

WARTOŚĆ BIOLOGICZNA MATERNALNIE ZRÓZNICOWANYCH
NASION BOBIKU (VICIA FABAE L. SPP. MINOR)*

Ryszard Górecki, Eugeniusz Sójka

Instytut Biologii Roślin
Akademii Rolniczo-Technicznej w Olsztynie

WSTĘP

Duża zmienność osobnicza roślin bobiku jest wynikiem biologicznego zróżnicowania nasion. Zróżnicowanie to ma źródło genetyczne, siedliskowe i maternalne [20, 23, 27].

Zmienność genetyczna powstaje w wyniku łączenia różnorodnych gamet rodzicielskich [8, 11]. Zmienność ekologiczna nasion jest następstwem wpływu zróżnicowanych warunków środowiska na roślinę oraz na formujące się, dojrzewające i przechowywane nasiona [1, 10, 11]. Zmienność maternalna nasion powstaje natomiast wskutek fizjologicznego i biochemicznego zróżnicowania nasion formujących się w różnych częściach owocostanu na roślinie macierzystej. Jest ona silnie zaznaczona u roślin strączkowych, cechujących się rozrzuconym typem kwiatostanu [5, 17].

U bobiku pierwsze dolne grona zawiązują się i zakwitają zwykle wcześniej niż grona górne. Powstają one zatem na niejednorodnych fizjologicznie tkankach, które w części dolnej łodygi przeszły już indukcję fotoperiodyczną, zaś w górnej części wykazują jeszcze wrażliwość na światło [28]. Dodatkowym elementem pogłębiającym maternalne zróżnicowanie nasion są warunki troficzne. Do nasion bowiem dopływają różne ilości substancji odżywczych, na co w dużym stopniu wpływa niejednakowa aktywność fotosyntetyczna liści.

Formowaniu nasion w różnych partiach łodygi towarzyszą niejednakowe czynniki termiczne, świetlne i wilgotnościowe. Wymienione czynniki w dużym stopniu warunkują stan dojrzałości i skład chemiczny nasion, na co wskazuje duże zróżnicowanie ich materiałów zapasowych. Z reguły nasiona później wykształcone posiadają więcej

* Badania wykonano w ramach problemu 19/PR-4; koordynowanego przez Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin.

nej tego organu. Prace Mierzwińskiej i Sójki [15] wskazują również, że czynnik maternalny odgrywa istotną rolę w zróżnicowaniu nasion roślin strączkowych. Na przykład u bobiku grona środkowe i dolne wydają zazwyczaj nasiona dorodniejsze, o większej żywotności, niż grona górne.

Wiadomości z zakresu maternalnego zróżnicowania nasion roślin strączkowych, a szczególnie łąbinu, są jednakże fragmentaryczne i dotyczą tylko w niewielkim stopniu oddziaływania rośliny macierzystej na ich skład chemiczny i wartość reprodukcyjną. Dlatego też podjęcie tego typu badań wydawało się celowym. W niniejszej pracy oprócz charakterystyki fizjologicznej nasion łąbinu pochodzących z różnych pięter w gronie, przedstawiono wyniki badań białek oraz aktywności niektórych enzymów.

MATERIAŁ I METODY

Łubin żółty odmiany Tomik uprawiano na poletkach Instytutu Biologii Roślin AR-T w Olsztynie w roku 1976 i 1977. Nasiona w stopniu super elita wysiewano w czterech powtórzeniach, w układzie niezależnym, na poletkach o wymiarach 16 x 6 m. Wysiewu dokonywano na początku kwietnia, a zbioru w pierwszych dniach września. Dopomiarów biometrycznych brano po 60 roślin z poletka. Nasiona do badań fizjologicznych i biochemicznych pobierano z trzech poziomów owocostanu pędu głównego. W roku 1976 pobierano oddzielnie ze strąków z okółka górnego, środkowego i dolnego, wybierając rośliny z trzema okółkami strąków w gronie pędu głównego. W 1977 natomiast według niżej zamieszczonego schematu:

Partia nasion (w dalszym to- ku pracy zwana okółkiem)	Liczba okółków w gronie pędu głównego					
	3	4	5	6	7	8
górna	I	I	I, II	I, II	I, II	I, II, III
środkowa	II	II, III	III, IV	III, IV	III, IV, V	IV, V, VI
dolna	III	IV	V	V, VI	VI, VII	VII, VIII

I-VIII - cyfry rzymskie - oznaczają kolejne okółki, numerowane począwszy od wierzchołka grona.

Materiał zebrany w 1976 r. wykorzystano również do badań wła-

ściwości reprodukcyjnych nasion poszczególnych okółków, wysiewając go na poletkach o pow. 2 x 2 m.

Energię i zdolność kiełkowania nasion określano w temperaturze 20°C, według zaleceń ISTA, bezpośrednio po zbiorze oraz po 20 i 50 dniach przechowywania w stanie powietrznie suchym. Analizowano całe nasiona, a w niektórych przypadkach również pozbawione okryw liścienie.

Suchą masę określano po wysuszeniu nasion do stałego ciężaru w temperaturze 130°C. Zawartość azotu ogólnego i niebiałkowego (po ekstrakcji 12% TCA) oznaczano metodą Kjeldahla. Białka frakcjonowano na podstawie ich rozpuszczalności przyjmując następujący tok postępowania, opracowany na podstawie prac Mironienki [16], Basha i Beeversa [3], Derbyshire i wsp. [4] oraz własnych doświadczeń wstępnych: 1 g próbki mączki liścieni rozcierano w moździerzu z 15 ml H₂O przez 1 godzinę w temperaturze 0°C. Następnie wirowano przez 20 min w temperaturze 0°C przy 20 000 x g, nadsącz zlewano, a osad ekstrahowano ponownie w 10 ml H₂O przez 15 min. Po odwirowaniu, połączone nadsącze uzupełniano do 25 ml i dodawano do nich 25 ml 15% TCA. Próbkę pozostawiano na noc w temp. 4°C, a następnie wirowano przy 6000 x g przez 15 min. Wytrącony osad albumin rozpuszczano w 10 ml 1 N NaOH.

Osad po ekstrakcji wodnej zadawano 15 ml zimnego (0°C) 1 M roztworu NaCl w 20 mM buforze fosforanowym o pH 7,2 z dodatkiem 1 mM ditiotreitolu (DTT, Loba Chemie) i 1 mM fluorku fenylometylosulfonowego (PMSF, Serva). Homogenat mieszano przez 1 godz., wirowano (20 000 x g, 15 min 0°C) i osad poddawano ponownej ekstrakcji przez 15 min. Do połączonych nadsączów dodawano (NH₄)₂SO₄ do 60% nasycenia, mieszano przez 2 godz. w chłodni i wirowano (12 000 x g, 20 min, 0°C). Uzyskany osad globulin leguminopodobnych rozpuszczano w 10 ml 1 N NaOH. Z nadsącza wytrącano natomiast globuliny vicilinopodobne, dodając równą objętość 15% TCA i przetrzymując próbkę przez noc w temp. około 4°C. Po odwirowaniu białka tej frakcji rozpuszczano również w 10 ml 1 N NaOH.

Tak zwane białka resztkowe ekstrahowano z osadu po ekstrakcji solnej, zadając go 0,2% NaOH i ogrzewając przez 1 godzinę w 37°C.

Zawartość białka w poszczególnych frakcjach oznaczano metodą mikrobiuretową lub Lowry [2], używając albuminy krwi wołowej (Serva) do wykreślenia krzywej wzorcowej.

Frakcjonowanie białek wykonano w czterokrotnym powtórzeniu dla każdej partii nasion.

Aktywność peroksydazy oznaczano w oparciu o metodę Rychter i Lewaka [24]. 1 g próbkę mączki liścieni, homogenizowano w moździerzu z 16 ml 0,9% NaCl w temperaturze 0°C, ekstrahowano przez 30 min i wirowano (20 000 x g, 20 min 0°C). Osad ekstrahowano ponownie i wirowano. Połączone nadsącze dopełniano do 25 ml (ekstrakt enzymu). Mieszanina reakcyjna zawierała 1 ml 2 mM roztworu benzydyny, 1 ml 0,1 M buforu octanowego o pH 5,0, 0,25 ml 0,2 M roztworu H₂O₂ i 0,25 ml ekstraktu enzymu. Przyrost ekstynkcji $\Delta E_{590 \text{ nm}}^{1 \text{ cm}}$ określano dokładnie po 1 minucie inkubacji w temperaturze pokojowej. Za jednostkę aktywności peroksydazy przyjęto taką ilość enzymu, która w warunkach metody powodowała przyrost ekstynkcji o jednostkę w ciągu 1 minuty.

Aktywność enzymów proteolitycznych oznaczano w sposób następujący: Wyciąg enzymów przygotowywano jak w przypadku peroksydazy, jedynie 0,9% roztwór NaCl zawierał 0,02% dodatek NaN₃. Aktywność aminopeptydazową i trypsynopodobną nazwaną przez nas BANAazową (dla odróżnienia od endopeptydazowej badanej w innym pH i na innym substracie), określano na podstawie ilości uwolnionego p-nitroanilidu z L-leucylo-p-nitroanilidu (Leu-Nan, Merck) i L-N-benzyl-DL-arginylo-p-nitroanilidu (Bz-Arg-Nan lub BANA, Merck), w oparciu o metodę Siepena i wsp. [25]. W przypadku aminopeptydazy mieszaninę reakcyjną złożoną z 0,25 ml Leu-Nan (6 mM w 25% metanolu), 1 ml 0,1 M buforu fosforanowego o pH 7,2 i 25 μ l ekstraktu enzymu inkubowano przez 30 min w temp. 37°C. Reakcję przerywano 1 ml 1 M buforu cytrynianowego o pH 2,0 i mierzono ekstynkcję przy 405 nm. Aktywność BANAazową określano natomiast inkubując próbki złożone z: 50 μ l Bz-Arg-Nan (6 mM roztwór w dwumetyloformamidzie), 1 ml 0,1 M buforu K-fosforanowego o pH 8,6 i 0,25 ml ekstraktu enzymu, przez 2 godziny w 37°C. Dalej postępowano jak przy oznaczaniu aktywności aminopeptydazy.

Ilość enzymu jaka hydrolizowała 1 μ mol Leu-Nan lub Bz-Arg-Nan w warunkach metody w ciągu 1 min przyjęto za jednostkę aktywności. Przy przeliczaniu stosowano współczynnik ekstynkcji $E_{405 \text{ nm}} = 9620 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ [18].

Aktywność endopeptydazową oznaczano używając nitrowanej kazeiny jako substratu (casein yellow, Calbiochem) [27], 0,25 ml substratu (0,5% w 5 mM buforze K-fosforanowym o pH 6,7 z dodatkiem 0,2% NaN₃) inkubowano z 1 ml 0,1 M buforu K-fosforanowego, pH 6,2 i 0,25 ml ekstraktu enzymu, przez 18 godz. w 37°C. Reakcję przerywano 1 ml 15% TCA. Po schłodzeniu próbki wirowano (14 000 x g,

5 min) i przy 422 nm mierzono ekstynkcję mieszaniny złożonej z 1 ml nadsącza oraz 1 ml 5 M KOH. Przyrost ekstynkcji ($\Delta E_{422 \text{ nm}}^{1 \text{ cm}}$) o 0,1, w przeliczeniu na 1 ml na godzinę przyjęto za jednostkę aktywności enzymu [18].

Aktywność antytrypsynową białek nasion łubinu określano w oparciu o szybkość hydrolizy Bz-Arg-Nan przez trypsynę (Serva). Ekstrakcję białek prowadzono podobnie jak opisano przy peroksydazie, przy czym roztwór NaCl sporządzany był w 0,05 M buforze fosforanowym o pH 7,1 i zawierał 0,02% dodatek NaN_3 . Wykonując próby właściwe 50 μl ekstraktu białek preinkubowano w temperaturze pokojowej przez 5 min. z 30 μl trypsyny (0,25 mg w 1 ml 1 mM HCl), następnie dodawano 1 ml 0,1 M buforu Tris-HCl o pH 7,6 ogrzewano próbki do 37°C i wprowadzano 0,1 ml roztworu substratu (6 mM w dwumetylo-formamidzie). Po 30 min inkubacji w 37°C reakcję przerywano 1 ml 1 M buforu cytrynianowego o pH 2,0. Ilość uwolnionego p-nitroanilidu mierzono przy 405 nm wobec próby zerowej złożonej z substratu i buforów. Dla określenia aktywności inhibicyjnej białek (wyrażonej w mg zinaaktywowanej trypsyny) wykonywano również próby kontrolne - z pominięciem ekstraktu (K_I) oraz z ekstraktem, lecz bez enzymu (K_{II}).

Badania aktywności enzymatycznej i inhibicyjnej wykonano w dwóch seriach, po 3 powtórzenia w każdej.

Elektroforeza białek w żelu poliakryloamidowym. Rozdzielaniu elektroforetycznemu poddawano albuminy ekstrahowane z liścieni. 1 g próbki homogenizowano z 15 ml 1 M NaCl w 20 mM buforze fosforanowym o pH 7,0. Po 1 godzinie ekstrakcji wirowano (20 000 x g, 20 min 0°C), nadsącze zlewano, a osady ekstrahowano powtórnie. Po odwirowaniu nadsącze łączono i wysalano z nich białka, stosując 0,7 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ na ml. Wytrącone białka (po 1 godz. w chłodni) odwirowywano (6 000 x g, 20 min 0°C) i rozpuszczano w 10 ml 5 mM buforu fosforanowego pH 7,0 zawierającego dodatek 0,2 M NaCl. Po rozpuszczeniu roztwór dializowano przez 48 godzin wobec wody destylowanej w chłodni i wirowano.

Znajdujące się w nadsączu albuminy rozdzielano w 7,5% żelu poliakryloamidowym spreparowanym według metody Keletiego i Lerdera [10]. Na żele o wymiarach 7 x 0,5 cm наносzono 0,1 ml próbki (około 200-300 μg białka). Elektroforezę prowadzono przez około 2,0 godz. stosując natężenie prądu 5 mA na rurkę. Zele barwiono 1% roztworem czerni amidowej w 7,5% kwasie octowym przez 1 godzinę. Po odbarwieniu tła (7,5% kwasem octowym) zele densytometrycznie, używając aparatu firmy Vitatron.

Charakterystyka biometry-
wrosłych z nasion materialnie

Rośliny wrosłe z nasion okółka	Pę- dy	Dłu- gość roś- liny w cm	Liczba węzłów	Międzywę- źla wię- żące strę- ki okółka dolnego	Liczba strąków w okółku				
					I	II	III	IV	V
Górnego	G	35,53	12,80	9,63	3,66	2,64	2,76	2,55	1,00
	R ₁	24,27	9,44	9,03	2,51	1,87	1,25	1,00	-
	R ₂	17,17	7,26	7,32	1,17	1,00	-	-	-
Środko- wego	G	36,38	13,31	10,14	3,47	2,82	2,22	1,56	1,67
	R ₁	22,80	9,46	8,75	2,68	2,08	1,64	1,67	
	R ₂	17,74	7,37	7,27	1,60	1,00	-	-	
Dolnego	G	34,82	13,88	9,81	4,73	3,01	2,60	2,35	2,81
	R ₁	24,39	8,78	8,08	2,58	1,99	1,83	2,81	
	R ₂	19,91	8,47	5,28	3,17	1,67	-	-	
NRU p=0,05	G	2,29	1,32	0,83	1,58	0,20	0,53	0,98	1,55
	R ₁	2,33	3,98	2,09	0,07	0,27	1,11	1,55	
	R ₂	2,55	2,28	3,07	2,66	0,76	-	-	

G - pęd główny; R₁; R₂ - pędy boczne.

czna roślin łąbinu żółtego
zróżnicowanych, ze zbioru 1976

Liczba nasion w okółku					Masa nasion w okółku wg					Plon nasion z rośliny wg
I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V	
15,45	9,46	7,86	7,07	3,00	1,96	1,29	0,95	0,85	0,52	
7,85	4,76	2,22			0,81	0,51	0,32			4,98
3,08	-				-	-				
15,00	10,99	7,90	6,04	6,66	1,78	1,37	1,00	0,63	0,82	
9,14	5,93	4,70			0,96	0,63	0,51			5,22
4,39	2,66				0,48	0,27				
17,52	11,91	9,26	6,67	4,31	2,22	1,51	1,00	0,84	0,59	
7,67	6,09	3,35			1,05	0,67	0,46			6,54
5,41	3,16				0,57	0,35				
1,58	1,29	1,40	2,48	3,18	0,51	0,14	0,34	0,16	0,43	
2,68	0,80	0,92			0,12	0,04	0,23			0,51
1,04	2,15				0,29	0,12				

WYNIKI

Rośliny wyrosłe z nasion pochodzących z różnych pięter w gronie nie różniły się między sobą w sposób istotny (tab. 1). Dotyczyło to szczególnie ilości międzywęźli i węzłów wiążących strąki. Jedynie rośliny wyrosłe z nasion środkowego okółka były nieco dłuższe od pozostałych. Obserwowano natomiast pewne różnice w plonie nasion z jednej rośliny.

W obydwu latach analiz masa 1000 nasion różniła się dość znacznie (tab. 2). W roku 1976 najdrobniejsze nasiona występowały w okółku górnym, w 1977 natomiast w okółku dolnym.

T a b e l a 2

Charakterystyka maternalnie zróżnicowanych nasion łąbinu żółtego, ze zbiorów w latach 1976 i 1977

Okółek	Masa 1000 nasion wg	Energia kiełkowania		Średni czas kiełkowania		
		po zbiorze	po 20 dniach przechowywania	po zbiorze	po 20 dniach przechowywania	po 50 dniach przechowywania
1976						
Górny	153,2	100	100		2,13	
Środkowy	157,5	100	100		1,93	
Dolny	157,1	100	100		2,00	
NRU $p=0,05$	3,4					
1977						
Górny	110,4	100	99	2,60	2,08	3,57
Środkowy	104,8	94	98	2,62	2,22	2,81
Dolny	102,5	86	98	3,58	2,22	3,36
NRU $p=0,05$	3,1					

Analizy żywotności nasion wykazały, że nie posiadały one spoczynku głębokiego (tab. 2). Jedynie w roku 1977, bezpośrednio po zbiorze, pewne oznaki spoczynku wykazywały nasiona piętra dolnego, charakteryzujące się najniższą energią i najdłuższym czasem kiełkowania. Sądząc po średnim czasie kiełkowania najżywotniejsze nasiona pochodziły z okółka środkowego. Wskazywałaby na to również

Aktywność peroksydazy enzymów proteolitycznych i inhibitorów trypsyny w maternalnie zróżnicowanych nasionach łąbinu żółtego. Aktywność enzymów wyrażono w jednostkach aktywności, aktywność inhibicyjną w mg zinktywowanej trypsyny. Wyniki podano w przeliczeniu na 1 g świeżej masy

Okółek	Peroksydaza	Amino-peptydaza	BANAaza	Endopeptydaza	Inhibitory trypsyny	
					mg zinkt. trypsyny	% inhibicji
1976						
Górny	34,5	3,27	0,118	43,8	0,56	20,2
Środkowy	37,4	3,32	0,121	48,1	0,54	19,5
Dolny	34,1	3,23	0,118	43,6	0,58	21,7
NRU $p=0,05$	2,0	0,13	-	3,0	-	-
1977						
Górny	40,5	3,65	0,171	49,7	0,36	14,0
Środkowy	45,8	3,64	0,170	45,1	0,29	11,0
Dolny	42,8	3,54	0,169	47,6	0,39	16,0
NRU $p=0,05$	2,0	0,15	0,020	4,2	-	-

T a b e l a 4

Bilans związków azotowych w maternalnie zróżnicowanych nasionach łąbinu żółtego, ze zbiorów w latach 1976 i 1977. Wyniki podano w procentach suchej masy

Okózek	N-ogólny		N-niebiał- kowy rozpusz- czalny	Białko ($N_{og.} - N_{niebiałk.} / 6,25$)	
	całe nasiona	liścienie		całe nasiona	liścienie
1976					
Górny	7,37	7,63	0,39	43,6	45,3
Środkowy	7,40	7,84	0,39	43,8	46,6
Dolny	7,35	7,56	0,39	43,5	44,8
1977					
Górny	6,84	7,14	0,41	40,2	42,1
Środkowy	6,95	7,32	0,47	40,5	42,8
Dolny	7,09	7,50	0,63	40,3	42,9

aktywność peroksydazy, świadcząca o najwyższym natężeniu procesów oksydoredukcyjnych w tej partii nasion (tab. 3).

W badaniach enzymów proteolitycznych w roku 1976 stwierdzono również nieco wyższe ich aktywności w nasionach okółka środkowego. Jedynie w roku 1977 wyraźnie od prawidłowości tej odbiegała aktywność endopeptydazy.

Aktywność inhibitorów trypsyny wykazywała natomiast odwrotną tendencję (tab. 3). W obydwu latach analiz najniższą inhibicję stwierdzono w nasionach okółka środkowego, a najwyższą w okółku dolnym.

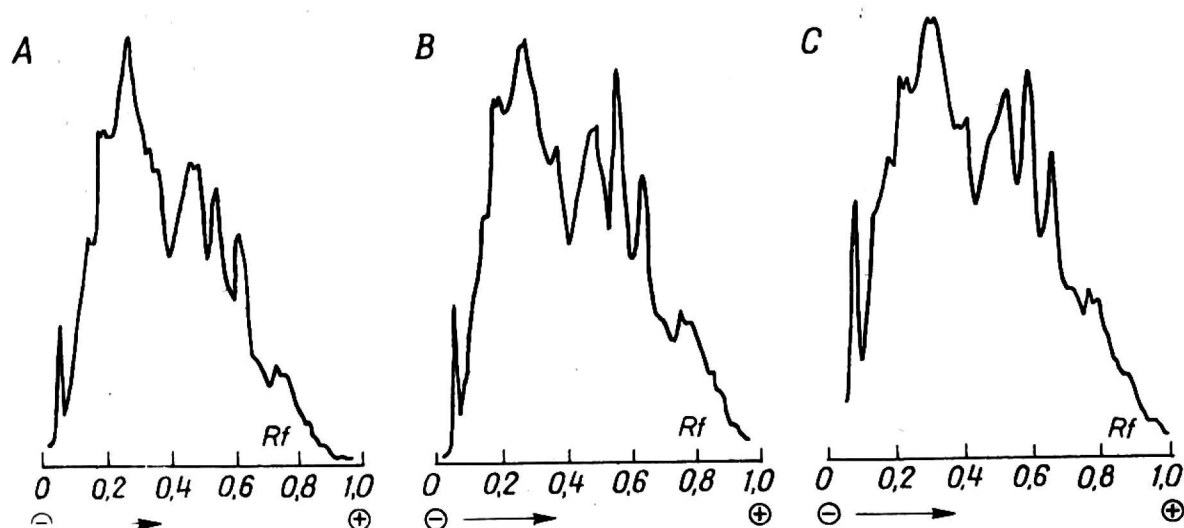
Rozpatrując bilans związków azotowych (tab. 4) nie dostrzega się wyraźnego zróżnicowania pomiędzy zawartością azotu ogólnego w nasionach poszczególnych okółków. Nieco wyższą zawartość tych substancji stwierdzono jedynie w liścieniach nasion środkowego okółka w roku 1976 i dolnego w roku 1977. Tendencja ta dotyczyła również zawartości białka. Ilościowe analizy poszczególnych frakcji białkowych wykazały natomiast najwyższą zawartość albumin, globulin vicilinopodobnych i sumy białek rozpuszczalnych w nasionach środkowego okółka w obydwu latach analiz (tab. 5). W nasionach ma-

T a b e l a 5

Zawartość frakcji białkowych w maternalnie zróżnicowanych nasionach łąbinu żółtego, ze zbiorów w latach 1976 i 1977. Wyniki podano w mg białka w przeliczeniu na 1 g suchej masy

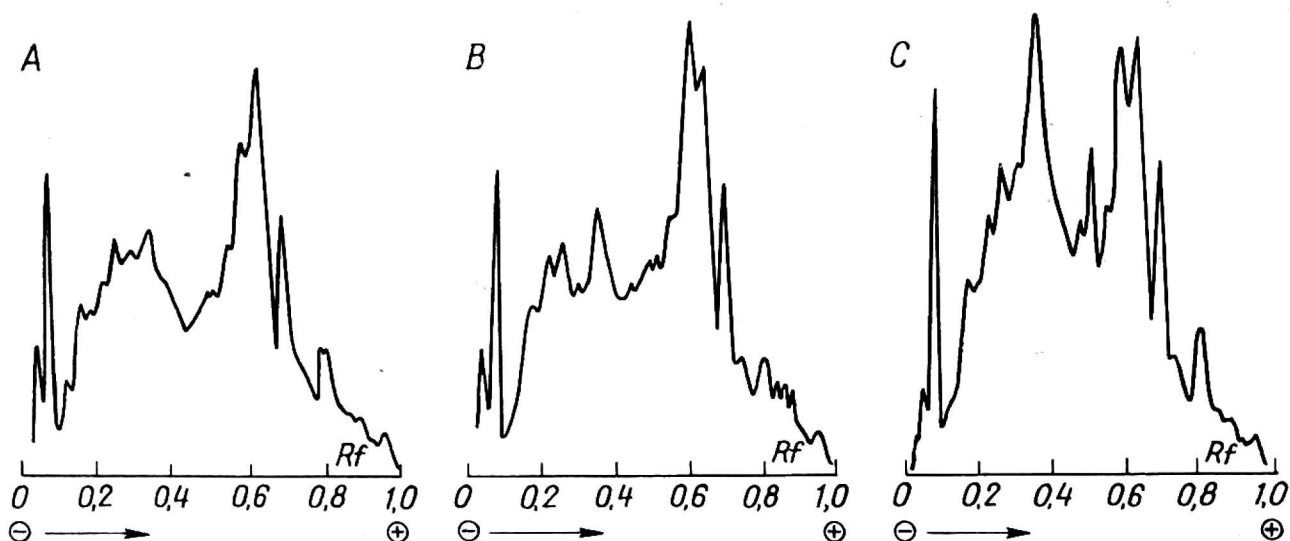
Okółek	Albuminy	Globuliny		Suma białek rozpuszczalnych	Białko reszkowe	Razem
		legumino- podobne	vicilino- podobne			
1976						
1976						
Górny	76,6	227,4	109,0	413,0	4,5	417,5
Środkowy	88,5	239,5	113,6	441,6	4,5	446,1
Dolny	86,8	228,5	112,5	427,8	4,4	432,1
1977						
Górny	107,5	171,2	112,5	391,2	32,5	423,7
Środkowy	111,3	181,2	118,7	411,2	29,3	440,5
Dolny	110,0	182,5	117,5	410,0	31,2	441,2

ternalnie zróżnicowanych stosunkowo największe różnice w zawartości białek poszczególnych frakcji dotyczyły albumin. Z tego też względu frakcję tę poddano charakterystyce elektroforetycznej.



Rys. 1. Densytogramy rozdziałów elektroforetycznych albumin nasion łąbinu żółtego. Materiał ze zbioru w roku 1976. A - nasiona okółka górnego, B - nasiona okółka środkowego, C - nasiona okółka dolnego

Wykresy densytometryczne wskazują na znaczną heterogenność albumin nasion łąbinu (rys. 1 i 2). Niezależnie od miejsca położenia nasion w gronie i roku analiz, posługując się opisaną wcześ-



Rys. 2. Densytogramy rozdzielów elektroforetycznych albumin nasion łąbinu żółtego. Materiał ze zbioru w roku 1977. A - nasiona okółka górnego, B - nasiona okółka środkowego, C - nasiona okółka dolnego

niej metodą elektroforezy, białka te rozdzielano na około 20 frakcji. W obydwu latach badań obserwowane zróżnicowanie w obrazach elektroforetycznych dotyczyło raczej zawartości białka w poszczególnych frakcjach, a nie różnic jakościowych. Różny był szczególnie stosunek ilości białka we frakcjach o R_f 0,2-0,45 do ilości białka we frakcjach o R_f 0,45-0,70. Białek o mniejszej ruchliwości elektroforetycznej (R_f 0,2-0,45) stwierdzono szczególnie dużo w nasionach ze zbioru 1976 oraz w nasionach okółka dolnego w 1977 roku. Stosunek ilościowy białek o tej ruchliwości do białek o R_f 0,45-0,70 był większy w nasionach okółka górnego (zwłaszcza w 1976 r.) i dolnego (zwłaszcza w 1977 r.) w porównaniu z białkami nasion okółka środkowego.

DYSKUSJA

Z niektórych danych literaturowych [5, 14, 15, 19] wynika, że w kształtowaniu właściwości fizjologicznych nasion łąbinu, podobnie jak w przypadku innych roślin strączkowych, czynnik maternalny może odgrywać dość istotną rolę. Wiąże się to z niejednakowym rozwojem poszczególnych części grona, spowodowanym różnym terminem zapłodnienia kwiatów w kwiatostanie, zróżnicowanym dopływem substancji odżywczych i fizjologicznie czynnych oraz zacienieniem strąków przez liście [11, 26]. Ten ostatni czynnik niewątpliwie

wpłynął na gorszy rozwój strąków okółka dolnego w drugim roku naszego doświadczenia i w związku z tym na wytworzenie drobniejszych nasion. W roku tym obserwowano bowiem znaczny rozwój masy wegetatywnej spowodowany odmiennymi warunkami klimatycznymi (opady) w porównaniu z rokiem 1976.

W warunkach przeprowadzonych przez nas badań nie stwierdziliśmy jednak wyraźnego związku pomiędzy położeniem nasion w gronie a ich zdolnością reprodukcyjną. Niemniej jednak wyniki badań żywotności nasion wskazują na największy potencjał reprodukcyjny nasion pochodzący z środkowej części grona. Potwierdzają to liczne obserwacje donoszące o najwyższych możliwościach reprodukcyjnych nasion ze środkowej części kłosów [11, 19, 26] czy też gron [14, 15].

Wiadomym jest, że żywotność nasion oraz aktywność wzrostowa siewek jest w dużym stopniu uzależniona od aktywności enzymów rozkładających substancje zapasowe oraz ogólnego potencjału oksydo-redukcyjnego w tych częściach nasion [7]. Z tego też względu próbując znaleźć związek pomiędzy żywotnością nasion a niektórymi wskaźnikami biochemicznymi badaliśmy aktywność peroksydazy enzymów proteolitycznych i inhibitorów trypsyny. Interesujące jest, że nawet niewielkie różnice w żywotności nasion znalazły tutaj potwierdzenie. Nasiona ze strąków środkowego okółka charakteryzowały się istotnie wyższą aktywnością peroksydazy w obydwu latach doświadczenia oraz nieco wyższą aktywnością enzymów proteolitycznych w roku 1976. Aktywność inhibicyjna białek w stosunku do trypsyny była tutaj natomiast najniższa. Czy inhibitory te mogą pełnić funkcję fizjologiczną, jak w wielu innych przypadkach [23, 27], pozostaje to oczywiście zagadką. Niemniej jednak obserwacja ta wydaje się interesującą, bowiem poziom inhibitorów trypsyny pozostaje tutaj w odwrotnej zależności z aktywnością trypsynopodobną proteazy hydrolizującej Bz-Arg-Nan.

Wzrost kiełków związany jest między innymi z poziomem białek rozpuszczalnych [7, 11]. Potwierdzeniem tych obserwacji są wyniki niniejszej pracy. W najżywotniejszych nasionach środkowego okółka stwierdzono bowiem najwyższą zawartość albumin, globulin wicielinopodobnych i sumy białek rozpuszczalnych. Pomeranz i wsp. [20] stwierdzili podobne tendencje w maternalnie zróżnicowanych ziarniakach jęczmienia, Górecki natomiast w nasionach grochu [5].

Badania elektroforetyczne wykazały również istnienie pewnych różnic ilościowych w obrębie frakcji albuminowej. Przy zastosowa-

Ryszard Górecki, Jerzy Nowak

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF MATERNALLY
DIFFERENTIATED YELLOW LUPINE SEEDS

S u m m a r y

The relationship between some indices of biological value of maternally differentiated seeds of yellow lupine of Tomic variety on the one hand and the activity of peroxidase, proteolytic enzymes, trypsin inhibitors and quantity and quality of protein on the other, was investigated. It has been found that with the highest reproductive potential distinguished themselves seeds originating from medium part of the bunch. Seeds of that part of inflorescence were characterized also by the highest activity of peroxidase, the highest content of soluble proteins and the lowest level of trypsin inhibitors. In case of proteolytic enzymes and in electrophoretic tests of albumins no such distinct regularities were observed.