, že viac ako 90 v súčasnosti pestovaných odrôd jačmeňa bolo vo viac ako 12 krajinách Európy odvodených práve z mutagenézou generovanej odrody Diamant (1).

Podľa údajov FAO/IAEA je 75% mutagenézou generovaných odrôd poľnohospodárskych plodín a 25% tvoria okrasné a dekoratívne druhy rastlín ako napr. chryzantémy, ruže, begónie, azalky (3). Na druhej strane je známych len niekoľko mutantov ovocných stromov ako napr. jablone so zmenenou farbou šupky plodov (6), hrušky rezistentné voči vybraným chorobám (7) či pre konzumentov zaujímavé bezkôstkové odrody grepfruitov (8).

Osobitým typom mutagenézy je ožarovanie a vyvolávanie mutácií v *in vitro* kultúrach. V prípade *in vitro* kultivovaného rastlinného materiálu sú pletivá, kalusové kultúry a bunkové suspenzie veľmi citlivé na radiáciu a sú ožarované len veľmi nízkymi dávkami (2 – 5 Gy) v porovnaní s kmeňovými odrezkami alebo semenným materiálom, ktoré znesú relatívne vyššie dávky (15 – 20 Gy) (1).



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

Cieľavedome vyvolávané mutácie v laboratórnych podmienkach predstavujú jeden zo spôsobov vytvárania nových, vylepšených odrôd aj u druhov *Amaranthus spp.* (9). Cílené vylepšovanie vlastností láskavca závisí najmä od jeho využitia. Dôraz v šľachtení tejto známej pseudocereálie sa kladie na zlepšenie výnosov zrna a biomasy, na kvalitu zrna, ako aj na zvýšenie tolerancie na biotický a abiotický stres (10).

V minulosti bol na ÚGBR v spolupráci s Medzinárodnou atómovou agentúrou so sídlom (IAEA) vo Viedni, zvolený multidisciplinárny prístup zameraný na zlepšenie kvality a kvantity produkcie láskavca pomocou indukovanej radiačnej mutagenézy (5). Výsledkom je zbierka cenných mutantných línií láskavca s preukazne zvýšenou hmotnosťou tisíc semien (HTS) voči kontrolným jedincom. Predchádzajúce dlhodobé výskumy naznačujú genetickú fixáciu tohto znaku v mutantoch. Z uvedeného je možné usúdiť, že táto trvalá zmena môže byť dôsledok mutácie génov, majúcich súvis s hmotnosťou príp. veľkosťou semien. Cieľom výskumu bolo okrem iného overiť tento predpoklad.

Ako **realizačný výstup** výskumu budú mutantné línie láskavca, plne charakterizované na biochemickej a molekulárnej úrovni využitím najmodernejších prístupov biotechnológií a tzv. omics technológií. Takto charakterizované línie môžu byť poskytnuté ako cenný východzí materiál pre budúce šľachtenie láskavca, alebo v prípade pozitívnych charakteristík, môžu byť priamo zaradené do odrodových pokusov. Následné zavedenie uznaných a detailne charakterizovaných nových odrôd láskavca do poľnohospodárskej produkcie bude príspevkom pre trvalo udržateľné poľnohospodárstvo, udržanie biologickej diverzity, pre vyrovnaný regionálny rozvoj racionálnym využívaním prírodných zdrojov (chudobné pôdy), pre potravinovú bezpečnosť, zlepšenie ľudského zdravia a zdravia ľudí, ktorí potrebujú špeciálnu hodnotnú dietetickú stravu.

2. Ciele výskumu

Všeobecným cieľom výskumu bolo vytvorenie a charakterizácia cenných mutantných línií a novej odrody láskavca na genetickej, biochemickej a molekulárnej úrovni, pomocou genomických a proteomických prístupov. Vyvinutie molekulárnych markérov a identifikácia génov kódujúcich dôležité znaky by významne prispelo k urýchleniu a zefektívneniu súčasného šľachtiteľského úsilia.

Genetická charakterizácia línií získaných radiačnou mutagenézou bola zameraná najmä na stanovenie expresie vybraných génov zásobných bielkovín semien láskavca majúcich súvis s úrodovným prvkom - hmotnosťou tisíc semien, ktorá je v mutantných líniách dlhodobo zvýšená. Na základe získaných výsledkov bude možné určiť mieru vplyvu mutagenézy na zmeny genomickej DNA ožiarených genotypov.

Techniky *gélovej a bezgélovej proteomiky* boli využité s cieľom jednak analyzovať rozdiely v expresii bielkovín medzi mutagenézou získanými líniami a neožiarenými (kontrolnými) formami, ale tiež k identifikácii molekulárnych faktorov zodpovedných za mutantný fenotyp (zvýšená HTS) a dôkladnej charakterizácii proteómu láskavcového semena.

Biochemická charakterizácia bola zameraná na zistenie rozdielov nutričnej hodnoty semien mutantných línií oproti neožiareným formám. Sústredili sme sa na určenie obsahu takých biologicky zaujímavých aktívnych látok ako napr. obsah a kompozícia mastných kyselín a obsah skvalénu, obsah zásobných bielkovín, obsah aminokyselín či obsah kyseliny oxálovej (šťaveľany) ako jedného z antinutričných faktorov.



Európska únia
Európsky fond regionálneho rozvoja



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

3. Objekty experimentálneho štúdia

V poslednom období vzrastá dopyt po prírodných produktoch s dietologickými až liečebnými účinkami. Významným zdrojom biologicky aktívnych komponentov a z nutričného hľadiska dôležitých látok sú aj niektoré podceňované druhy plodín ako napr. láskavec (*Amaranthus* spp.). Táto významná pseudoobilnina priťahuje v posledných rokoch veľký záujem pestovateľov, šľachtiteľov aj výrobcov potravín u nás i v zahraničí. Z hľadiska výživy sú zrnové typy láskavca významným zdrojom plnohodnotných bielkovín za súčasne nízkeho podielu celiakálne aktívnych (lepkotvorných) bielkovín, spôsobujúcich zdravotné ťažkosti u ľudí trpiacich autoimunitným ochorením celiakou (najzávažnejšie forma citlivosti na lepok). Práve pre túto nutrične významnú vlastnosť a súčasne vzrastajúci počet ľudí trpiacich celiakou vzrastá záujem o jeho výskum, pestovanie a spracovanie aj na Slovensku.

Druhy rodu *Amaranthus* sú okrem toho rezistentné k mnohým chorobám, tolerantné k suchu, zasoleniu, vysokým teplotám a predstavujú tak dôležitú alternatívnu plodinu v podmienkach súčasného globálneho otepľovania. Biologicky aktívne látky láskavca majú pozitívny vplyv na ľudský organizmus v prevencii niektorých civilizačných ochorení (11).

Objektom výskumu sú radiačnou mutagenézou generované línie láskavca metlinatého (*Amaranthus cruentus* L.) a hybridného druhu pochádzajúceho z medzidruhového kríženia (*Amaranthus hypochondriacus* L. x *Amaranthus hybridus* L.). Línie boli získané metódou radiačnej mutagenézy, ožiarení dawkou gama žiarenia 175 Gy vo FAO/IAEA Seibersdorf, Rakúsko a následnej selekcii, čím bolo dosiahnuté fixovanie sledovaného znaku (HTS).

Okrem mutantných línií analyzujeme pôvodné, neožiarené (kontrolné) formy láskavca - genotyp Ficha (*Amaranthus cruentus* L.), hybrid K-433 (*Amaranthus hypochondriacus* L. x *Amaranthus hybridus* L.) ako aj tzv. referenčné odrody, voči ktorým sa mutantné línie porovnávajú v štátnych odrodových skúškach – odroda Aztec (*Amaranthus cruentus* L.) a odroda Plainsman (*Amaranthus hypochondriacus* L. x *Amaranthus hybridus* L.).

4. Použitá laboratórna technika

Pre dosiahnutie cieľov vyššie uvedeného výskumu bolo využité už existujúce prístrojové vybavenie dostupné na ÚGBR ako aj prístroje zakúpené v rámci projektu Agrobiotech:

- elektronické analytické digitálne váhy s internou kalibráciou
- autokláv horizontálny malokapacitný a autokláv prenosný
- laboratórna sušička malokapacitná
- minicentrifúga, centrifúga stolná a centrifúga stolná chladená
- hlbokomraziaci box
- laminárny box Biohazard
- prístroj pre výrobu ultračistej vody
- elektorforetická aparatúra horizontálna malá a veľká s elektroforetickým zdrojom
- koncentrátor s rotorom - SPEEDVAC
- separačná jednotka pre druhý rozmer 2-D elektroforézy
- izoelektrický fokusačný blok a blok Protean IEF Cell
- termoblok/termomixer
- termocykler a gradientiový termocykler
- fotodokumentačný systém



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

5. Pracovné postupy

Pre naplnenie cieľov experimentálnych štúdií láskavca sú využívané nasledovné postupy:

- hodnotenie morfológických znakov podľa technického dotazníka /klasifikátora UPOV
- extrakcie genomickej DNA, RNA a bielkovín
- PCR analýzy
- elektroforetická separácia celkovej genomickej DNA a PCR produktov v agarózovom géli
- relatívna kvantifikácia úrovne expresie analyzovaných génov
- genomické a bioinformatické vyhodnotenie získaných dát (BLAST a CLUSTALW)
- štatistické vyhodnotenie získaných dát (ANOVA, Kruskal-Wallisov test, LSD test)

6. Očakávané prínosy

Výsledkom v úvode spomenutého multidisciplinárneho projektu riešeného pod záštitou IAEA, zameraného na mutačné šľachtenie láskavca, je 5 mutantných línií láskavca metlinatého (*Amaranthus cruentus* L.) a 3 línie hybridného druhu K-433 (*Amaranthus hypochondriacus* L. x *Amaranthus hybridus* L.), ktoré dlhodobo vykazujú zvýšenú HTS, ako jedného z ukazovateľov úrodnosti. Hlavným **realizačným výstupom** výskumu sú **plne charakterizované mutantné línie láskavca**, ktoré môžu byť priamo poskytnuté ako cenný východzí materiál pre šľachtenie láskavca, alebo v prípade zistených pozitívnych charakteristík, môžu byť priamo zaradené do odrodových pokusov. Na základe dosiahnutých výsledkov realizovaných experimentálnych štúdií môžeme povedať, že disponujeme zbierkou niekoľkých mutantov s dlhodobo významne zvýšenou HTS a to s ohľadom na klimatické podmienky, ktorých vplyv na hodnotený parameter úrodnosti nebol štatisticky preukázaný. Komplexnejšie hodnotenie biochemických ukazovateľov nutričnej hodnoty semien ukázalo, že sa nám aplikáciou radiačnej mutagenézy podarilo získať línie s porovnateľnou až vylepšenou nutričnou hodnotou semien, ktoré mali v porovnaní s neožiarenými formami zvýšený podiel plnohodnotných bielkovín a súčasne nízky podiel zásobných bielkovín. Získali sme dve línie, ktoré majú o 50 a 70% znížený podiel šťavelanov, ako jedného z antinutričných faktorov s negatívnym vplyvom na ľudské zdravie. Vplyv klímy, ktorá má významný vplyv na podiel obsahových látok či hmotnosť tisíc semien môžeme vylúčiť a záverom konštatovať, že zmeny, ktoré nastali v sledovaných parametroch sú u analyzovaných línií dôsledok mutagenézy. Získané línie tak predstavujú nové cenné genotypy reprezentujúce vzácny šľachtiteľský materiál. Sú udržiavané pomocou poľných experimentálnych výsadiel ÚGBR SAV a sú k dispozícii pestovateľom, šľachtiteľom ako aj k priamemu potravinárskemu spracovaniu.

Na základe uvedených výsledkov sme mutantnú líniu, u ktorej sa vplyv aplikovanej radiácie prejavil na sledované parametre najvýznamnejšie, postúpili do štátnych odrodových skúšok (ŠOS) s cieľom registrovať ju ako novú, na Slovensku vyšľachtenú odrodu láskavca. V roku 2013 boli v spolupráci s Odborom odrodového skúšobníctva (ÚKSUP, Bratislava) ŠOS tejto línie úspešne ukončené a v novembri 2013 bolo Ústavu genetiky a biotechnológií SAV v Nitre vydané **Rozhodnutie o registrácii novej odrody láskavca metlinatého (*Amaranthus cruentus* L.) pod menom ‘PRIBINA‘** (rozhodnutie priložené – Príloha č. 4). Týmto bol sortiment odrôd láskavca, pochádzajúcich prevažne z krajín Severnej a Južnej Ameriky, Indie a Afriky, obohatený o prvú slovenskú odrodu láskavca metlinatého. Nová odroda je v Štátnej odrodovej knihe je zapísaná pod evidenčným číslom 7056 a uvedená ako



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

novouznaná v publikácii „SPRAVODAJCA ODRODOVÉHO SKÚŠOBNÍCTVA ÚSTREDNÉHO KONTROLNÉHO A SKÚŠOBNÉHO ÚSTAVU POĽNOHOSPODÁRSKEHO V BRATISLAVE, 1. október – 31. december 2013, Ročník: XI Číslo: 4 www.uksup.sk/download/odrody/20140122_spravodajca_XI_4.pdf

Tab. Vyhodnotenie odlišnosti morfológických znakov, potrebných k identifikácii novej odrody

Podobné odrody a odlišnosti od týchto odrôd Similar varieties and differences from these varieties			
Názov podobnej odrody Denomination of similar variety	Znaky, v ktorých je podobná odroda odlišná Characteristic in which the similar variety is different ⁰⁾	Prejav znaku podobnej odrody State of expression of similar variety	Prejav znaku kandidátskej odrody State of expression of candidate variety
<i>Příklad</i>	<i>Rastlina: čas objavenia sa súkvetia</i>	<i>skoro</i>	<i>Stredne</i>
Aztec	10. Young leaf / mladý list: distribution of secondary color on upper side /rozloženie sekundárneho sfarbenia vrchná strana listu	2 Central blotch / škvrna v strede	1 Colored basal area / Sfarbená bazálna časť
Aztec	11. Young leaf / mladý list: color on the lower side /rozdelenie sekundárneho sfarbenia vrchná strana listu	3 purple / purpurová	1 green / zelená
Aztec	19. Leaf blade / listová čepeľ: main color /hlavná farba	2 medium green / stredne zelená	1 light green / svetlo zelená
Aztec	24. Inflorescence / súkvetie: color / farba	5 purple / purpurová	2 green / zelená
Aztec	26. Inflorescence / súkvetie: Density of glomerules / hustota vetví	5 dense / husté	7 medium / stredné
Aztec	29. Inflorescence / súkvetie: Length of bract relative to utricle / dĺžka listeňa v porovnaní s vreckom	3 longer / dlhý	1 shorter / krátky
Aztec	40. Seed/semeno: weight per 1000 seeds/ hmotnosť 1000 semien	3 low / nízka	7 high / vysoká
genotyp Fichta (východiskový materiál)	40. Seed/semeno: weight per 1000 seeds/ hmotnosť 1000 semien	5 medium / stredná	7 high / vysoká

Pribina, určená pre potravinárske využitie semena, je stredne skorá odroda, vysokého vzhľadu, so zelenou stonkou, svetlo žltými až zelenými pruhmi, bez antokyánového sfarbenia bázy, na priečnom priereze mierne zvlnená. List je stredne zelený, bez škvŕny. Súkvetie je vzpriamené až slabo zakrivené, tzv. amarantového typu, s determinantným rastom, zelenej a fialovej farby, so strednou celistvosťou. Pribina sa s podobnou, už registrovanou odrodou, líši



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

v siedmych znakov, pričom pre uznanie novej odrody láskavca je nutné pozorovať odlišnosť minimálne v dvoch znakov.

Odroda bola vyšľachtená Ústavom genetiky a biotechnológií rastlín SAV Nitra, v spolupráci s Katedrou ekológie, Fakulty humanitných a prírodných vied, Prešovskej univerzity v Prešove, kde sa paralelne uskutočňovali poľné pokusy, morfológické hodnotenie rastlín a selekcia línií na sledovaný znak.

V súčasnosti je v ŠOS ďalšia línia hybridného druhu láskavca. Výskumná činnosť je aktuálne zameraná na hodnotenie morfológických znakov línie na určenie odlišnosti, uniformity a stability prihlásenej línie (tzv. DUS testy – Distinctness, Uniformity and Stability). Evaluácia morfológie a vybraných znakov podľa technického dotazníka UPOV je nutná pre následné uznanie novej odrody.

Výstupmi výskumu sú aj publikácie v relevantných vedeckých časopisoch a prezentácie dosiahnutých výsledkov na vedeckých konferenciách doma a v zahraničí:

Merateľné ukazovatele výsledkov:

ŽIAROVSKÁ, Jana - ZÁHORSKÝ, Michal - GÁLOVÁ, Zdenka - HRICOVÁ, Andrea. Bioinformatic approach in the identification of *Arabidopsis* gene homologs in *Amaranthus*. (Potravinarstvo, 2015, vol. 15, no. 1, doi:10.5219/XXX, zadané do tlače)

HRICOVÁ, Andrea - GAJDOŠOVÁ, Alena - LIBIAKOVÁ, Gabriela - FEJÉR, Jozef. Development of New Amaranth Variety through Mutagenesis. In Plant Biology Europe FESP/EPSCO 2014 Congress, 22-26 June, 2014. Dublin, FESP/EPSCO, 2014, p. 283.

KLUBICOVÁ, Katarína - SZABÓOVÁ, Monika - ŠKULTÉTY, Ľudovít - LIBIAKOVÁ, Gabriela - HRICOVÁ, Andrea. Characterization of amaranth (*Amaranthus cruentus*) seed proteome. In Plant Gene Discovery & "Omics" Technologies: Vienna International science conferences and events association, 17-18 February 2014. Vienna, 2014, p.45.

ZÁHORSKÝ, Michal - ŽIAROVSKÁ, Jana - HRICOVÁ, Andrea. Štúdium mutagenézou indukovaných genotypov láskavca s dôrazom na vybrané gény súvisiace s hmotnosťou a veľkosťou semena. In Zborník abstraktov z 21. medzinárodnej vedeckej konferencie: Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín. Téma konferencie: "Zdravé a kvalitné primárne zdroje pre rastlinnú a živočíšnu výrobu". Piešťany, Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, 2014, s.44. ISBN 978-80-89417-56-8.

HRICOVÁ, Andrea - GAJDOŠOVÁ, Alena - LIBIAKOVÁ, Gabriela - FEJÉR, Jozef. The use of modern biotechnologies in the ancient amaranth (*Amaranthus cruentus* L.). In 5th Global Summit on Medicinal and Aromatic Plants (GOSMAP-5), December 8-12, 2013, Miri, Malaysia, p. 0119.

GAJDOŠOVÁ, Alena - FEJÉR, Jozef - LIBIAKOVÁ, Gabriela - KEČKEŠOVÁ, Monika - GAŽO, Ján - HRICOVÁ, Andrea. Evaluation of nutritional quality of amaranth mutant lines (*Amaranthus cruentus* L.). In Non-traditional, New and Forgotten Plant Species: Scientific



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

and Practical Aspects of Cultivation, 10-12 September, Kyiv, p. 377-379. ISBN 978-966-2615-57-9.

7. Zoznam použitej literatúry

1. AHLOOWALIA, B.S. – MALUSZYNSKI, M. (2001). Induced mutations – A new paradigm in plant breeding. In *Euphytica*, vol. 118, p. 167-173.
2. AL-AMIN, A.Q. – SIWAR, C. (2008). *Proceedings of the 9th international Business Research Conference, Melbourne, Australia, 24 – 26 November, 2008*.
3. IAEA (2011). Joint FAO/IAEA Programme of Nuclear Techniques in Food and Agriculture and FAO/IAEA Agriculture and Biotechnology Laboratory, Seibersdorf. In *Plant Breeding and Genetics Newsletter*, no. 27, p. 1-35, ISSN 1564-2569.
4. BRUNNER, H. (1991). *Advances in Plant Breeding*, vol. 1, CBS, New Dehli, India, p. 137-162.
5. ANONYMOUS (1995). Bureau of Economic and Agricultural Statistics, Bangkok, 1995.
6. BRUNNER, H. – KEPPL, H. (1991). Radiation induced apple mutants of improved commercial value. In *Proc Plant Mutation Breed for Crop Improvement*. vol. 1. Intern. Symp, IAEA and Food Agric Org of the UN, IAEA SM-311, Vienna, p. 547-552.
7. SANADA, T. – KOTOBUKI, K. – NISHIDA, T. – FUJITA, H. – IKEDA, F. (1993). A new Japanese cultivar ‘Golden Nijisseike’, resistant mutant to black spot disease of Japanese pear. In *Japan J Breed*, vol. 43, p. 455-461.
8. HENSZ, R.A. (1991). Mutation breeding of grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.). In *Proc Plant Mutation Breed for Crop Improvement*. vol. 1, Internl Symp. IAEA and Food Agric Org of the UN, IAEA SM-311, Vienna, p. 533–536.
9. GAJDOŠOVÁ, A. – LIBIAKOVÁ, G. - FEJER, J. (2007). Improvement of selected *Amaranthus* cultivars by means of mutation induction and biotechnological approaches. In *Breeding of neglected and under-utilized crops, species and herbs*, p. 151-169. ISBN 978-1-57808-509-5.
10. BRENNER, D.M. – BALTENSBERGER, D.D. – KULAKOW, P.A. – LEHMANN, J.W. – MYERS, R.L. – SLABBERT, M.M. – SLEUGH, B.B. (2000). Genetic Resources and Breeding of *Amaranthus*. In *Plant Breeding Reviews*, vol. 19, p. 227-285. ISBN 0-471-38787-8.
11. VENSKUTONIS, P.R. – KRAUJALIS, P. (2013). Nutritional Components of Amaranth Seeds and Vegetables: A Review on Composition, Properties, and Uses. In *Food Science and Food Safety*, vol. 12, pp. 381-412.



Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku/Projekt spolufinancovaný zo zdrojov ES
Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“

_____ *podpis* _____

Ing. Andrea Hricová, PhD.

_____ *podpis* _____

RNDr. Alena Gajdošová, CSc.

_____ *podpis* _____

RNDr. Gabriela Libiaková, CSc.

_____ *podpis* _____

Ing. Michal Záhorský

Príloha č. 4: Rozhodnutie o registrácii odrody Pribina

Práca bola riešená v rámci projektu Európskeho spoločenstva: Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“, projekt číslo 26220220180.