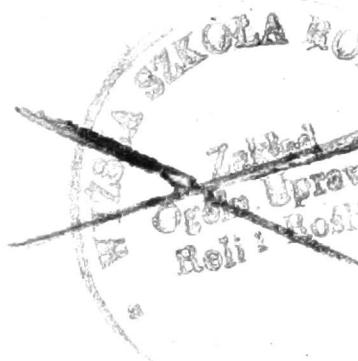


JAN MIKOŁAJCZYK
Zakład Roślin Pastewnych IUNG
Kierownik: prof. dr S. Barbacki



GENETYCZNE PODSTAWY HODOWLI I NASIENNICTWA ŁUBINÓW PASTEWNYCH

I

Jakkolwiek hodowla roślin, jako oddzielna gałąź wiedzy rolniczej, jest historycznie biorąc znacznie starsza od genetyki i potrafiła osiągnąć szereg wspaniałych rezultatów przed powstaniem tej ostatniej, to jednak nie ulega wątpliwości, że dalszy jej rozwój ściśle jest uzależniony od postępów badań genetycznych. Poznanie sposobu dziedziczenia szeregu właściwości morfologicznych i fizjologicznych roślin, istotnych z punktu widzenia ich użytkowości, przyspiesza, ułatwia, lub wręcz warunkuje dalsze wszechstronne ich ulepszanie. Jednym z przykładów zastosowania genetyki do hodowli roślin jest hodowla łubinów pastewnych.

Łubin stał się rośliną uprawną w warunkach Europy Środkowej stosunkowo niedawno. Jako pierwsi wprowadzili go do uprawy Niemcy. W Niemczech również wyhodowano pierwsze niskoalkaloidowe formy pastewne w ramach łubinu żółtego, wąskolistnego i białego.

Początek formom pastewnym łubinu żółtego dały 3 rośliny wyodrębnione z populacji gorzkich przez Sengbuscha i współpracowników. Dla uzyskania 3 roślin niskoalkaloidowych musiał on przebadать kilkaset tysięcy osobników. Nie byłoby to możliwe, gdyby nie dysponował szybką, taną i niezawodną metodą wykrywania roślin niegorzkich. Metoda ta została niezależnie od niego opracowana i opublikowana w kilka lat później przez Iwanowa. Fakt, że wszystkie rośliny niegorzkie przekazały tę właściwość potomstwu pozwalał przypuszczać, że warunkują ją geny recesywne. Wykonane w kilka lat później przez Hackbartha krzyżówki między rodami niegorzkimi a gorzkimi potwierdziły to przypuszczenie oraz dowiodły, że rośliny niegorzkie są homozygotami w stosunku do jednego recesywnego czynnika. F_1 było bowiem gorzkie, a w F_2 otrzymano rozszczepienie na rośliny gorzkie i niegorzkie w stosunku 3 : 1. Dalszym krokiem naprzód było stwierdzenie, że poszczególne rody, wyprowadzone z trzech pierwszych wyodrębnionych roślin niskoalkaloidowych, mają różne genotypy, gdyż krzyżówki między nimi dawały w efekcie w F_1 ro-

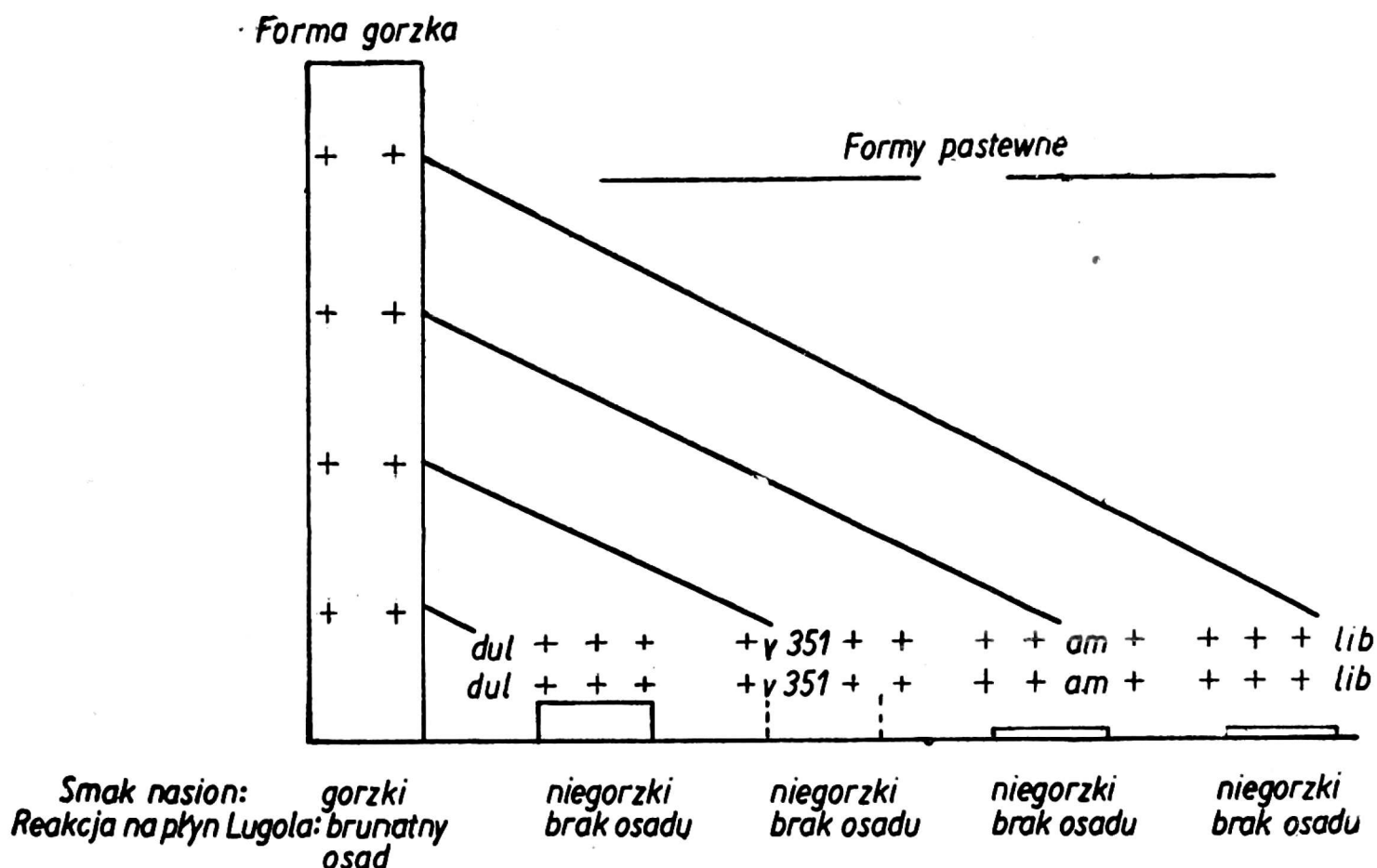
śliny gorzkie, a w F_2 następowało rozszczepienie na rośliny gorzkie i niegorzkie w stosunku 9 : 7.

Nie będę w tym miejscu zatrzymywał się dłużej nad istotą tego typu rozszczepień, charakterystycznych dla przypadków, gdy cecha panująca, w tym wypadku duża zawartość alkaloidów, uwarunkowana jest równoczesnym wystąpieniem w genomie dwóch różnych współdziałających ze sobą alleli dominujących. Przykład tego typu rozszczepień jest podany w dalszej części niniejszego artykułu przy omawianiu dziedziczenia alkaloidów w łubinie białym. Warto tutaj dodać, że testując różne rody niskoalkaloidowe, a więc w odniesieniu do tej cechy fenotypowo identyczne, stwierdzono istnienie czterech genów recesywnych warunkujących niską zawartość alkaloidów: *dulcis* (dul) *amoenus* (am), *liber* (lib) i *v₃₅₁*. Ten ostatni został opisany przez Lambertsę w Wageningen.

Istnienie czterech genów recesywnych, warunkujących niską zawartość alkaloidów, z których każdy posiada inny locus, dowodzi (jeżeli odwrócimy zagadnienie), że formy gorzkie muszą posiadać w swoim genomie ich allele dominujące. Można zatem stwierdzić, że zdolność do nagromadzenia normalnej zawartości alkaloidów uwarunkowana jest w łubinie żółtym obecnością przynajmniej czterech genów dominujących. Mówimy o czterech, gdyż tyle alleli recesywnych stwierdzono dotychczas, co nie wyklucza możliwości istnienia dalszych, dotąd nie opisanych. Brak ich przerywa proces nagromadzania się alkaloidów, których roślina posiada znacznie mniej i jest niegorzka. Rozumowanie powyższe ilustruje nam rys. 1.

Dziedziczenie alkaloidów u łubinu wąskolistnego przebiega podobnie jak u łubinu żółtego. Dotychczas opisano tu 3 geny recesywne, warunkujące niską zawartość alkaloidów. Dwa z nich: *iucundus* (ius) i *esculentus* (es) warunkują niską zawartość alkaloidów w rodach wyprowadzonych z niskoalkaloidowych roślin, wyodrębnionych przez Sengbuscha, trzeci natomiast — *depressus* (dep) znajduje się w genotypie form pastewnych, wywodzących się z rośliny niegorzkiej, którą wynalazł Fedotow.

Ciekawą formę z punktu widzenia fizjologii działania genów opisał Troll. Stwierdził on mianowicie, że rody, posiadające w swoim genomie recesywny czynnik *esculentus*, warunkujący niską zawartość alkaloidów w pierwszym okresie wegetacji zachowują się normalnie jak niegorzkie, natomiast w okresie kwitnienia i wykształcania nasion zaczynają „gorzknieć” i w rezultacie nasiona ich zawierają kilkakrotnie więcej alkaloidów od rodów normalnych. Hackbarth przypuszcza, że chodzi tu o przykład istnienia genu-modyfikatora, który w określonym momencie rozwoju niweluje efekt działania czynnika *esculentus*.



Rys. 1. Schemat działania 4 recesywnych genów warunkujących niską zawartość alkaloidów w formach pastewnych łubinu żółtego

Później stosunkowo rozpoczęto badania nad dziedziczeniem się alkaloidów u łubinu białego. Troll, w oparciu o wyniki badań F_1 mieszańców uzyskanych ze skrzyżowania różnych odmian i rodów wyprowadzonych przez niemieckich hodowców, opisał trzy geny recesywne, z których każdy powoduje obniżenie zawartości alkaloidów: *mitis* (mit), *pauper* (pau), *nutricius* (nut). Hackbarth (5) przypuszcza, że loci niskiej zawartości alkaloidów w łubinie białym są labilne. Nie potwierdzają tego przypuszczenia badania polskie, które zostaną owówione w dalszej części artykułu.

II

Jakkolwiek już przed wojną podjęto w Polsce udane próby wyhodowania, w oparciu o materiały krajowe, odmian pastewnych łubinów (Jagmin, Barbacki, Łastowski, Dzikowski i inni), to jednak badania nad dziedziczeniem alkaloidów zapoczątkowane zostały dopiero po wojnie. Obecnie prowadzi się je w Zakładzie Hodowli Roślin PAN w Poznaniu, w Zakładzie Genetyki i Hodowli Roślin WSR w Poznaniu, oraz w Zakładzie Doświadczalnym IUNG w Przebudowie. Wyczerpujące omówienie dotychczas uzyskanych wyników oraz tematyki zagadnień aktualnie rozwiązywanych nie jest możliwe w niniejszym artykule. Ograniczymy się tutaj do omówienia wycinka prac, mających bezpośredni związek z praktyczną hodowlą i nasiennictwem łubinu.

Jedną ze spraw szczególnie pilnych było przebadanie genotypów polskich odmian pastewnych łubinu żółtego, który jest gatunkiem w dużym stopniu obcopylnym i w chwili obecnej uprawiany jest na największym areale. Punktem wyjścia była odmiana Poznański Pastewny, uzyskana drogą selekcji z niemieckiej odmiany Weiko II, która według Hackbartha jest homozygotą w odniesieniu do genu *dulcis*. Bezpośrednie lub pośrednie krzyżówki z nią wykazały, że wszystkie polskie odmiany zgłoszone do rejestru, oraz szereg rodów przebédowskich, którymi dysponowaliśmy w momencie wykonywania krzyżówek, posiadają w swoim genomie również gen *dulcis*, gdyż F_1 po skrzyżowaniu tych odmian między sobą było niegorzkie. Szczegółowe wyniki krzyżówek testowych przedstawia tabela 1.

Tabela 1

Wyniki badań zawartości alkaloidów w F_1 mieszańców łubinów żółtych

K r z y ż ó w k a	F_1
Poznański Pastewny × Bielański Pastewny	niegorzkie
Poznański Pastewny × Popularny	niegorzkie
Poznański Pastewny × Ekspres	niegorzkie
Poznański Pastewny × Cytrynowy	niegorzkie
Ekspres × Słodziak	niegorzkie
Ekspres × Cytrynowy	niegorzkie
Cytrynowy × Słodziak	niegorzkie
Cytrynowy × Bielański Pastewny	niegorzkie

W roku 1958 przystąpiono również do badania genotypów łubinów wąskolistnych. Po wojnie ustalono w Przebédowie 13 form pastewnych uzyskanych z różnych krzyżówek, w których uczestniczyły, obok populacji miejscowych gorzkich, odmiany pastewne wyhodowane przez Barbackiego: Szarak i Obornicki, oraz odmiany pastewne wyhodowane przez Łastowskiego: Murzyn i Murzynek. Krzyżówki wykonane między przedstawicielami obu grup dały w efekcie F_1 gorzkie, co dowodzi, że w obu wypadkach niską zawartość alkaloidów warunkują geny posiadające różny *locus* w genomie. W roku bieżącym wykonano szereg krzyżówek między formami polskimi a przysłanymi nam uprzejmie przez Trolla z Münchebergu formami pastewnymi hodowli niemieckiej o zidentyfikowanych genach niskiej zawartości alkaloidów. W latach najbliższych będzie można stwierdzić, czy i który z dwóch genów stwierdzonych w odmianach polskich posiada *locus* identyczny z dotychczas opisanymi genami *iucundus*, *esculentus* i *depressus*. Do tego czasu oznaczamy je jako a_1 (Obornicki, Szarak) i a_2 (Murzyn i Murzynek).

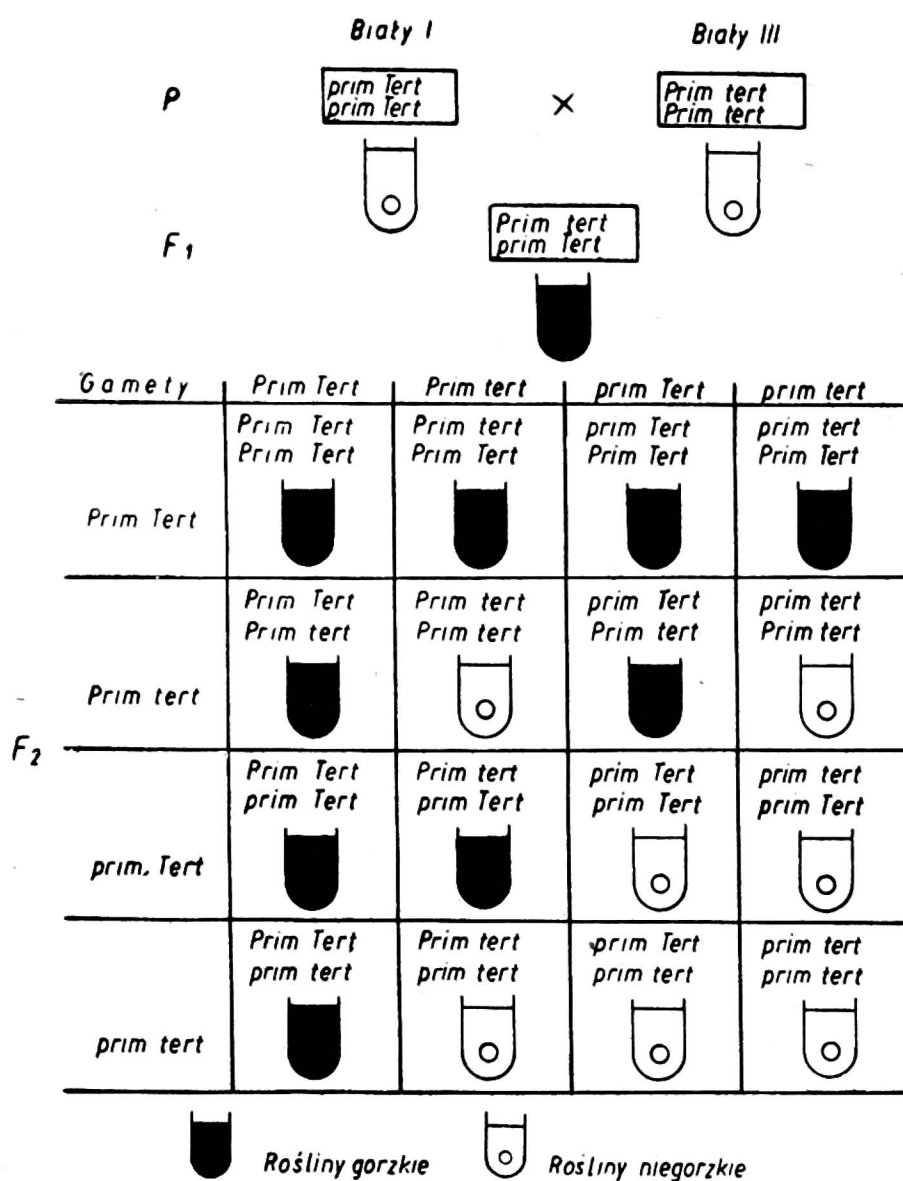
Badania nad dziedziczeniem się zawartości alkaloidów w polskich materiałach łubinów białych, które rozpoczęto w 1953 r., pozwoliły również stwierdzić istnienie w nich dwóch genów recesywnych, warunkujących niską zawartość alkaloidów. Krzyżując dwie odmiany pastewne łubinu białego wyhodowane przez Barbackiego i współpracowników w Przebądowie: Biały I i Biały Przebądowski Wczesny (Biały III), otrzymano w F_1 rośliny gorzkie, w F_2 natomiast nastąpiło rozszczepienie na rośliny gorzkie i niegorzkie w stosunku 9 : 7 (tabela 2).

Tabela 2

Stosunek roślin gorzkich do niskoalkaloidowych w F_1 i F_2 mieszańców łubinu białego

Krzyżówka	Pokole- nie	Ilość zba- danych ro- ślin	Ilość roślin		Typ roz- szczepień
			gorzkich	niegorzkich	
Biały I × Biały III	F_1	252	252	—	—
„	F_2	193	107	86	9 : 7
Biały I × Biały V	F_1	36	36	—	—
„	F_2	496	284	212	9 : 7

W oparciu o powyższe dane można było ustalić wzory genetyczne odmian rodzicielskich, pierwszego pokolenia mieszańców oraz wykreślić schemat łączenia się gamet w F_2 (rys. 2). Ponieważ stosunek rozszczepień 9 : 7 jest typowy dla tych przypadków, gdy cecha panująca uwarunkowana jest równoczesnym wystąpieniem w genomie rośliny dwóch współdziałających ze sobą genów dominujących, należało przyjąć, że każda z form rodzicielskich jest homozygotą recesywną w stosunku do jednego z nich. Gen recesywny Białego I oznaczono jako *primus* (prim), a Białego III jako *tertius* (tert). F_1 było gorzkie, gdyż posiadało obydwa geny dominujące Tert i Prim. W F_2 , na każde 9 roślin gorzkich, a więc fenotypowo identycznych, tylko jedna roślina jest homozygotą w stosunku do obydwu czynników dominujących i jako taka daje wyłącznie potomstwo gorzkie, podczas gdy 8 pozostałych roślin gorzkich jest heterozygotami. 4 z nich posiadają wzory identyczne jak F_1 i rozszczepiają się w latach następnych w identycznym stosunku 9 : 7, a 4 pozostałe są heterozygotami w stosunku do jednego genu dominującego i posiadają wzory: $\frac{\text{Prim tert}}{\text{Prim Tert}}$ lub $\frac{\text{prim Tert}}{\text{Prim Tert}}$. Wśród potomstwa ich wystąpi rozszczepienie na rośliny gorzkie i niegorzkie w stosunku 3 : 1. 7 pozostałych osobników F_2 to rośliny niegorzkie. Wśród tych ostatnich znajdują się 3 typy homozygot. Dwie posiadają genotypy identyczne jak formy rodzicielskie: $\frac{\text{Prim tert}}{\text{Prim tert}}$ i $\frac{\text{prim Tert}}{\text{prim Tert}}$, trzecia natomiast jest homozygotą w stosunku do



Rys. 2. Schemat dziedziczenia zawartości alkaloidów w krzyżówce dwóch form niegorzkich łubinu białego

obydwu genów recesywnych i posiada wzór $\frac{\text{prim tert}}{\text{prim tert}}$. Podwójna homozygota recesywna, badana klasycznymi metodami jakościowymi, nie różni się fenotypowo zarówno od homozygot w stosunku do jednego recesywnego czynnika, jak i od czterech pozostałych roślin niegorzkich, które są heterozygotami zawierającymi w swoim genomie po jednym czynnikiem dominującym Prim lub Tert. Jako heterozygoty dadzą w potomstwie osobniki o różnych genotypach: $\left(\begin{array}{cccccc} \text{Prim tert} & \text{prim Tert} & \text{Prim tert} & \text{prim Tert} & \text{prim tert} & \\ \text{Prim tert} & \text{prim Tert} & \text{prim tert} & \text{prim tert} & \text{prim tert} & \end{array} \right)$ lecz fenotypowo będą one wyrównane — niegorzkie.

Obiecującą z punktu widzenia hodowli i nasiennictwa jest podwójna homozygota recesywna. Odmiana o takim składzie genetycznym miałaby tę wyższość nad odmianami rodzicielskimi, że nie zagoryczałaby się po skrzyżowaniu z jakąkolwiek odmianą pastewną. O tym, że zagoryczenie nasion w praktyce hodowlano-nasiennej może nastąpić na drodze samorzutnego skrzyżowania dwóch odmian pastewnych, świadczą przykłady zaczerpnięte z hodowli łubinów białych w Przebądowie, gdzie w przy-

padkach niedostatecznej izolacji spotykano się z faktami występowania roślin gorzkich na parcelach, do obsiewu których używano wyłącznie kontrolowanych nasion niskoalkaloidowych. Oczywiście, że zastrzeżenie powyższe ma sens wyłącznie w odniesieniu do gatunków cechujących się pewną skłonnością do obcozapylenia, a więc do łubinu białego, a szczególnie do łubinu żółtego, u którego stopień obcopylności dochodzić może w niektórych latach do 20% i wyżej.

Podobny wynik, jak w krzyżówce Biały I \times Biały III, uzyskano krzyżując Biały I z Białym V (Biały Przebędowski Średniowczesny — tab. 2), który zawiera ten sam gen co Biały III.

III

Omówione w poprzednich rozdziałach badania genetyczne oparte były na analizach jakościowych. Analizy jakościowe, pozwalają na oddzielenie roślin gorzkich od niegorzkich. Nie dają nam jednak odpowiedzi na pytanie, jaki procent suchej masy nasion stanowią alkaloidy. W dotychczasowym, genetycznym ujęciu zagadnienia pod pojęciem łubinów gorzkich rozumieliśmy rośliny, których nasiona mają smak gorzki, a badane metodami jakościowymi dają charakterystyczną reakcję. W wypadku odczynnika Lugola będzie to brunatny osad, przy użyciu odczynnika Dragendorfa osad czerwony itp. W przeciwieństwie do tego rośliny pastewne nie posiadają gorzkiego smaku, a traktowane określonymi odczynnikami nie dają charakterystycznej reakcji.

Omawiając dziedziczenie cechy niegorzkości, unikaliśmy celowo interpretacji ilościowych efektów działania poszczególnych genów. Pojedyncze rośliny niegorzkie wyodrębnione w F_2 , oraz poszczególne odmiany pastewne, uważaliśmy za fenotypowo identyczne, gdyż badane metodami jakościowymi nie wykazywały różnic. Przy ścisłym jednak określeniu u nich zawartości alkaloidów w suchej masie nasion metodami ilościowymi można stwierdzić, że zarówno pojedyncze osobniki, jak i odmiany, różnią się między sobą pod tym względem w zależności od tego, który z omówionych powyżej genów warunkuje u nich cechę niegorzkości.

Hackbarth (5) podaje, że odmiany i rody będące homozygotami w stosunku do recesywnego genu *dulcis* posiadają średnio w suchej masie nasion około 0,05% alkaloidów, podczas gdy odmiany i rody, u których cechę niegorzkości warunkują geny *liber* lub *amoenus*, zawierają ich średnio około 0,01%, czyli pięciokrotnie mniej (rys. 1).

Podobnie rzecz ma się w przypadku omówionych powyżej dwóch genów warunkujących niską zawartość alkaloidów w polskich odmianach łubinu białego. Biały I, będący homozygotą $\begin{matrix} \text{prim} \\ \text{prim} \end{matrix}$ zawiera średnio około

0,1% alkaloidów w suchej masie nasion, podczas gdy Biały III i Biały V ($\frac{\text{tert}}{\text{tert}}$) około 0,05%, czyli dwukrotnie mniej. Wyraźne różnice w zawartości alkaloidów stwierdzamy również w polskich odmianach pastewnych łubinu wąskolistnego.

Tabela 3

Wyniki oznaczeń zawartości alkaloidów wykonanych równolegle
przez 4 laboratoria

Nr próby	Odmiana	% nasion gorzkich	Zawartość alkaloidów w %% suchej masy nasion wg oznaczeń:			
			Laboratorium I-go	Laboratorium II-go	Laboratorium III-go	Laboratorium IV-go
1	T. II.	0	0,0129	0,005	0,021	0,023
2	Obornicki	0	0,0292	0,01	0,064	0,084
3	Mieszanka	1	0,0380	0,06	0,076	0,097
4	Obornickiego	3	0,0557	0,07	0,130	0,117
5	z Wielkopolskim	7	0,0999	0,08	0,228	0,202
6	Gorzkim	10	0,1298	0,13	0,287	0,261
7	„	13	0,1550	0,14	0,297	0,252
8	„	20	0,2176	0,15	0,486	0,445
9	„	30	0,3168	0,25	0,707	0,659
10	„	40	0,4100	0,40	0,812	0,831
11	„	50	0,4454	0,50	0,878	1,225
12	„	60	0,5127	0,60	1,23	1,251
13	„	70	0,5305	0,70	1,49	1,422
14	„	80	0,5440	0,90	1,56	1,430
15	„	90	0,6313	1,00	1,66	1,970
16	Wielkopolski Gorzki	100	0,7198	1,20	1,95	2,263

Jak wynika z tabeli 3, odmiana Obornicki, będąca homozygotą w stosunku do genu określonego tymczasowo jako a_1 , posiada ich dwa do trzy razy więcej od formy „T. II.”, u której niską zawartość alkaloidów warunkuje obecność czynnika a_2 . W świetle powyższych faktów nasuwa się pytanie czy podwójna homozygota recesywna, pojawiająca się w F_2 krzyżówki dwóch odmian pastewnych lecz genetycznie różnych, będzie zawierała mniej alkaloidów od form rodzicielskich. Według Hackbartha i Schwarza (7) podwójna homozygota recesywna łubinu żółtego nie tylko nie zawiera mniej alkaloidów od form rodzicielskich, ale wykazuje tendencję zwyżkową. Również w pracy autora wykonanej wspólnie z E. Nowackim (11) nie stwierdzono wśród kilkudziesięciu osobników niegorzkich F_2 i F_3 łubinu białego, uzyskanych ze skrzyżowania Białego I z Białym III i Białym V, żadnej, która by charakteryzowała się mniejszą zawartością

alkaloidów od form ojcowskich. Fakty powyższe nie wykluczają jednak tej możliwości. Być może, że kumulując różne geny recesywne, uda się w przyszłości uzyskać dalsze trwałe obniżenie zawartości alkaloidów.

Przytoczone powyżej cyfry stanowią rzecz jasna średnie z wielu określeń. O ile bowiem roślina niegorzka, będąca homozygotą w stosunku do odpowiedniego genu recesywnego, da zawsze w warunkach wykluczających skrzyżowanie z określonymi genotypami potomstwo niegorzkie, to fakt ten nie dowodzi wcale, że poszczególne rośliny potomne, stanowiące w odniesieniu do tegoż genu recesywnego czystą linię, nie będą się między sobą różniły pod względem zawartości alkaloidów. Ostateczną zawartość alkaloidów wyznaczają nam bowiem zawsze dwa parametry: genotyp i środowisko. Pojęcie genotypu jest przy tym dość szerokie. Chodzi tu nie tylko o określone i oznaczone geny wpływające bezpośrednio na proces nagromadzania się alkaloidów, ale również o czynniki genetyczne, regulujące inne procesy fizjologiczne w roślinie, jak np. wczesność, rytm wzrostu itp., które pośrednio mogą w pewnym stopniu modyfikować efekt działania genów głównych. Nie można wykluczyć możliwości, że dwie odmiany pastewne łubinu, będące homozygotami w stosunku do genu *dulcis*, różniące się natomiast innymi właściwościami morfologicznymi i fizjologicznymi, będą w związku z tym wykazywały pewne trwałe różnice pod względem zawartości alkaloidów.

Wpływ znanych czynników środowiska może być również znaczny. Znamy z wieloletniej praktyki nasiennej przykłady istnienia różnic w zawartości alkaloidów pomiędzy partiami nasion tej samej odmiany lub linii, pochodzącymi z różnych lat lub z różnych warunków ekologicznych. Zagadnieniu temu poświęcono szereg prac, których celem było stwierdzenie, w jaki sposób poszczególne czynniki ekologiczne wpływają na zawartość alkaloidów. Wyniki otrzymywane przez poszczególnych autorów są jednak zbyt często rozbieżne, nawet wtedy, gdy dotyczą wpływu tego samego elementu środowiska, ażeby można było w oparciu o nie dokonać podsumowania. Wydaje się, że w poszczególnych wypadkach niezgodność wyników ma często źródło w różnym podejściu metodycznym, niedocenianiu roli czynników genetycznych, oraz w błędach, jakimi obarczone są poszczególne wyniki analiz ilościowych. Jeżeli chodzi o zagadnienia metodyczne, sprawa jest, jak się wydaje, prosta. Określona relacja: roślina — środowisko jest praktycznie niepowtarzalna. Zazwyczaj, nawet w warunkach sztucznych, potrafimy regulować tylko niektóre czynniki zewnętrzne i to w dość ograniczonym zakresie. Reszta wymyka się naszej kontroli. A przecież wystarczy, że zmieni się jeden z elementów środowiska, ażeby zmienił się cały jego układ i nastąpiły całkiem inne warunki nagromadzania się alkaloidów.

Jeżeli chodzi o niedocenywanie czynnika genetycznego, to chodzi tu głównie o fakt, że w większości publikacji nie charakteryzowano badanego materiału nie tylko pod kątem jego składu genetycznego, ale — co w badaniach tego typu wydaje się zupełnie niedopuszczalne — nie podawano czy badany materiał składa się z nasion niegorzkich lub gorzkich, czy też jest populacją złożoną z jednych i drugich. Osobiście spotkałem się z faktem, że próba zawierająca 10% nasion gorzkich po jednym roku uprawy w określonych warunkach zawierała ich 25%. Okazało się, że ten nagły i nieoczekiwany wzrost procentu nasion gorzkich spowodowany był ograniczeniem współczynnika rozmnażania roślin niegorzkich przez szkody wyrządzone przez zwierzyne. W danym wypadku chodziło o łubin wąskolistny. Jeżeli chodzi o łubin żółty, który jest w znacznym stopniu obcopylny, sprawa komplikuje się jeszcze bardziej. Obecność nasion gorzkich w populacji przesądza istnienie w niej nasion niegorzkich, z których jednak wyrosną rośliny gorzkie, gdyż zarodek ich jest heterozygotą powstałą wskutek zapylenia pyłkiem rośliny gorzkiej. Czynniki zewnętrzne mogą zarówno w gatunkach samo-, jak i obcopylnych spowodować zupełnie nieoczekiwane przesunięcie w składzie populacji.

W tym miejscu zmuszony jestem — jakkolwiek problem ten wykracza poza ramy niniejszego artykułu — uczynić dygresję co do roli alkaloidów w roślinie. Badając zdolność produkcyjną form gorzkich i pastewnych łubinu wąskolistnego w oparciu o pary homologiczne i porównując rozwój roślin gorzkich i niegorzkich, zaobserwowałem, że te ostatnie w pierwszej fazie wegetacji rosną i rozwijają się lepiej od swoich sobowtórów gorzkich. Rośliny gorzkie mają z reguły nieco wolniejszy wzrost oraz mniej intensywny kolor liści. W latach, w których rośliny gorzkie dawały plon wyższy od niegorzkich, wyraźne różnicowanie na ich korzyść następowało dopiero w okresie kwitnienia. W związku z tym nasuwa się koncepcja, że proces nagromadzania się alkaloidów w roślinie i ich obecność jest z punktu widzenia sprawności przebiegu procesów życiowych zjawiskiem niekorzystnym, a dopiero w określonym układzie roślina — środowisko, w którym do głosu dochodzą szkodniki, odgrywa rolę pozytywną. O ile bowiem rola, jaką odgrywają alkaloidy w metabolizmie rośliny jest i pozostanie chyba długo jeszcze tematem sporów, które przy dzisiejszym stanie wiedzy muszą mieć charakter typowych dyskusji akademickich, o tyle nie ulega najmniejszej wątpliwości, że ich obecność nieraz skutecznie chroni roślinę przed szkodnikami, a być może, również przed niektórymi chorobami.

Jak dotychczas, bezsporny był tylko fakt uszkodzania roślin niegorzkich, szczególnie łubinu wąskolistnego przez ssaki. Ostatnio obserwacje wykazują jednak, że również niższe zwierzęta, jak drutowce czy larwy *Sitona*, chętniej żerują na roślinach niegorzkich niż gorzkich. Co do chorób, to

jakkolwiek mało mamy badań w tym zakresie, wydaje się, że przynajmniej te z nich, które, jak np. wirusy, są przenoszone przez drobne szkodniki zwierzęce (mszyce, trypsy, itp.), będą silniej występowały na roślinach niegorzkich. Przyjmując zatem, że rola alkaloidów ogranicza się wyłącznie do roli czynnika ochronnego, musimy założyć, że różnicując czynniki zewnętrzne w odniesieniu do populacji, możemy spowodować tym samym wzmożenie lub zmniejszenie selektywnego oddziaływania na nią szkodników. Zaobserwowano np., że zające chętniej żerują na roślinach w szerokiej rozstawie niż w siewach zagęszczonych. Szkody przez nie wyrządzone są również znacznie większe przy siewach bardzo wczesnych, w następstwie czego rośliny po wschodach rosną (wskutek panujących zwykle w tym okresie chłódów) znacznie wolniej, niż w wypadku siewów późniejszych, kiedy przyrost zielonej masy jest szybszy, a okres zastoju we wzroście znacznie krótszy. W pierwszym wypadku procent nasion gorzkich, a tym samym ogólna zawartość alkaloidów w nasionach, wzrośnie w populacji w stopniu znacznie większym niż w wypadku drugim. Wbrew bowiem panującym wciąż jeszcze twierdzeniom, że w wypadku małej zawartości nasion gorzkich [do 7%, Byszewski (4)] nie ma korelacji między ich procentowym występowaniem w populacji a zawartością alkaloidów w suchej masie nasion, korelacja taka istnieje, a jeżeli nie została w konkretnych badaniach stwierdzona, to jedynym wniosek, jaki można z tego wyciągnąć, jest ten, że czułość metod oznaczania ilości alkaloidów jest niedostateczna.

Problem metod ilościowego oznaczania alkaloidów oraz problem zawartości alkaloidów w formach gorzkich łubinu zostanie omówiony w dalszym ciągu niniejszego artykułu. W tym miejscu, mówiąc o roli czynników zewnętrznych, pragnę stwierdzić, że jakkolwiek nie ulega wątpliwości, iż takowy istnieje, to jednak według moich obserwacji i danych, jakimi dysponuję, nie jest on nigdy tak duży, aby mógł spowodować podniesienie się zawartości alkaloidów w partiach nasion pastewnych, pozbawionych domieszki nasion gorzkich, powyżej 0,1% suchej masy nasion. Dotyczy to wszystkich uprawianych u nas odmian łubinu żółtego (*gen dulcis*) wąskolistnego (*gen a₁ i a₂*), oraz białego (*gen tertius*). Cyfra powyższa odnosi się do poziomu zawartości alkaloidów, jaki zwykle uzyskujemy wykonując analizę metodą Wierzchowskiego.

* * *

Podając powyżej w wątpliwość czułość metod ilościowych, mam na myśli błędy systematyczne, jakimi obarczone są poszczególne metody, jak również błędy losowe, wynikające częściowo z ich konstrukcji chemiczno-technologicznej. W pierwszym przypadku chodzi o znane fakty, że oznaczając zawartość alkaloidów w serii prób dwiema różnymi

metodami, otrzymujemy zwykle wielkości różnego rzędu, w drugim natomiast — o również znane fakty, że równoległe oznaczenia wykonane tą samą metodą dają często wyniki różniące się w dość znacznym stopniu między sobą. Aby nie być gołosłownym, przytoczę wyniki eksperymentu przeprowadzonego przeze mnie w ostatnim czasie. Do czterech laboratoriów krajowych wysłano do analizy 16 prób łubinu wąskolistnego. Próba nr 1 zawierała wyłącznie nasiona niegorzkie formy pastewnej „T. II”, próba nr 2 — wyłącznie nasiona niegorzkie odmiany pastewnej Obornicki, a próba nr 16 składała się wyłącznie z nasion gorzkich odmiany Wielkopolski Gorzki. Próby oznaczone nr od 3 do 15 stanowiły mieszankę nasion niegorzkich odmiany Obornicki oraz odmiany Wielkopolski Gorzki. Wyniki analiz oraz procent nasion gorzkich, zawartych w próbach od 3 do 15, zamieszczono w tabeli 3.

Znamienne są rozbieżności w wynikach analiz wykonanych przez różne laboratoria. Zawartość alkaloidów np. w próbce nr 16, składającej się wyłącznie z nasion gorzkich, wynosi według oznaczeń laboratorium I — 0,7198%, II — 1,20%, III — 1,95%, IV — 2,263%. Wynik laboratorium IV stanowi ponad 300% ilości określonej przez laboratorium I. Podobne rozbieżności występowały nie tylko w próbce zawierającej wyłącznie nasiona gorzkie ale również we wszystkich innych próbach. Wyniki powyższe nie tylko mówią nam o wielkości błędów systematycznych, jakimi obciążone są poszczególne metody, ale również pozwalają wyrobić sobie pojęcie o wielkości błędów losowych. Zwiększając np. ilość nasion gorzkich w próbach regularnie o 10%, otrzymaliśmy różnice między poszczególnymi próbkami wynoszące w jednym wypadku 0,031%, a drugim — 0,392%. W doświadczeniu opisanym nie może być mowy o braku reprezentatywności prób, czy o różnicach w kalibrze mączki, gdyż próby przesyłano już zmielone, a mieszania mączki gorzkiej i niegorzkiej dokonano w sposób bardzo dokładny, według określonego planu, już po zmieleniu. Każda próba analizowana była przez poszczególne laboratorium co najmniej dwa razy. Nie ulega również wątpliwości, że personel laboratoriów chemicznych wykonywał analizy z możliwie daleko posuniętą starannością, gdyż jakkolwiek przesyłając próby do analizy nie załączono informacji odnośnie procentu nasion gorzkich, to jednak kierownicy laboratoriów byli poinformowani o tym, że stanowią one ogniwo eksperymentu, którego celem jest sprawdzenie czułości metod.¹

¹ Pragnę w tym miejscu złożyć serdeczne podziękowanie kierownikom wspomnianych laboratoriów, którzy zgodzili się wykonać analizy dla celów metodycznych bezinteresownie i okazali daleko posuniętą życzliwość i zrozumienie problemu. Żałuję, że przyjęta zasada anonimowości nie pozwala mi kierować wyrazów wdzięczności imiennie.

Warto dodać również, że dwa z wymienionych laboratoriów wykonują analizy dla celów urzędowej ostatecznej kwalifikacji łubinu. Nasuwa się pytanie, jaka jest, w świetle otrzymanych tak różnych wyników, prawdziwa zawartość alkaloidów w poszczególnych próbach. Przyjmując, że każda z metod pretenduje do tego, iż daje prawdziwy obraz zawartości alkaloidów, musimy stwierdzić, że w oparciu o przytoczone wyniki zupełnie nie wiemy, ile jest naprawdę alkaloidów w poszczególnych próbach. Wynika z tego, że analizy ilościowe w zasadzie taksują nam ze stosunkowo małą ścisłością prawdziwą zawartość alkaloidów. A przecież w oparciu o ilość alkaloidów w nasionach skonstruowana jest cała „obowiązująca” hipoteza ich toksyczności, o którą z kolei oparte są wszystkie przepisy dotyczące kwalifikacji plantacji nasiennych łubinu i dopuszczalnej górnej granicy ich zawartości przy skarmianiu go.

Zróznicowanie ilości nasion gorzkich w próbach od 2 do 7 było stosunkowo niewielkie. Niemniej jednak wszystkie metody wyraźnie zareagowały na podniesienie się zawartości nasion gorzkich już o 1%. Okazuje się zatem, że mimo błędów, jakimi i w tym przypadku były obarczone z pewnością poszczególne oznaczenia, zależność między ilością nasion gorzkich a procentową zawartością alkaloidów w próbce jest bezsporna.

O ile metody stosowane współcześnie wykazują tak rażące odchylenia i małą dokładność, o tyle w przeszłości było chyba jeszcze gorzej. I tu należy również, jak się wydaje, szukać głównych przyczyn dużej rozbieżności, jaką znajdujemy w literaturze przedmiotu odnośnie zawartości alkaloidów w formach gorzkich poszczególnych gatunków. Hackbarth i Troll (6) podają np., że średnia zawartość alkaloidów w formach gorzkich łubinu białego wynosi 1,668%, przy wahaniach od 0,350 do 3,250%. Odpowiednie cyfry według wspomnianych autorów wynoszą dla łubinu żółtego 0,896%, oraz 0,350% i 1,550%, a dla łubinu wąskolistnego 1,079%, oraz 0,250% i 2,050%. Tymczasem określenia z ostatnich lat nigdy nie wykazały w formach gorzkich mniejszej zawartości alkaloidów niż 1% o ile tylko badane partie składały się wyłącznie z nasion gorzkich. Nie jest wykluczone, że nie za wszystkie błędy, jakie popełniono, odpowiedzialne są wyłącznie metody. Wiele błędnych oznaczeń należy z pewnością położyć na karb pomieszania pojęć, jakie panuje nie tylko wśród żywieniowców i służby nasiennej, ale nawet wśród hodowców, w wyniku którego za łubin gorzki uważa się już wszelkie partie łubinu pastewnego, które na skutek zbyt dużej zawartości nasion gorzkich i ilości alkaloidów zostały zdyskwalifikowane jako nie nadające się do dalszej reprodukcji i skarmiania. Jednak nie zawsze tak było. Osobiście spotkałem się z faktem, że w materiale składającym się prawie wyłącznie z nasion gorzkich określono

zawartość alkaloidów na poziomie 0,23%. Gdy powtórzono analizy, okazało się, że badana próba zawierała ich w rzeczywistości ponad 1,5%.

Podobne niezgodności, dotyczące już nie pojedynczej analizy, ale całej ich serii, dostrzegamy w pracach Sypniewskiego i Malarskiego [cytuje za Barbackim (1)]. Sypniewski podaje np., że określony materiał łubinu wąskolistnego gorzkiego, którego używał do badań nad wpływem czynników zewnętrznych na zawartość alkaloidów, posiadał ich 0,52% w suchej masie nasion. Tymczasem te same formy Sypniewskiego, które przetrwały w kolekcjach do dziś, wykazują obecnie regularnie powyżej 1,5% alkaloidów. W danym wypadku nie mogło chodzić o populacje złożone z nasion gorzkich i niegorzkich, gdyż te ostatnie wyodrębniono po raz pierwszy w 10 lat później. Zaniżenie zatem zawartości alkaloidów w omawianych pracach nastąpiło niewątpliwie pod wpływem systematycznego błędu metody.

Na zakończenie pragnę podkreślić, że, nie będąc chemikiem, nie czuję się powołany do przeprowadzenia merytorycznej krytyki omawianych metod. Nie podaję w związku z tym nie tylko ich charakterystyki technologicznej, ale również ich nazw oraz nazwisk ich autorów. Sprawa ta należy do specjalistów, którzy muszą w najbliższym czasie przeprowadzić, w podobnie prosty sposób, jak opisane doświadczenie, konfrontację skuteczności różnych metod ilościowego oznaczania alkaloidów. Być może, że w wyniku późniejszych badań okaże się, że tylko niektóre z metod obarczone są błędem systematycznym, być może wreszcie, choć osobiście nie jestem tego zdania, iż w toku konfrontacji okaże się, że odchylenia są wynikiem niezupełnie konsekwentnego przestrzegania przez poszczególne laboratoria przepisanej metody. Jedno nie ulega wątpliwości: konfrontacja taka jest sprawą pilną. Z sytuacją bowiem, jaka istnieje obecnie, trudno zgodzić się bezkrytycznie.

Potrzeba takiej konfrontacji daje się odczuwać nie tylko w Polsce, ale również w skali międzynarodowej. Przypuszczalnie w Niemczech oraz w innych krajach zachodnich, metody ilościowego oznaczania alkaloidów i ich wiarygodność stanowią również przedmiot krytyki, skoro genetyk holenderski Lamberts (podaję za Byszewskim) również uważa, że obecnie brak nam dowodów na to, że zawartość alkaloidów może być oznaczana w wiarygodny sposób. Gdyby twierdzenie to okazało się słuszne, należałoby zrewidować gruntownie opinie co do toksyczności alkaloidów, krytykowane zresztą w ostatnim czasie coraz częściej.

I jeszcze jedna sprawa. Ażeby uniknąć błędów natury metodycznej, trzeba koniecznie, aby przy wszelkich pracach i dyskusjach nad tymi sprawami brał udział koniecznie, z głosem doradczym, hodowca-genetyk. Jak dotychczas bowiem kryteria genetyczne są jedynie prawdziwe i słuszne i pomijanie ich w wszelkich doświadczeniach tego typu spowodować

może dalsze opóźnienie w rozwiązaniu tego problemu, ważnego zarówno z teoretycznego, jak i praktycznego punktu widzenia.

Jakkolwiek w świetle tego co powiedzieliśmy nie wiemy, jaka jest prawdziwa zawartość alkaloidów w nasionach łubinu, co w zasadzie uniemożliwia nam dokonanie charakterystyki efektów działania poszczególnych genów, to jednak można to zrobić w oparciu o dotychczasowe wyniki analiz w wielkościach względnych. Przyjmując, że formy gorzkie łubinu wąskolistnego zawierają według określeń dokonanych metodą Wierzchowskiego około 2% alkaloidów, możemy stwierdzić, że homozygoty w stosunku do genu „a₂” zawierają ich blisko 100 razy mniej, a homozygoty w stosunku do genu „a₁” — 30 do 40 razy mniej. W łubinie żółtym, którego formy gorzkie mają, jak się wydaje, około 1,2% alkaloidów, gen *dulcis* powoduje obniżenie ich ilości o około 25 do 30 razy, a gen *amoenus* lub *liber* również o około 100 razy. W łubinie białym, którego zawartość alkaloidów w formach gorzkich oceniam również na około 2%, gen *tertius* powoduje obniżenie ich o około 50 razy, a gen *primus* o około 20 razy. Na czym polega fizjologia oddziaływania genów, w jaki sposób gen powoduje przerwanie procesu nagromadzania się alkaloidów — oto pytania, na które jeszcze jakiś czas nie uzyskamy pełnej odpowiedzi.

Nie ulega wątpliwości, że albo bezpośrednio, albo pośrednio geny uruchamiają lub blokują odpowiednie enzymy, co z kolei powoduje określoną zmianę w metabolizmie rośliny, w rezultacie czego staje się ona niegorzka. Czy jednak ingerencja produktów działania genu dotyczy etapu syntezy substancji o charakterze prekursorów, z których powstają alkaloidy, czy też następuje w dalszym etapie ich wytwarzania się — nie wiemy. Fakt, że rośliny niegorzkie nie są pozbawione alkaloidów całkowicie, tylko mają ich znacznie mniej oraz fakt że alkaloidy stanowią w zasadzie sumę różnych chemicznie substancji o pewnych tylko cechach wspólnych, przemawia raczej za koncepcją, że ingerencja genów ma miejsce na etapie syntezy prekursorów, lub też, jak to zdaje się wynikać z niektórych danych Nowackiego, że u form niegorzkich proces syntezy alkaloidów przebiega normalnie, tylko obecność uwarunkowanego genetycznie zespołu enzymów powoduje ich natychmiastowy, choć niezupełny rozkład.

IV

Jakie wskazania płyną z nakreślonego powyżej dzisiejszego stanu wiedzy o dziedziczeniu się alkaloidów dla praktycznej hodowli i nasiennictwa łubinów? Na pierwsze miejsce wysuwa się wniosek, że w wypadku hodowli zachowawczej oraz w wypadku analiz dla celów kwalifikacji materiału nasiennego zupełnie bezcelowe jest wykonywanie analiz ilości-

wych. Ten sam bowiem efekt praktyczny osiągnąć można opierając się wyłącznie na analizach jakościowych, wielokrotnie tańszych, szybszych i pewniejszych. Po ustaleniu na drodze krzyżówek testowych genotypu odmiany, można ograniczyć się tylko do ewentualnego badania corocznie zawartości alkaloidów w doświadczeniach odmianowych, a cały materiał szkółkowy i plantacje nasienne, podobnie jak materiał przeznaczany na paszę, wystarczy przebadac metodami jakościowymi na zawartość nasion gorzkich. Przejście w skali krajowej na badanie ilości nasion gorzkich przyniesie z pewnością w efekcie znaczne oszczędności w nakładach oraz ograniczy do minimum ilość sporów.

Jeżeli chodzi o politykę nasienną to, pomijając już znany powszechnie i od dawna wysuwany przez hodowców postulat, aby w rejonach uprawy form pastewnych łubinu żółtego, a więc praktycznie w całym kraju, nie uprawiać populacji gorzkich tego gatunku, należy ściśle przestrzegać, ażeby wszystkie nowe odmiany łubinu żółtego były również recesywami w stosunku do genu *dulcis*. Wprowadzenie do uprawy odmian, u których niską zawartość alkaloidów warunkowałby gen *amoenus* lub *liber*, byłoby w chwili obecnej szkodliwe dla nasiennictwa łubinu. Odmiany takie bowiem, posiane bez odpowiednio dużych izolacji obok odmian dotychczasowych, zagoryczyłyby się na skutek wzajemnego przekrzyżowywania się w tempie nie wiele wolniejszym, jak w wypadku siewu bez odpowiednich izolacji odmian pastewnych i gorzkich. Zasadę powyższą należy wziąć również pod uwagę w wypadku ewentualnego importu odmian zagranicznych.

Postulując powyżej pewne zasady polityki nasiennej odnośnie nowych odmian, nie chciałbym absolutnie wykluczyć możliwości wprowadzenia do uprawy nowej odmiany z innym genem niż gen *dulcis*. W takim wypadku należałoby wyznaczyć dla tej uprawy specjalne rejony, z których usunięto by wszystkie dawne materiały. Oczywiście podjęcie tego rodzaju kłopotliwych i kosztownych posunięć organizacyjnych byłoby celowe tylko w wypadkach, gdyby nowa forma wyraźnie i wybitnie przewyższała dotychczasowe odmiany pod względem plonu czy innych cech użytkowych.

LITERATURA

1. Barbacki S.: Łubin. Moskwa 1959 (wydanie rosyjskie).
2. Barbacki S.: Z zagadnień łubinu pastewnego. Międzynarodowe Czasopismo Rolnicze, z. 1, 1960.
3. Barbacki S.: Zagadnienia hodowli i uprawy łubinu, 1959 (skrót referatu).

4. Byszewski W.: Alkaloidy łubinowe. *Hodowla Roślin, Aklimatyzacja i Nasiennictwo*, t. 1, z. 3, 1957.
5. Hackbarth J.: *Biochemie und Physiologie der Alkaloide. Abhandlungen der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin*, nr 7, 1956.
6. Hackbarth J., Troll H. J.: *Handbuch der Pflanzenzüchtung* Berlin 1956.
7. Mikołajczyk J.: Dziedziczenie niektórych cech morfologicznych i fizjologicznych łubinu białego. W druku.
8. Mikołajczyk J.: Genotypy polskich odmian łubinu żółtego. W druku.
9. Mikołajczyk J.: Z badań nad genetyką łubinów wąskolistnych. Nie opublikowane.
10. Mikołajczyk J.: Zdolność produkcyjna form gorzkich i pastewnych łubinu. *Zeszyty Problemowe Post. Nauk Roln.* z. 20, 1960.
11. Mikołajczyk J., Nowacki E.: Dziedziczenie zawartości alkaloidów w łubinie białym. W druku.
12. Nowacki E.: Dziedziczenie i metabolizm alkaloidów w łubinie. Nie opublikowane.
13. Nowacki E.: Konieczność zmiany metod oznaczania alkaloidów w łubinie *Postępy Nauk Rolniczych*, nr 5 (59), 1959.