

## ZASTOSOWANIE WYNIKÓW BADAŃ BIAŁEK BULW ZIEMNIAKA W SYNTEZIE ZIEMNIAKA WYSOKOBIAŁKOWEGO

*Jerzy Lewosz*

Samodzielna Pracownia Biochemii, Instytut Ziemniaka w Boninie

### WSTĘP

Wysoka wartość biologiczna i możliwy do osiągnięcia plon białka w ziemniakach skłoniły hodowców do tworzenia odmian pastewnych, które powinny charakteryzować się dużym plonem suchej masy i wysoką zawartością białka. Hodowla ziemniaka pastewnego wymaga wykonywania wielu analiz zawartości tych dwu składników. Dlatego pracowano nad znalezieniem prostej i szybkiej metody oceny materiału hodowlanego pod tym kątem.

Poszukiwano również metod doboru takich form rodzicielskich, których potomstwo zawierałoby więcej białka. W tym celu porównywano skład frakcji białkowych bulw ziemniaka kilku populacji, ich rodziców i dużej liczby odmian z Kolekcji Instytutu Ziemniaka. Próbowano również znaleźć biochemiczno-genetyczny wyznacznik dużej zawartości białka.

### MATERIAŁY

Badano bulwy 176 odmian z Kolekcji oraz pięciu populacji z krzyżówek: Flora × Epoka, Flora × Gross Lüsewitz 58 480/2, Flora × Gross Lüsewitz 63 269/106, Epoka × PB 2001, Falke × Gross Lüsewitz 63 269/106.

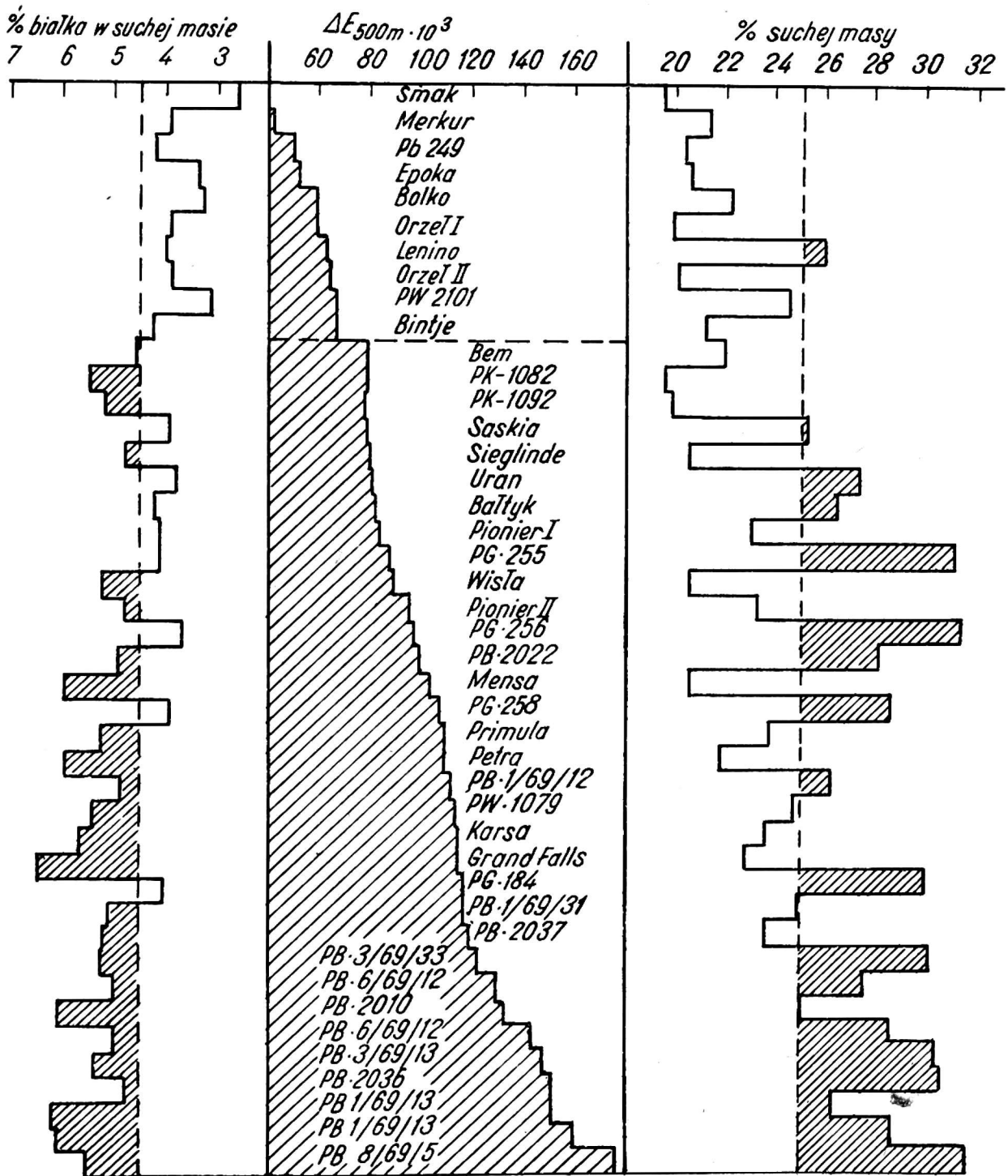
### METODY I WYNIKI

#### SZYBKA METODA OCENY MATERIAŁU POD KĄTEM PRZYDATNOŚCI W HODOWLI ZIEMNIAKA PASTEWNEGO

Z badań wielu autorów jest dobrze znana fluktuacja zawartości związków azotowych w zależności od nawożenia, warunków glebowych i klimatycznych. Fluktuacja zawartości azotu białkowego jest znacznie mniejsza niż azotu niebiałkowego i stąd badanie zawartości białka (właściwego) jest bardziej przydatne w badaniach biochemicznych i genetycznych niż oznaczanie azotu całkowitego. Przy opracowywaniu

metody oceny materiału hodowlanego oparto się na zależności, jaka istnieje między zawartością suchej masy a zawartością białka w soku.

Białko oznaczono metodą Potty [3]. Z różnicy absorpcji ( $\Delta E$ ) mierzonej przy 500 nm w obecności i bez jonów  $\text{Cu}^{++}$  odczytywano zawartość białka w soku. Na rysunku 1 przedstawiono zależność między  $\Delta E$ , suchą masą i zawartością białka



Rys. 1. Zależności pomiędzy zawartością suchej masy, białka w suchej masie i  $\Delta E$  (różnica absorpcji optycznej mierzonej przy 500 nm po reakcji 100-krotnie rozcieńczonego soku z odczynnikiem Folina-Ciocalteu w obecności i przy braku jonów  $\text{C}^{++}$ ). Wybrany wzorcowy poziom białka i suchej masy zaznaczono pionową przerywaną linią. Wartości przewyższające wzorzec zakreskowano

Fig. 1. Relationships between the contents of dry matter, protein in dry matter and  $\Delta E$  (difference in optical absorption measured at 500 nm after reaction of 100-fold diluted sap with Folin-Ciocalteu reagent, with and without  $\text{Cu}^{++}$ ). Selected standard contents of protein and dry matter is marked with vertical dashed line. The above standard values are hatched

w suchej masie. Mierząc  $\Delta E$  rozcieńczonego 100-krotnie soku bulw można w prosty sposób dokonać oceny materiału i stwierdzić, czy zawiera on jednocześnie dużo białka i suchej masy ( $\Delta E > 0,160$ ), czy tylko jeden z tych składników przewyższa wzorzec ( $\Delta E = 0,08-0,160$ ), czy też mamy do czynienia z materiałem bezwartościowym ( $\Delta E < 0,080$ ). Wyniki oznaczeń białka metodą Potty [3] dobrze korelują z wynikami metody Kjeldahla, a wartość  $\Delta E$  można jednocześnie wykorzystać do dokładnego określenia zawartości białka w tkance.

#### BADANIA SKŁADU FRAKCJI BIAŁKOWYCH

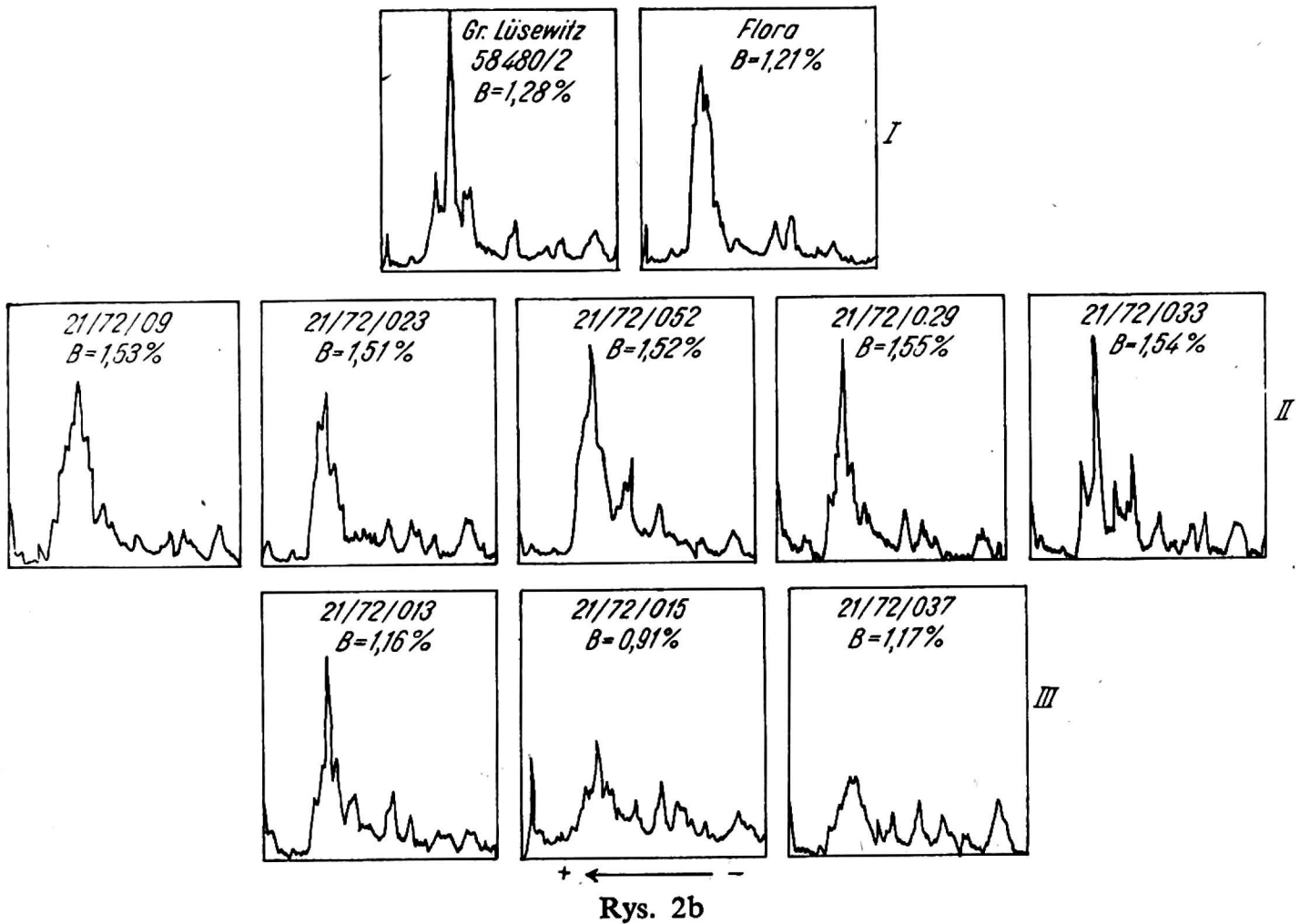
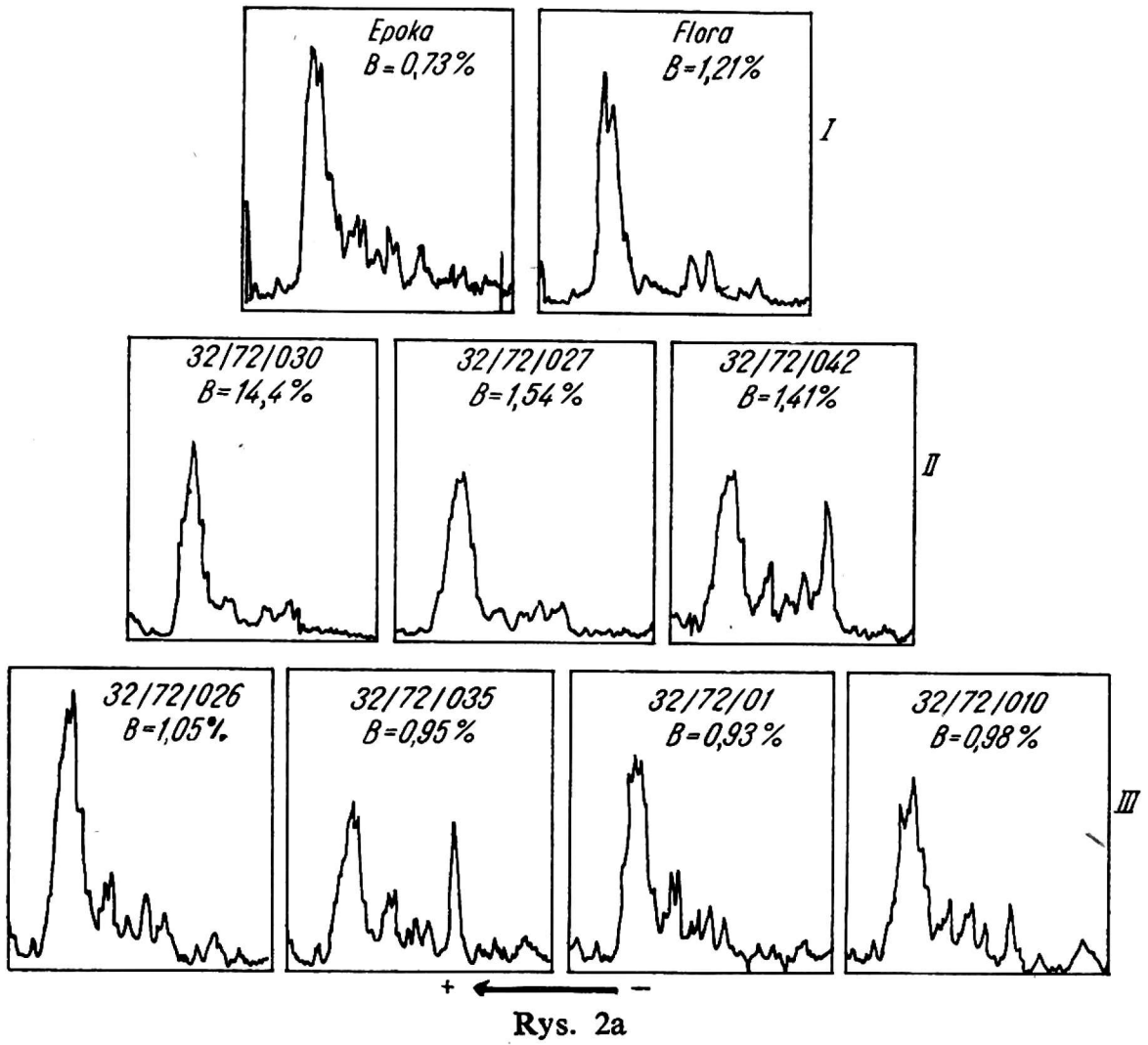
W literaturze jest dobrze udokumentowane zjawisko wysokiej swoistości obrazu elektroforetycznego białek ziemniaka [1, 4, 7]. Na obraz ten nie mają wpływu czynniki środowiska i można go uznać za odbicie genotypu. Na tej podstawie próbowano znaleźć cechy wspólne dla rodów wysokobiałkowych, odróżniające je od rodów o małej zawartości białka. Spodziewano się, że znalezienie takich cech ułatwi dobór form rodzicielskich.

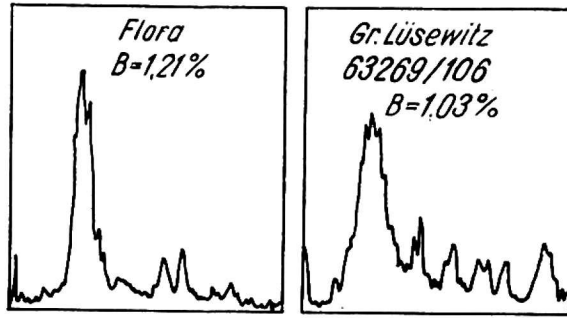
Białka soku bulw rozdzielono w bloku żelu poliakryloamidoagarozonego, barwiono zielenią trwałą i densytometrycznie określano udział poszczególnych frakcji. Na rysunku 2 (A—E) przedstawiono elektroferogramy białek rodziców i wybranych spośród ich potomstwa rodów o dużej i małej zawartości białka. Porównywano natężenie i częstotliwość występowania poszczególnych frakcji w grupie rodów i odmian o różnej zawartości białka. Podobne obrazy elektroforetyczne zdarzały się w obu grupach. Jakkolwiek nie znaleziono istotnych różnic między tymi grupami, to wstępne wyniki wskazują, że przez porównywanie elektroferogramów będzie można określać stopień podobieństwa genetycznego poszczególnych rodów. Umożliwi to dobór do krzyżowania form zbliżonych lub odległych genetycznie, zależnie od zamierzeń hodowcy.

#### INHIBITORY ENZYMÓW PROTEOLITYCZNYCH JAKO WYZNACZNIKI ZAWARTOŚCI BIAŁKA

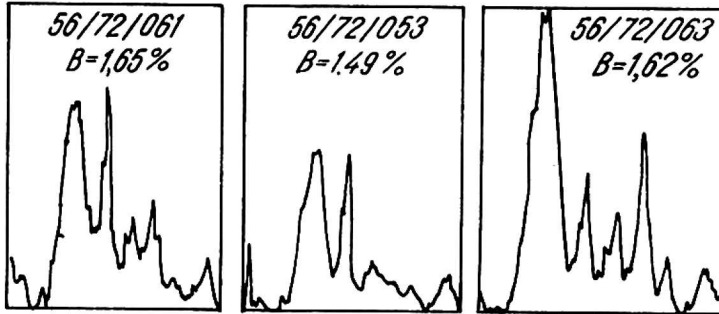
Bulwy ziemniaków zawierają dużą ilość białkowych inhibitorów trypsyny, chymotrypsyny i wielu peptydaz. Przypisuje się im różne role fizjologiczne, lecz z pewnością biorą udział w regulacji metabolizmu białek.

Porównywano aktywność inhibitorów trypsyny i chymotrypsyny z zawartością białka w świeżej masie w pięciu populacjach mieszańców w grupie odmian. Między zawartością białka a aktywnością antytrypsynową występuje wyraźna korelacja (w granicach 0,61-0,67). Można więc przypuszczać, że inhibitory trypsyny mają związek z zawartością białka. W badanym materiale znaleziono ogółem 12 form inhibitorów trypsyny różniących się ruchliwością elektroforetyczną. Występowały one w różnych ilościach i kombinacjach u poszczególnych rodów i odmian. Niektóre izoinhibitory spotykano znacznie częściej u bogatych w białko odmian niż u odmian

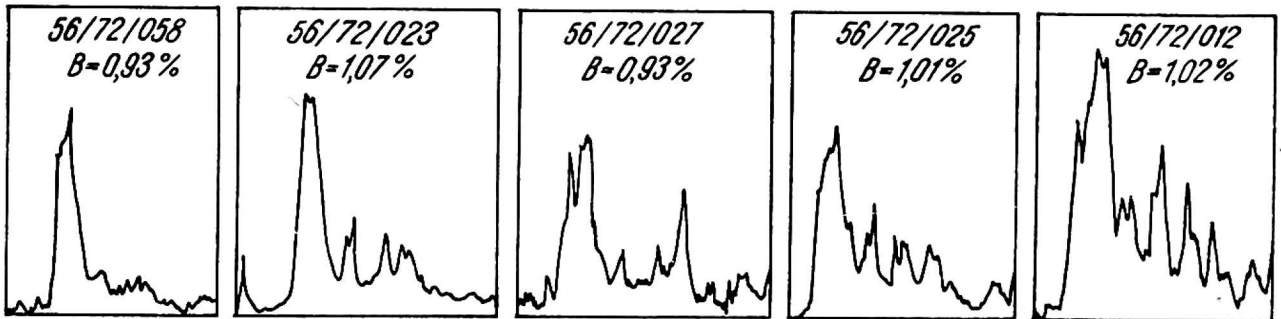




I

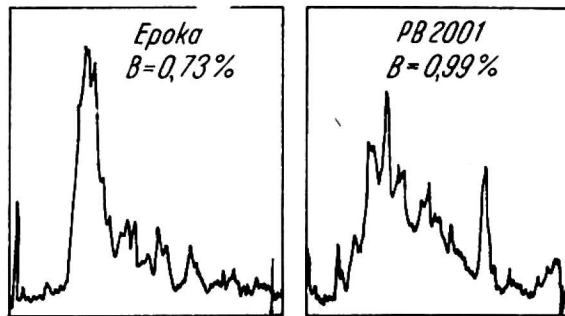


II

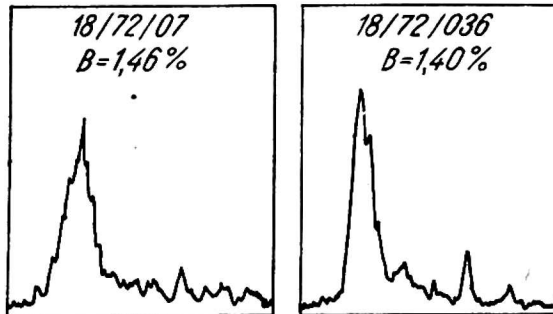


III

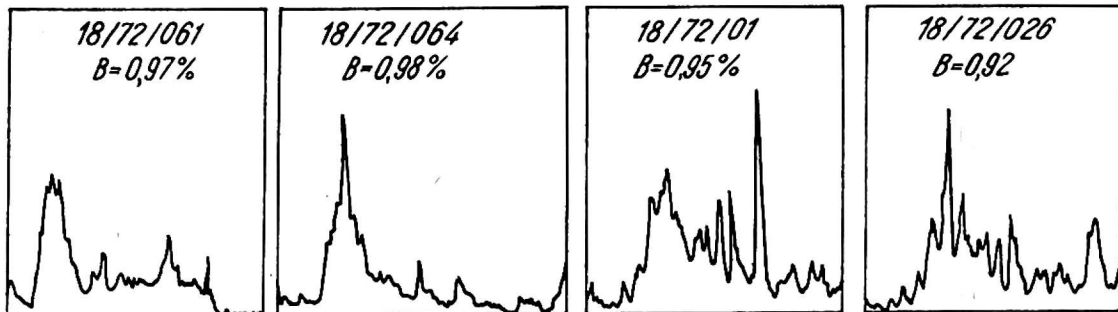
+ ← -  
Rys. 2c



I

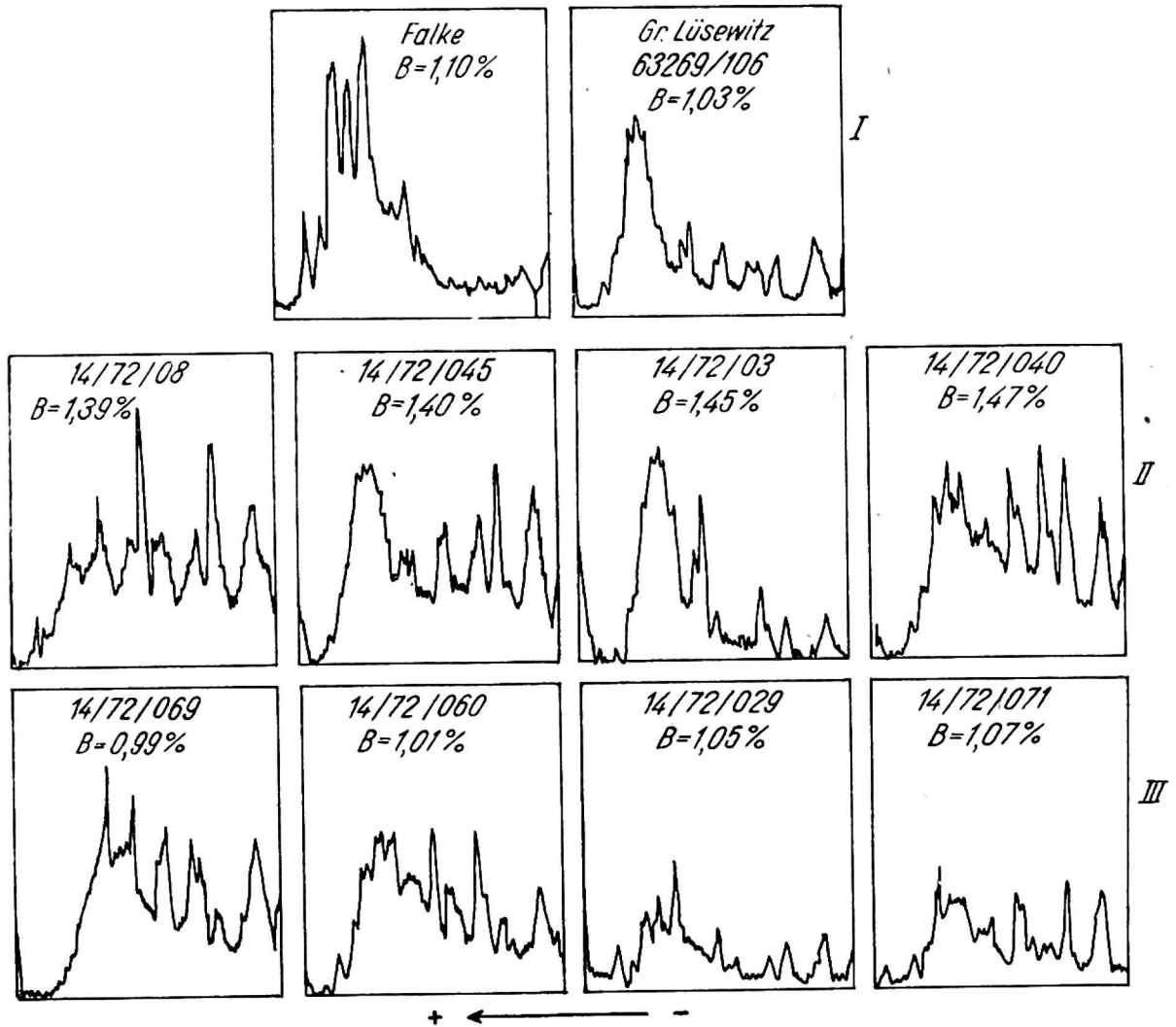


II



III

+ ← -  
Rys. 2d



Rys. 2 *a, b, c, d, e*. Densytogramy białek bulw rozdzielonych elektroforetycznie w żelu poliakrylamido-agarozowym i barwionych zieloną trwałą FCF. Rzędy: I — obrazy elektroforetyczne rodziców, II — wybrane z populacji rodów o zwiększonej zawartości białka, III — rodów o najniższej zawartości białka. Podano zawartości białka (*B*) w świeżej masie

Fig. 2 *a, b, c, d, e*. Densitograms of tuber proteins separated electrophoretically on polyacrylamide-agar gel and stained with fast green FCF. Rows: I — electrophoretical patterns of parents, II — selected from population of clones with high protein content, III — clones with the lowest protein content

niskobiałkowych, co sugeruje, że obecność właśnie tych form decyduje o zawartości białka (tab. 1). Mieszance 5 populacji, mimo dużej zmienności zawartości białka, nie różniły się tak wyraźnie częstotliwością występowania inhibitorów. Można to wyjaśnić bliskim pokrewieństwem tych rodów i stąd mniejszym zróżnicowaniem izoinhibitorów. Na zawartość białka wpływałaby zatem nie tylko obecność lub brak niektórych izoinhibitorów, lecz również ich aktywność. Należy się spodziewać, że oznaczenie aktywności właściwej poszczególnych izoinhibitorów trypsyny będzie usprawnieniem hodowli. Z wstępnych badań już wiadomo, że genetyczna determinacja izoinhibitorów trypsyny jest bardzo złożona, co świadczy o skomplikowanej budowie tych białek.

Wysoka aktywność inhibitorów trypsyny w ziemniakach o większej zawartości białka nie powinna wpływać na przyswajalność białka w układzie pokarmowym

Tabela 1

Izoinhibitory trypsyny bulw ziemniaków o małej i dużej zawartości białka  
 Trypsin isoinhibitors in tubers of potatoes with high and low protein content

Odmiany — Varieties	Numer izoinhibitora — Isoinhibitor No.											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
(a)												
Baca				+	+							
Sieglinde							+	+				
Bem	+			+	+					+		
Bintje		+		+	+							
Bolko	+	+			+							
Epoka	+	+			+	+						
Prof. Broekema	+	+		+								
Smak				+	+						+	
Uran	+			+	+						+	
Pierwiosnek		+		+	+							
(b)												
Maritta	+			+	+				+	+		
Łosickij	+	+	+		+		+	+	+			
Electre	+		+	+	+		+	+	+			
Noordeling	+		+	+	+	+	+	+	+			
Lori				+	+	+	+	+	+	+	+	+
Erdkraft	+	+		+	+				+	+		
Kwinta	+	+	+	+	+				+			
Oberarnbacher Fruhe	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Rode Eersteling	+		+		+				+			
Częstotliwość (a)	50	50	0	70	90	10	10	10	40	0	0	0
Występowania (%)												
Frequency of occurrence in per cent (b)	89	45	67	78	100	33	55	100	78	11	11	11

a — Białko poniżej 1% świeżej masy — Protein content below 1% in fresh matter.

b — Białko powyżej 1,3% świeżej masy — Protein content above 1,3% in fresh matter.

zwierząt. Z badań wielu autorów [2, 5, 6] wynika, że inhibitory proteaz denaturują się tylko częściowo w wysokiej temperaturze, nie są trawione przez pepsynę i część ich przedostaje się do dwunastnicy w formie aktywnej. Jednak obecność inhibitorów w dwunastnicy wywołuje zwiększone wydzielanie soku trawiennego z trzustki i aktywność proteolityczna w przewodzie pokarmowym, nie maleje lecz wzrasta.

#### LITERATURA

1. Desborough S., Peloquin S. J.: Potato Variety Identification by Use of Electrophoretic Patterns of Tuber Proteins and Enzymes., American Potato J., 45, 220, 1968.
2. Janicki J., Warchalewski J., Skupin J., Kowalczyk J.; Inhibitory trypsyny pochodzenia roślinnego, Post. Bioch. 16, 101-108, 1970.

3. Potty V. H.; Determination of Proteins in the Presence of Phenols and Pectins, *Analyt. Bioch.* 29, 535-539, 1969.
4. Stegemann H., Francksen H., Macko V.; Potato Proteins: Genetic and Physiological Changes Evaluated by One-and Two-dimensional PAA-Gel-techniques., *Z. für Naturforsch.* 28, 11/12, 722-732, 1973.
5. Worowski K.: Aktywność antyproteolityczna i hemoaglutynacyjna różnych odmian ziemniaka (*Solanum tuberosum*), *Bromat. Chem. Toksykol.*, VII, 2, 223-231, 1974.
6. Worowski K., Farbiszewski R.: Badania nad rolą inhibitorów proteaz z bulw ziemniaka w trawieniu pokarmów białkowych. *Acta physiol. pol.* 14, 360, 1973.
7. Zwarz J. A.: Potato Varieties and their Protein Electro-pherogram Characteristics. *European Potato J.*, 9, 111, 1966.

*Й. Левosz*

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРОТЕИНА КЛУБНЕЙ В СИНТЕЗЕ ВЫСОКОБЕЛКОВОГО КАРТОФЕЛЯ

#### Резюме

Вели работу по разысканию простых методов оценки материалов предназначенных к синтезу кормового картофеля, а также способов отбора родительского материала к увеличению возможности получения потомства с повышенным содержанием белка в клубнях.

Обработали простой и скорый тест для оценки селекционного материала. На основании величины  $\Delta E$  (определённой по методу Потты/3), зависимой от содержания белков в сухом весе и содержания сухого веса клубней можно определить, содержит ли картофель одновременно большое количество обоих компонентов. Возможно, что содержит только один из компонентов или вообще ни одного.

Сравнительный электрофорез белков клубней пяти популяций и их родителей не показал существенных разниц ни сходства электрофоретических образов между группами родов с высоким и низким содержанием белков.

Нашли зависимость между активностью белковых ингибиторов трипсина и содержанием белков. Некоторые из 12 форм ингибиторов проявлялись чаще чем остальные у высокобелковых родов. Изучение способов наследственности этих ингибиторов даст возможность такого отбора родительского материала, чтобы получить потомство с большой активностью ингибиторов и высоким содержанием белка.

Ингибиторы трипсина проникают в двенадцатиперстную кишку животных в виде активных форм. Однако они не обязаны обижать процессов ассимиляции пищи, так как они увеличивают секрецию поджелудочной железы.

*J. Lewosz*

### THE USE OF RESEARCH ON POTATO TUBER PROTEINS IN SYNTHESIS OF PARENTAL LINES WITH HIGH PROTEIN CONTENT

#### Summary

The aim of the work was to find a simple and useful method for the evaluation of breeding materials and for the selection of parents for breeding feed potato. A quick and simple test was developed. On the basis of  $\Delta E$  values (estimated by Potty method), which depended on the content



of protein and dry matter in tubers it is possible to separate the tubers into three classes: a) with high content both of proteins and dry matter; b) with high content of one of them; c) with low content of both.

Comparative electrophoresis of tuber proteins in 5 progenies and their parents did not show any essential differences in electrophoretic patterns of high-protein and low-protein groups of clones.

Tuber protein content was correlated with trypsin inhibitors activity. Several out of 12 isoinhibitors occur more often in high-protein clones than other isoinhibitors. Knowledge of the inheritance of these inhibitors will be helpful in screening parents for high antitryptic activity and high protein content in the progeny.

Trypsin inhibitors may enter into the duodema as active forms, but they should not decrease the food assimilation, because they intensify pancreatic juice secretion.