

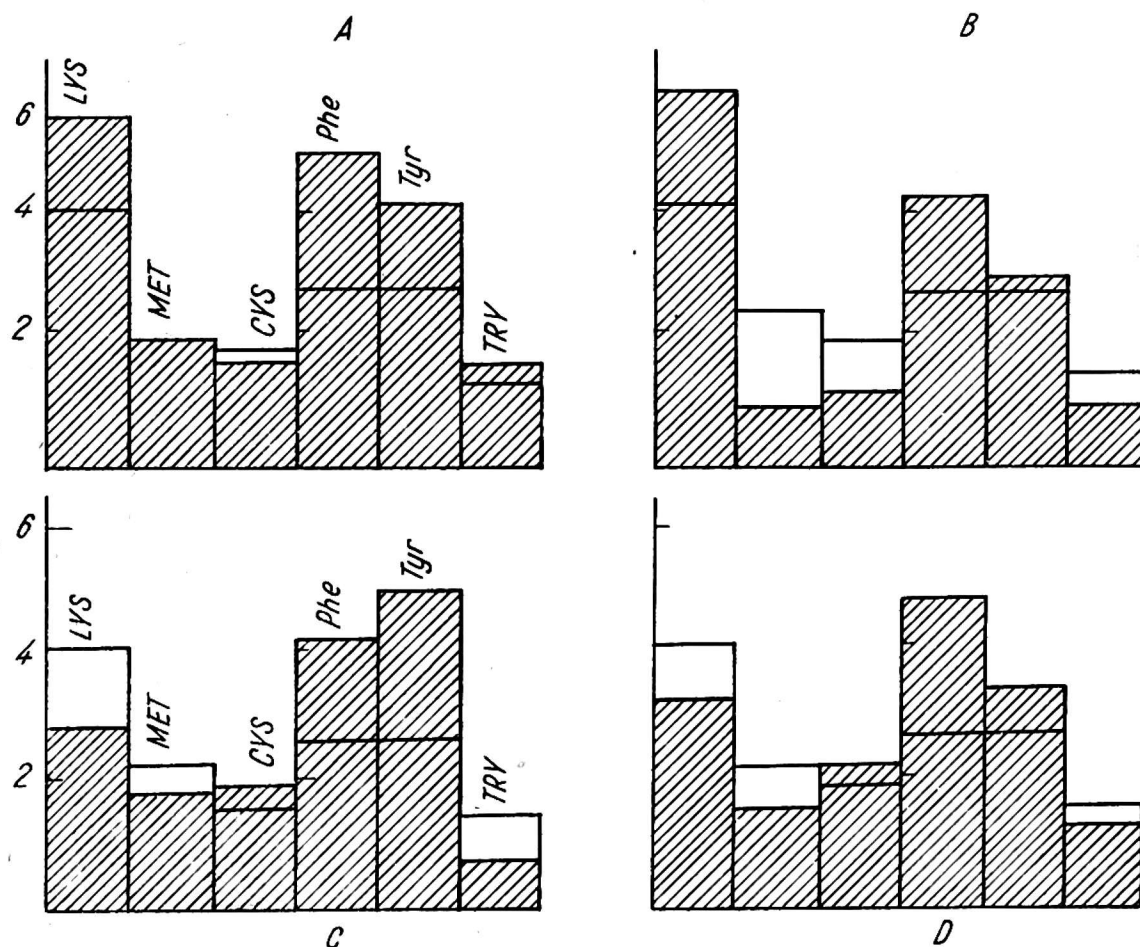
BADANIE BIAŁEK I MOŻLIWOŚĆ ZASTOSOWANIA WYNIKÓW TYCH BADAŃ W HODOWLI ZIEMNIAKA O ZWIĘKSZONEJ ZAWARTOŚCI BIAŁKA

Edmund Nowacki, Anna Rudnicka

Zakład Biochemii i Fizjologii Żywienia Roślin, IUNG w Puławach

WSTĘP

Ziemniak jest rośliną o małej zawartości białka. Białko bulwy jest białkiem tkanki wegetatywnej i jako takie ma większą wartość odżywczą aniżeli białko zapasowe nasion roślin motylkowych czy ziarna zbóż (rys. 1).



Rys. 1. Zawartość sześciu egzogennych aminokwasów w białku proszku acetonowego z ziemniaków (A) i w białkach nasion bobiku (B) kukurydzy (C) i jęczmienia (D) w % białka surowego (100 g białka = 16 g N). Linia pogrubiona — norma według standardu FAO

Fig. 1. Content of six essential aminoacids in *Solanum tuberosum* (A), *Vicia faba* (B), *Zea mays* (C), *Hordeum vulgare* (D) (in percentage of crude proteins, 100 g protein — 16 g N). A thick line — standard FAO

Gdyby można było wyprodukować ziemniaki o większej zawartości białka przy utrzymanym lub wyższym plonie suchej masy, efekt ekonomiczny w skali kraju byłby olbrzymi. Jest to zadanie nowe. Dotychczas nie prowadzono hodowli ziemniaka, w której zasadniczym celem byłby plon białka. Duża zawartość białka w pewnych typach użytkowych była nawet niepożądana. Aby zrealizować zamierzone zadanie należało:

- 1) określić zmienność zawartości związków azotowych, spowodowaną przez środowisko (agrotechnika, nawożenie, wiek bulw itp),
- 2) określić genetyczną zmienność zawartości białka w bulwach,
- 3) opracować szybką i niezawodną metodę analizy,
- 4) znaleźć metody skutecznego doboru.

Wymienione zagadnienia były rozwiązywane w latach 1971-74.

MATERIAŁ, METODY

1. Określenie zmienności środowiskowej. Materiał roślinny pochodził z Instytutu Ziemniaka w Boninie; do analiz wzięto bulwy ziemniaków uprawianych na różnym poziomie nawożenia azotowego. Część doświadczeń wykonano w ZD IUNG Sadłowiec oraz w wazonach, w hali wegetacyjnej IUNG w Puławach. Dojrzałe bulwy tarto na miazgę, suszono w 60°C i analizowano zawartość azotu ogólnego oraz frakcje związków azotowych.

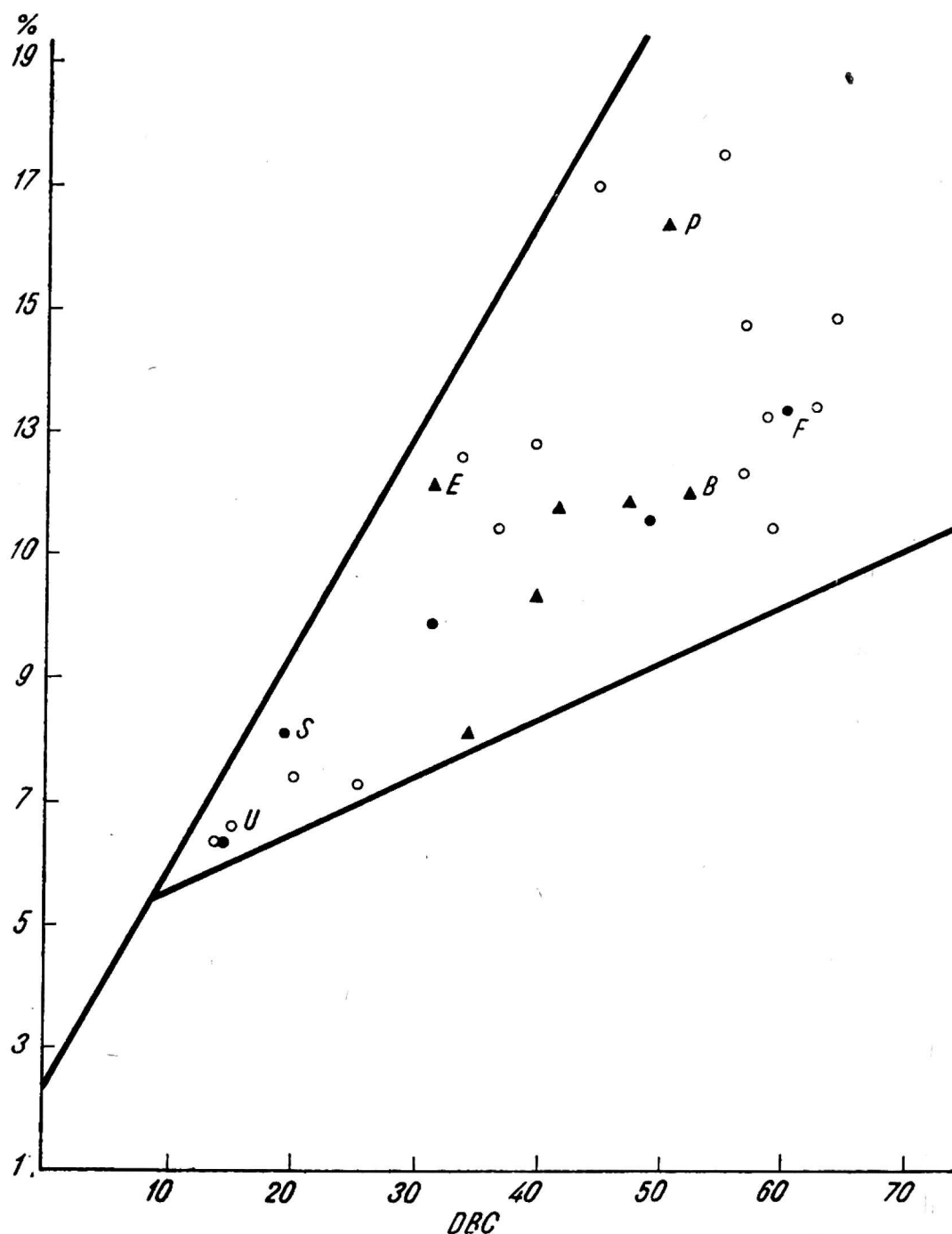
We wszystkich doświadczeniach wykazano, że zwiększenie nawożenia azotem zwiększa zawartość azotu ogólnego w bulwach, ale dawka azotu powodująca jeszcze zwiększenie zawartości związków azotowych jest zależna od odmiany. Analiza frakcji substancji azotowych wykazała, że zawartość białka zwiększa się wolniej od zawartości azotu.

2. Określenie zmienności genetycznej. Bulwy pochodziły z Instytutu Ziemniaka w Boninie. Były to odmiany bądź klony powstałe z krzyżówek. Zawartość azotu określano zmodyfikowaną metodą Kjeldahla. Zawartość białka oznaczono w proszkach acetonowych metodą kolorymetryczną.

Wykazano bardzo dużą zmienność zawartości białka w suchej masie w populacjach (rys. 2). Zawartość białka była jednak silnie ujemnie skorelowana z wysokością plonu suchej masy bulw [10]. Wśród przeanalizowanych klonów nie znaleziono ani jednego, który miałby zawartość ponad 12% białka w suchej masie i przy tym opłacalny plon bulw. Otrzymany rezultat nie był zachęcający. W wyniku tej serii badań nasunął się jedyny wniosek, aby hodowlę prowadzić przede wszystkim w kierunku maksymalnego plonu suchej masy, a zawartość białka uważać za cechę wprawdzie pożądaną, ale drugorzędną.

3. Opracowanie szybkiej metody analizy. Ze względu na duże fluktuacje zawartości azotu, spowodowane warunkami siedliskowymi, stosowana powszechnie w selekcji roślin metoda Kjeldahla nie jest odpowiednia. Susz ziemniaczany jest substancją nastęrczającą w tej metodzie dodatkowe kłopoty. Przez trzy lata po-

równywano wyniki analiz tego samego materiału, wykonanych w dwóch lub trzech pracowniach. Rozbieżność była większa niż przy analizach ziarn zbóż czy roślin motylkowych. W hodowli zbóż w wielu ośrodkach zrezygnowano z metody Kjeldahla na rzecz metod kolorymetrycznych, na zasadzie wiązania barwnika przez wolne grupy aminowe białek (E aminowa grupa lizyny, karbonylowa grupa argininy i zasadowa grupa histydyny) (11). Metoda ta, znana pod skrótem DBC, jest stosowana powszechnie. Surowy ziemniak nie nadaje się jednak do tego celu. Zawarta w nim woda rozcieńcza bowiem barwnik, dając pozorny efekt jego pobrania. Susz z ziemniaków natomiast barwi produkt na kolor zbliżony do koloru barwnika,



Rys. 2. Procentowa zawartość białka ($N \times 6,25$) oznaczona w suchej masie (susz) i w proszku acetonowym w trzech różnych populacjach powstałych z krzyżówek międzyodmianowych

Fig. 2. Protein content ($N \times 6,25$) in dry matter and in acetone powder in three populations derived from hybridisation

dając pozorny efekt mniejszej zawartości białka. Jedynym wyjściem z sytuacji było zastosowanie proszków acetonowych z ziemniaków. Proszki acetonowe dają powtarzalny wynik przy analizie określonego klonu, nawet uprawianego w dość różnych warunkach.

Po otrzymaniu aparatu „prometer” opracowano skalę dla ziemniaka używając kazeiny mleka krowiego jako standardu. Wyniki odczytywane z tej skali są nieco niższe, ale powtarzalne (tab. 1).

Tabela 1

Liczba osobników w populacjach o określonej zawartości białka
Number of plants in populations of a definite protein content

Populacja Population	Zawartość białka w proszkach acetonowych w % Protein content in acetone powders in %						
	do 4% below	4-5	5-6	6-7	7-8	8-9	9% i więcej and more
× PB 2039 PB 2013	1	12	9	8	6	4	2
PB 2039 PB 2013				x			
× PB 2002 Flora	4	4	11	5	9	8	1
Flora PB 2002		x				x	
× Flora (2) Bałtyk (47)	2	6	2	2	1	1	2
× Flora 34 Bałtyk	1	5	6	1	1	—	—

Trwają prace nad dobraniem odpowiedniego barwnika acylenowego i nad opracowaniem nowej skali.

4. Dobór partnerów. Warunkiem sukcesu w hodowli ziemniaka o zwiększonej zawartości białka jest znalezienie partnerów do krzyżówek dających potomstwo wyróżniające się wysokim plonem i dużą zawartością suchej masy, wśród których byłyby genotypy z większą zawartością białka w suchej masie. Dotychczasowe krzyżówki, a tym bardziej samozapylenia, dawały tylko nikły procent roślin o wysokim plonie suchej masy. Pula, w której poszukiwano roślin o zawartości białka, była więc zbyt mała, aby można było trafić na kombinacje pożądane.

W hodowli zbóż, a w szczególności owsa i kukurydzy, zastosowano metody analizy elektroforetycznej białek, a w szczególności izoenzymów, w celu doboru partnerów do krzyżówek [3]. Czysto fizykochemiczne metody jednak tylko w nikłym procencie zwiększały szanse sukcesu. Natomiast zastosowanie metody immuno-

elektroforetycznej dało lepsze rezultaty [2]. Wykazano bowiem, że formy różniące się immunologicznie, skrzyżowane ze sobą, dają często efekt heterozji. Wyniki podwójnej immunodyszfuzji, według Ouchterlony wykazały, że w obrębie populacji pewne osobniki cechuje szersze spektrum specyficznych białek w porównaniu z surowicą homologiczną.

Dalsze badania z zastosowaniem immunoelektroforezy i sprawdzenie materiału roślinnego w badaniach polowych umożliwią być może, wyodrębnienie dodatkowych frakcji białkowych u heterozyjnych mieszańców. Znając spektra białek rodziców, będzie można prognozować zjawisko heterozji potomstwa. Badania takie z pozytywnymi rezultatami przeprowadzono na kukurydzy [2 i 5].

Przyjmując te znane fakty za założenie robocze, przeanalizowano wiele rodów, stosując surowicę wytworzoną przeciw białkom bezwirusowych bulw odmiany Sokół. Obecnie trwają próby otrzymania dodatkowych surowic.

Po wstępnym przeanalizowaniu dość licznej grupy klonów wykazano, że istnieje duże zróżnicowanie reakcji immunologicznej poszczególnych klonów z surowicą anty Sokół (tab. 2).

Tabela 2

Liczba osobników o określonej liczbie białek wspólnych z testową odmianą

Number of plants in population of a definite number of proteins comon with standard variety

	Populacja Population	Liczba białek — Number of plants				
		0	1	2	3	4
×	PB 2039 PB 2013	0	17	11	3	1
	PB 2039 PB 2013			x		
×	Flora PB 2003	10	8	15	8	0
	Flora PB 2003				3	x
×	Flora 2 Bałtyk 47		10	6		
×	Flora 34 Bałtyk 21		6	5	2	

LITERATURA

1. Adamus y., Boratyński K., Kozłowska H.: Wyniki doświadczeń polowych z wysokimi dawkami azotu, fosforu i potasu przeprowadzonych w Państwowych Technikach rolniczych. Pam. puł. z. 41, 5, 1970.

2. Anioł A., Nowacki E.: Serological relationships in the genus *Hordeum*. *Genetica Polonica* 14, no 3, z. 55, 1973.
3. Bhatia C. R.: Electrophoresis of analogous enzymes in *Triticineae*. *Proc. 3rd Int. Wheat Genet. Symp. Canberra, Austr. Acad. Sci.* 111-115, 1968.
4. Dymitrov P., Petkova S.: Immuno-electrophoretic studies of heterosis effect in *Zea mays*. *Theoret. Appl. Genetics* 42, 306, 1972.
5. Dymitrov P., Nashkova O.: Immunochemical prognosis of heterosis in *Zea mays*. *Theoret. Appl. Genetics* 45, 91, 1974.
6. Hawkes J. G., Tucker W. G.: Serological assesment of relationships in a flowering plant family (*Solanaceae*). w J. G. Hawkes "Chemotaxonomy and Serotaxonomy", Academic Press, London and New York, 77-88, 1968.
7. Klupczyński Z., Łoginow W.: Badania nad intensywnym nawożeniem mineralnym ziemniaków. Cz. I. *Pam. puł. z.* 35, 151, 1968.
8. Lester R. N.: Interpretation of the spectra of double diffusion and immuno-electrophoresis for systematic purposes., w Z. Landa "Mechanism of mutation and inducing factors", Academia, Praga, 471-476, 1966.
9. Łoginow W., Klupczyński Z.: Badania nad intensywnym nawożeniem mineralnym ziemniaków, cz. II i III, *Pam. puł. z.* 37, 113, 1969.
10. Łoginow W., Gulewicz K., Klupczyński Z.: Analiza frakcji białek i perspektywy jej stosowania w ocenie jakościowej ziarna zbóż. *Pam. puł. z.* 50, 117, 1971.
11. Nowacki E., Anioł A., Prus-Głowacki W.: Metody oznaczania białek właściwych w materiale roślinnym. *Zesz. probl. Post. Nauk rol.* 132, 101, 1972.
12. Świeżyński K., Archaniolowicz: *Ziemniak*, 31, 1973.

Э. Новацки, А. Рудницка

ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЛКОВ И ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИТОГОВ В РАЗВЕДЕНИЮ КАРТОФЕЛЯ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ПРОТЕИНА

Резюме

Представили несколько аспектов селекции картофеля с повышенным содержанием протеина. Предлагается вести селекцию картофеля базируя на определении протеина в клубнях, так как содержание белка связано с генотипом. Особенно пригодным оказался скорый метод определения содержания протеина. Большое значение имеет отбор соответствующих компонентов скрещиваний. Провели испытания применения серологических методов к прогнозированию эффекта гетерозии.

E. Nowacki, A. Rudnicka

STUDY ON PROTEINS AND ITS USE FOR BREEDING POTATOES WITH HIGHER PROTEIN CONTENT

Summary

The paper describes some problems of breeding potatoes with higher protein content. To achieve this goal it is necessary to determine the protein content in different potato genotypes. A rapid method for protein determination should be especially useful. Another aspect of this research is the selection of suitable partners for the production of hybrids showing heterosis effect. Serological analysis of genotypes used in the breeding programme was performed to predict heterosis.

DYSKUSJA

Powyżej przedstawiono cztery zagadnienia, jakie wyłoniły się w badaniach nad zawartością białka w ziemniaku.

Pierwszą podstawową trudnością jest rozróżnienie wpływu genotypu i środowiska na zawartość białka. Drugą — ujemna korelacja między plonem suchej masy i zawartością białka w suchej masie. Trzecią jest brak odpowiednich metod, umożliwiających selekcję genotypów bogatych w białko. Metoda DBC stosowana dla proszków acetonowych może częściowo rozwiązać tą trudność. Wreszcie ostatnie zagadnienie — to dobór partnerów do krzyżówek.

W historii hodowli roślin istnieje kilkanaście przykładów, w których przez krzyżowanie nie najlepszych odmian otrzymano w wyniku wieloletniej selekcji i chowu wsobnego dobre, nowe kreacje hodowlane. Specyfika hodowli ziemniaka w dużej mierze tę drogę wyklucza.

Zaproponowana przez nas metoda serologiczna umożliwia dobór partnerów do krzyżówek różniących się biochemicznie, lecz podobnych morfologicznie. W ten sposób szansa otrzymania dobrego potomstwa może być większa.