

A LABORATÓRIUMI SZELEKCIÓ PROBLÉMÁI A GABONAFÉLÉK FEHÉRJE NEMESÍTÉSÉBEN

GÁSPÁR LÁSZLÓ

a biológiai tudományok kandidátusa

MTA Mezőgazdasági Kutató Intézete, Martonvásár

Ismeretes, hogy a tudományos növénynemesítés közel egy évszázadának, mely az agrotechnika fejlődésével együtt a kultúrnövények termőképességét és termését a korábbiaknak többszörösére fokozta, a fehérjetartalom, főként a cereáliák vonatkozásában áldozatul esett. Egyes megállapítások szerint az európai búza és rozs fajták fehérjetartalma 100 évvel ezelőtt kb. 60%-kal magasabb volt, mint ma. SENGBUSCH (1936) a kiváló német növénynemesítő cikkében lehetségesnek tartja rozsnál, zabnál és árpánál a proteintartalom 200%-os növelését, búzánál pedig a 250–300%-os növelést sem tartja lehetetlennek.

A fehérjetartalom csökkenésének oka, kétségkívül az egyoldalú, termőképességre történt szelekció, melynek kedvez a gabonafélék szervesanyag szintézisének sajátos törvényszerűsége, a nagy fehérjetartalom és alacsony termőképesség összefüggése.

Kukorica vonatkozásában jól ismert JUGENHEIMER (1958) egy kísérlete, aki 28 jelleg korrelációját vizsgálta 145 ismert beltenyésztett törzsből, melyet 1948-ban az USA-ban sok helyen vetett el a környezet-genotípus interakciójának tanulmányozása érdekében — a legerősebb korrelációt $r = -0,522$ -es értéket a termés és az alacsony fehérjetartalom között kapta, ez arra mutat, hogy a fehérjetartalom a termőképességet limitáló faktor is lehet. Ebben az összefüggésben igen érdekes JOHNSON és munkatársainak (1968) a dolgozata, melyben arra hívják fel a figyelmet, hogy egyedül a termőképesség érdekében a gabonák tápértékét nem szabad elhanyagolni, mert hiszen a szükséges mennyiséget a tápérték is meghatározza.

BECKER (1963) igen világosan foglalja össze az ezen a téren lehetséges nemesítői célkitűzéseket, ezek a következők:

- a) az egész fehérjetartalom fokozása,
- b) az egyes limitáló aminosavak mennyiségének növelése,
- c) az aminosavak egymáshoz való arányának megváltoztatása, a fehérje érvényesülés effektivitásának javítása érdekében.

Az alábbiakban azokról a tapasztalatainkról kívánunk beszámolni, melyeket ebben a problémakörben, különböző gabonanövények vonatkozá-

sában kaptunk, a növénynemesítőkkel folytatott hosszú együttműködésünk során.

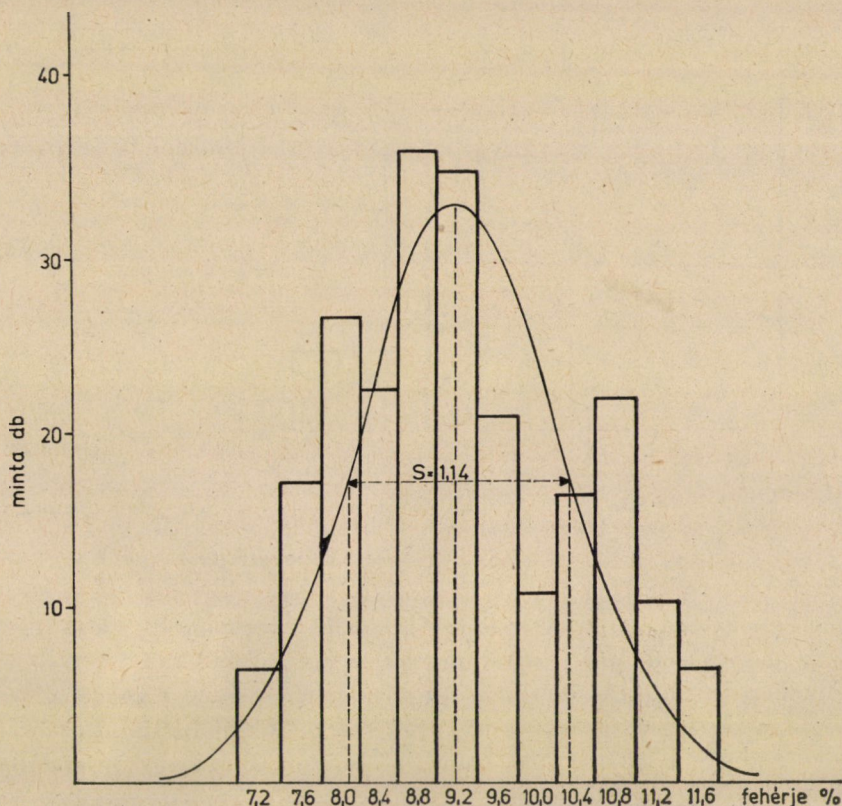
A különböző gabonanövények fehérje mennyiségi és minőségi problémáira néhány saját gyakorlatunkból vett példával utalunk. Legtöbb adatunk a kukoricára vonatkozik, mellyel ebben a vonatkozásban a legbehatóbban foglalkoztunk.

Környezeti tényezők hatása a fehérje tartalomra

Az első kérdés: Van-e elég variabilitás a hazai törzsekben és hibridekben a fehérjetartalom szempontjából és alkalmas lehet-e ez az anyag a fehérjenemesítés céljaira használható típusok kiválasztására.

1961-ben a kukoricanemesítő csoportunk számára megvizsgáltunk 243 db-ból álló beltenyésztett törzs és próbakeresztezés gyűjteményt. Ez az anyag egységes környezeti feltételek mellett került felnevelésre.

A vizsgálatokban 9,4%-os nyersfehérje középértéket találtunk. A fehérje százalékok 7,2%—12,0% között változtak, az értékek megoszlását a gyakoriság szerint az 1. ábra mutatja. Korábban Bálint és munkatársai az ország 17 helyén 18 fajta és hibrid nyersfehérjéjének alakulását vizsgálva 3,3%-os ingadozást találtak, a legnagyobb értékkülönbség pedig 5% volt. Hasonló szempontból, 1968-ban megvizsgáltuk, egy a Bábolnai Állami Gazdaságban egységes körülmények között beállított hibrid összehasonlító kísérletben a fehérjetartalom alakulását. E kísérletben gyakorlatilag minden hazai és külföldről behozott hibrid, összesen 41 különböző hibrid szerepelt. E kísérlet középértéke 9,68% volt, a szélső értékek pedig: 9,10 és 11,20%, az egész variációs szélesség tehát csupán 2,1%. — Felvetődik az a kérdés, hogy ez a viszonylag kis variáció-szélesség csupán annak a következménye, hogy a jelenleg Közép-Európában termesztett hibrdek sőt a régi fajtakukoricák is viszonylag szűk forrásból erednek? — Összehasonlításképpen a kukorica őshazájából eredő és ott termesztett fajták értékeit választhatjuk, ezek nem Corn Belt eredetűek. BRESSANI és munkatársai (1962) tíz közép-amerikai kukoricafajtát vizsgáltak különböző minőségi értékmérő tulajdonságra Mexicóban, Guatemalában, Nicaraguában és Panamában. A 10 fajta átlagértéke az országok sorrendjében a következő volt: 9,62%, 9,18%, 10,31%, 9,56%. Az egész kísérlet átlaga pedig: 9,66%. A szélsőértékek: 8,25 és 11,56%. OKE, O. L. (1965) a Nigériai kukoricafajták átlagos protein tartalmát 11,8%-nak találta. Nem változik a kép lényegesen akkor sem, ha temperált övezetből való a kukorica elterjedésének északi határán termesztett fajták fehérjetartalmát tanulmányozzuk. Franciaországban Elzászban a Rajnamentén termesztett rövidtenyészidejű, jórészt simaszemű kukoricák fehérjetartalma is 8,5—11,0% között változik, a fajták és termőhelyek függvényében. Ezt a kis variabilitást mi sem bizonyítja meggyőzőbben, minthogy gyakorlatilag az

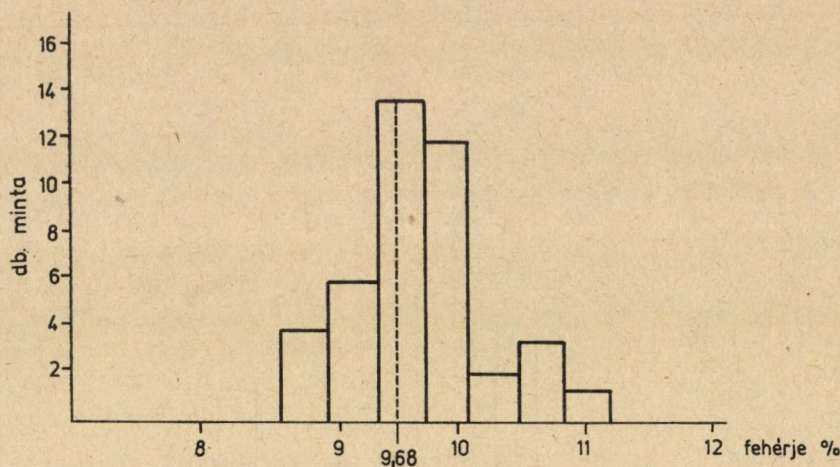


1. ábra. 243 db azonos környezeti feltételek között felnevelt kukorica törzs és egyszeres keresztezés termésének fehérje tartalma.

0,4%-os fehérje osztályok 7,2–12,0%-ig. $n = 243$, $\bar{x} = 9,4$, $s = 1,14$

egész variáció-szélességet, melyet egy hibridgyűjtemény azonos körülmények között képvisel (2. ábra), átfoghatjuk egyetlen hibriddel, melyet pl. növekedő N-trágyázás függvényében vizsgálunk fehérje tartalomra. Dr. Győrffy Béla egy Martonvásáron végzett műtrágyázási kísérletéből csupán egy hibrid az Mv. 590-re vonatkozó vizsgálati eredményeimet a 3. ábrán szemléltettjük.

A környezeti tényezőknek a fehérjetartalomra gyakorolt hatásáról, mely igen általános jellegű és minden gabonafajra jellemző, igen sok példát lehetne hozni a szakirodalomból, de saját gyakorlatunkból is. Ismeretes, hogy környezeti feltételekre igen érzékenyen reagál az árpa. 1952-ben feldolgoztunk egy árpakísérletet, melyben a termőhely termelési körülmények és a fajta interakcióját vizsgáltuk a fehérjetartalom alakulására. E kísérletben a meghatározó tényező a tenyészidő alatt leesett csapadék volt. A csapadéktöbblet a fajta fehérjetartalmát a Hatvani 308-as árpánál 7%-kal csökkentette, ez relatív %-ban 58%-os fehérjetartalom változásnak felel meg, a legnagyobb

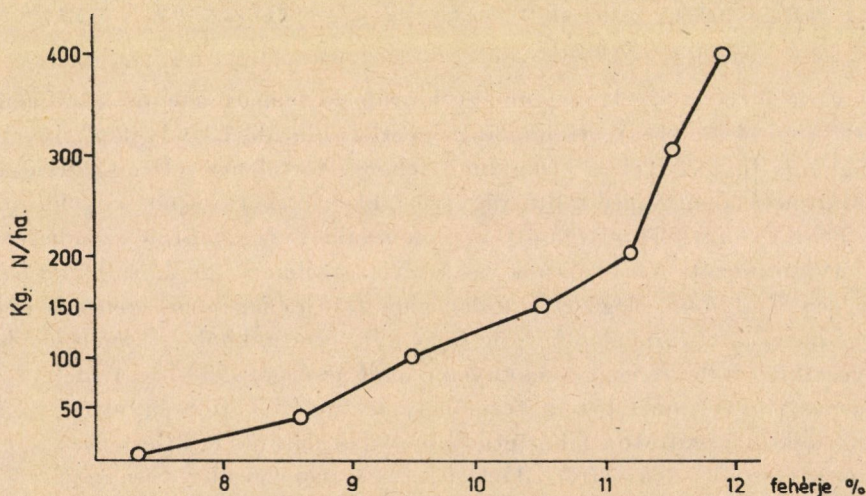


2. ábra. 41 db különböző magyar és külföldi kukorica hibrid-mag fehérjetartalmának variabilitása, azonos kísérletekből vett mintáknál, Martonvásár, 1968.

$n = 41$, $\bar{x} = 9,68\%$ 0,4%-os fehérje osztályok

értékhez viszonyítva. A terméskülönbségek és az ezerszemsúly változása nem követte a nagymérvű fehérjetartalom változást.

A fehérjetartalom szűk variációja nem jelenti, hogy a normális termőképességű gabonák már nem tartalmazzák a nagy fehérjetartalom realizálásához szükséges génanyagot. Ennek ismert példája az Illinois-i Kísérleti Állomás klasszikus munkája az Illinois high protein corn előállítására, melyről WOODWORTH és munkatársai (1952) az 50-éves eredmények alapján számoltak be.



3. ábra. Az Mv-590 hibrid szemtermésének 3%-os fehérjetartalma a nitrogén műtrágyázás függvényében

(Mint ismeretes ez a munka együtt folyt a low protein, a high oil és a low oil-corn szelekciójával.) A szabadlevirágzású kukoricafajtáknál a legtöbb quantitativ tulajdonságot több + és – gén határoz meg, egyszerű szelekcióval az 1896-ben indított munka 50 év alatt a 10,45% fehérjét tartalmazó Burr–White fajtából kiindulva létrehozta a 19,45% fehérjét tartalmazó „High protein corn-t”.

A fehérjetartalom fokozása hybridizációval

Kedvező esetben igen eredményes lehet a fajok közötti keresztezés, ahol a variáció-szélesség nagymértékben növelhető. Példánkat Szalay Dezső martonvásári nemesítési anyagából vesszük.

Az Agropyron-búzaibridek közül kiemelhető magas fehérjetartalmú és viszonylag már nagy ezerszemsúlyú típus is, mint ezt a 4. ábra és az I. táblázat mutatja. Kultúrbúzák keresztezésével a fehérjetartalom ilyen nagymértékű növelése nem érhető el, de természetesen az egyéb kedvezőbb tulajdonságok ezeket a keresztezéseket könnyebben hasznosíthatókká teszik. Ezt szemlélteti JOHNSON (1968) egy érdekes grafikonja (5. ábra).

Az a tény, hogy a gabonafehérjék %-os mennyisége a különböző nemesítési eljárások alkalmazásával csak szűk határok között változik, a környezeti tényezők hatására viszont jelentősen variál, nehezé teszi a nemesítő számára a fehérje vizsgálati adatok értékelését, ezekből nehezen állapítható meg a fehérje nemesítői munka előrehaladása, a termőhelyek és évjáratok eredményei még sűrűn alkalmazott és többféle standard esetén is nehezen összehasonlíthatók.

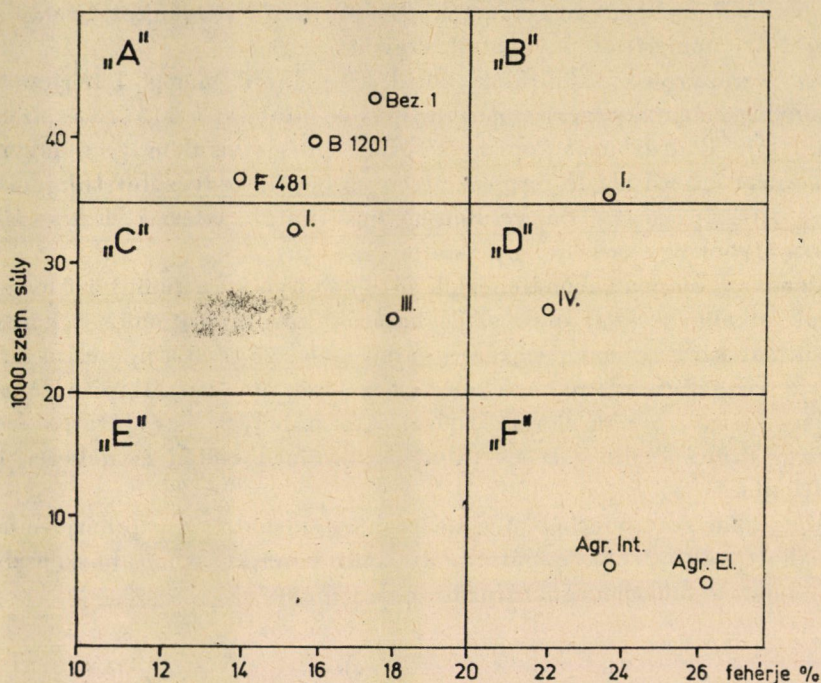
Metodikai szempontból még nehezebben járható út a fehérje minőségben beállott változások vizsgálata, de több vonatkozásban hasznosabbnak látszik, mint a fehérjemeghatározás önmagában.

A fehérje frakciók aránya és a fehérje minőség

Általános törvényszerűség az összes cereáliáknál, hogy a fehérjetartalom növekedése nem egyformán érinti a szemtermés fehérje-komponenseit. Az ún. nagy fehérjetartalmú fajták szemtermésében elsősorban az endospermium tipikus raktározó fehérjéje a prolamin, mennyisége szaporodik. Ez a 70%-os alkoholban oldható fehérjefrakció, a kukorica esetében zein, a búzánál gliadin, az árpnál hordein, szegény a biológiailag értékes aminosavakban.

Ennek a megfontolásnak alapján kérdésessé válik a természetesökkenéssel járó fehérje fokozás értéke. A laboratóriumi szelekció két megfontolás alapján nyújthat segítséget a nemesítésnek; vagy az alacsony értékű fehérjék hányadát határozzák meg az összes fehérje %-ában, így indirekt módon

értékeli a fajtajelölt fehérje jellegét, vagy pedig közvetlenül a nagy biológiai értékű értékes aminosavakat tartalmazó fehérjék mennyiségét és arányát határozza meg. Ez utóbbi csoportba tartoznak a cereáliák magvainak albumin és globulin fehérjéi. Metodikai szempontból mindkettő könnyen járható út, mert az oldatba vitt fehérjék egyszerű és gyors módszerekkel meghatározhatók. Nagy előrehaladást jelent a nemésítői munkában, hogy ma a kutatóhelyek jelentős része rendelkezik korszerű, nagy pontosságú eszközökkel aminosav elemző automatákkal, melyek segítségével megoldhatja a régóta hiányolt feladatot az aminosav összetétel pontos meghatározását. Mégis azt



4. ábra. Búzafajták, búza-Agropyron hibridek és Agropyronok 1000 szem súlyának és a szem fehérjetartalmának megoszlása.

Jelmagyarázat:

F 481: Fleischman 481 őszi búza

B 1201: Bánkúti 1201 őszi búza

Bez. 1: Bezostája-1 őszi búza

I: C/3-26 Búza-Agropyron hibrid

II: Fl-3 Búza-Agropyron hibrid

III: Fl-23-2 Búza-Agropyron hibrid

IV: BE-1-4-1 Búza-Agropyron hibrid

„A” mező: közepes fehérje (10–20%) nagy 1000 szem súly (35–50 g)

„B” mező: nagy fehérje (20–27%) nagy 1000 szem súly

„C” mező: közepes fehérje (10–20%), közepes 1000 szem súly (20–35 g)

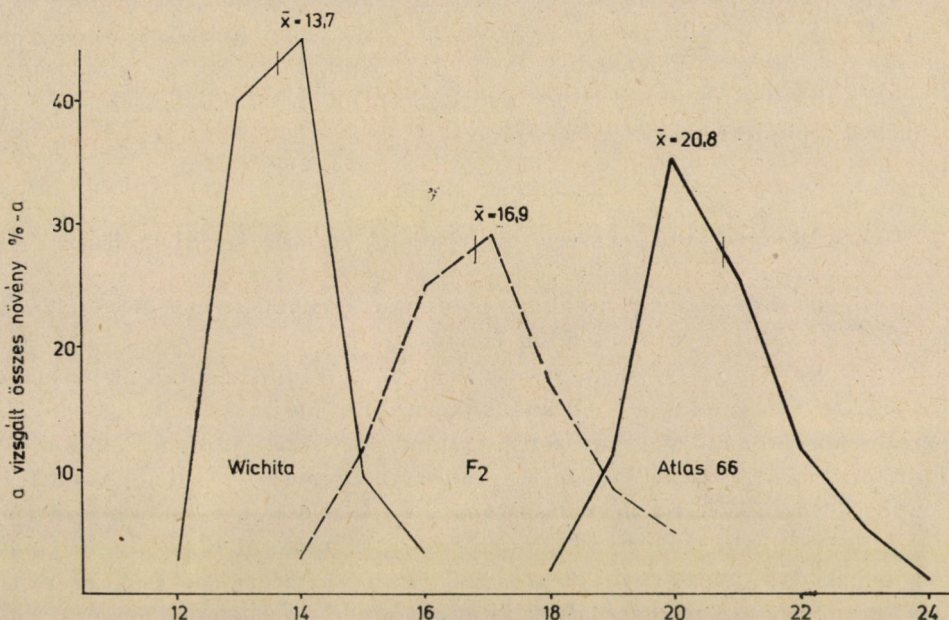
„D” mező: nagy fehérje (20–27%), közepes 1000 szem súly (20–35 g)

„E” mező: közepes fehérje (10–20%), kis 1000 szem súly (20 g alatt)

„F” mező: nagy fehérje (20–27%) kis 1000 szem súly (20 g alatt)

kell mondanunk ez az eszköz nem a laboratóriumi szelekció eszköze, hanem csupán egyéb eljárások ellenőrzésére szolgál.

Ha a gabonák fehérjéinek biológiailag legértékesebb aminosavait kívánjuk meghatározni, legalább két fehérje hidrolízist kell végeznünk egy alkalikus



5. ábra. A szem-fehérjetartalom gyakorisági megoszlása a Wichita, Atlas-66 búzafajtákban és ezek F_2 keresztezési származékában. (Johnson, V. A. et al. Economic Botany 22/1968. sz.-ból)

I. táblázat

A búza és az *Agropyron* hibrdek és fajták nyersfehérje %-a, 1000 szem súlya, valamint limitáló aminosavai

Fajta, ill. hibrid	Nx 6,25	1000 szemsúly	Lizin	Cisztin	Metionin
Búzafajták					
F 481	14,0	37	3,26	2,75	1,80
B 1201	15,0	39	2,78	1,98	1,44
Beosztaja 1	17,5	44	2,57	0,96	1,51
Hibrdek					
I. C/3-26	14,7	34	3,06	1,82	1,73
II. Fl-3	23,8	35	2,78	1,83	2,16
III. Fl-23-2	18,2	29	2,72	1,80	1,86
IV. BE-1-4-1	22,0	26	2,71	2,23	1,85
Agropyronok					
Agr. elong.	26,2	5,5	2,62	2,09	1,43
Agr. int.	23,8	6,6	2,49	1,15	2,39

hydrolízist a tryptofán meghatározására, ez egyben a lizin meghatározását is szolgálhatja, továbbá egy előzetesen perhangyasavval oxidált fehérje hydrolízist, mert a kéntartalmú aminosavak a nagy szénhidráttartalmú gabonaőrleményekben csak így határozhatók meg biztonságosan. Ha a nem limitáló egyéb aminosavak meghatározására is számot tartunk, akkor még egy 6 N, HCl-el savas hidrolízisre is szükség van. Az előkészítési módszerek túlzott leegyszerűsítése odavezethet, hogy elveszítjük a megkívánt pontosságot és ezek a drága berendezések sem nyújtanak többet, mint a kétséges értékű kvantitatív papírkromatográfiás eljárások.

Gyors laboratóriumi módszer az „opaque” kukoricák szelektálására

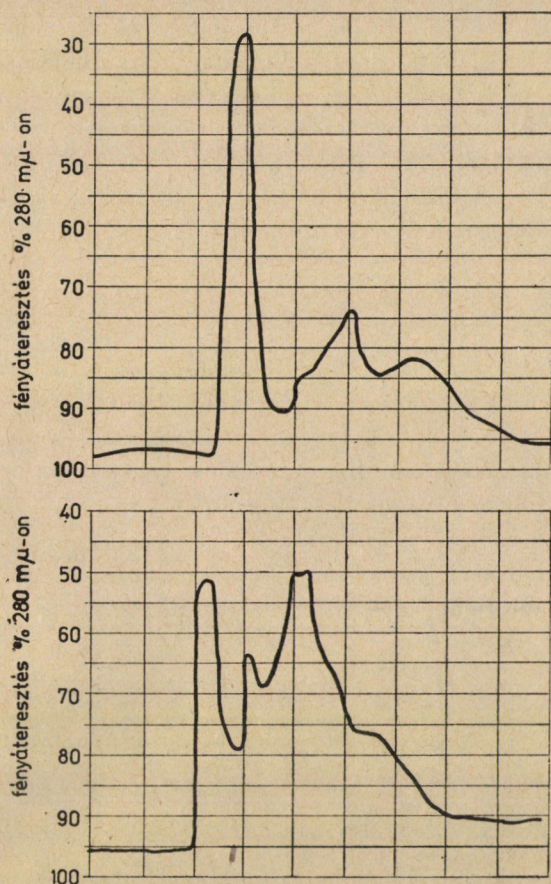
A nemesítés számára alkalmas módszerek kialakítására a fehérje frakcionálási eljárások nyújtanak jobb lehetőséget.

A kukoricanemesítésben új utat, jelentő „Opaque” mutánsok nyomán elterjedetté vált aminosav mutáns kukoricákról beszélni. A kérdés kiváló specialistája Alexander professzor mindig „modifikált proteinű” kukoricát említ, jelezve, hogy a kedvezően megváltozott aminosav összetétel következménye a fehérjeösszetétel megváltozásának. A vizsgálatok egész sora bizonyítja, hogy a megváltozás lényege a kukorica fehérje albumin-globulin frakciójának megnövekedése, mellyel vele jár a többi fehérjefrakció relatív csökkenése is.

Ezt a lehetőséget használtuk ki egy egyszerű szelekciós módszer kidolgozására, melyet egyben modellként mutatunk be arra vonatkozóan, hogy milyen szelekciós eljárásokat tartunk alkalmasnak laboratóriumi vonatkozásban a fehérje minőségi nemesítés támasztotta igények megoldására.

A II. táblázaton bemutatjuk Dr. Kovács István és Herczeg Márton kísérleti anyagából „opaque” és normális kukoricák vizsgálati adatait. A II. táblázat adatai azt mutatják, hogy a NaCl-ban extrahálható fehérje mennyisége, háromszorosan múlja felül a nagy lizin tartalmú kukoricáknál a „normális” típusokból extrahálható fehérje mennyiségét. Felhasználva a Sephadex- gél-molekula szűrés nyújtotta lehetőséget, a sós kivonatokat tovább frakcionáltuk. A 6. ábrán az Opaque és normál endospermiumú kukoricák NaCl-os extraktjainak Sephadex- gél kromatogramjait mutatjuk be. Melyekből nyilvánvalóan kitűnik, hogy a konyhasós extrakt fehérjéiből is, a lizintartalom növekedéséért az első 13 ml térfogatban eluálható albumin frakció a felelős. A mennyiségi meghatározás szerint az „opaque” esetében a Sephadex oszlopra felvitt összes fehérjének 44,8%-át képezi ez a frakció, a normálnál pedig 22,3%. Ezek az arányok teljesen megfelelnek a lizintartalomban mutatkozó különbségnek.

Az elmúlt 10 évben a gabona-kémia nagy fejlődésen ment keresztül, főként a fehérjevizsgálat vonatkozásában. A modern fehérje frakcionálási



6. ábra. „Opaque” és normál kukoricák 0,5 n Na Cl-os kivonatának Spehadexgél kromatogramja
a = „opaque”. Egy függőleges osztás = 6,6 ml 0,5 n NaCl, b = normál

II. táblázat

Nyersfehérje — NaCl-ben oldható fehérje — lizin az „opaque” és „normál” kukoricákban, a fehérje %-függvényében

Minta sz.	Opaque			Normál		
	Nyers fehérje %	NaCl-ben oldható fehérje	lizin (2)	nyers fehérje %	NaCl-ben oldható fehérje (1)	lizin (2)
128	7,35	13,80	4,42	7,70	4,94	2,98
113	8,75	14,49	4,62	9,10	5,59	2,76
111	10,15	13,74	3,84	10,15	4,99	2,46
129	10,85	15,19	4,16	11,55	4,39	2,17
130	10,85	16,36	4,45	12,60	5,03	2,21

(1) NaCl-ben oldható fehérje az összes fehérje %-ában.

(2) Lizin 16 gN = 100 g fehérjére számítva.

módszerek a gélfiltráció, a cellulóz alapú ioncserélőkön való kromatografálás és a gél elektroforézis, illetőleg ezek kombinált alkalmazásai, mely bepillantást engednek a génhatásra, vagy környezeti befolyásra létrejövő fehérje-arány módosulásokra, ezek az eredmények alkalmasak minőségi, sőt taxonómiai különbségek megállapítására, környezet és génhatások megkülönböztetésére. Egyszerűsített formáik szelektációs módszerekké fejleszthetők és hasznos segítséget nyújthatnak a nemesítőknek a fehérjenemesítés célkitűzéseinek realizálásában.

Összefoglalás

A dolgozat bevezetőjében a fehérje-minőség és mennyiség nemesítés néhány elvi problémáját és irányzatait tárgyalja. Példákat mutat be a környezeti és genetikai tényezők befolyásának szemléltetésére a fehérjetartalom alakulásának vonatkozásában. Részletesebben foglalkozik a fehérje minőség és a fehérje frakciók arányának összefüggésével. Rámutat az albumin és globulin frakció jelentőségére a kukorica fehérje minősége szempontjából. Gél-elektroforézises módszert mutat be, melynek alapján a nagy lizin-tartalmú opaque mutáns kukoricák egyszerűen szelektálhatók.

IRODALOM

- SENGBUSCH, R. V. (1936): Wege auf denen die Pflanzenzüchtung zur Lösung des Eiweissproblems beitragen kann. *Forschungsdienst* **1**, 1—8.
- JUGENHEIMER, R. W. (1958): Hybrid maize breeding and seed production. FAO Agricultural development paper No. 62 Rome.
- JOHNSON, V. A., SCHMIDT, J. W., and MATTERN, P. J. (1968): Cereal Breeding for Better Protein Impact. *Economic Botany* **22**, 16—25.
- BECKER, G. (1963): Problematik der Züchtung auf Eiweissqualität. *Der Züchter* **33**, 313—322.
- BRESSANI, R., ELIAS, SCRIMSHAW L. G. and GUZMAN M. A. (1962): Nutritive Value of Central American Corns. *Cereal Chemistry* **39**, 59—67.
- OKE O. L. (1965): Chemical Studies on Some Nigerian Cereals. *Cereal Chemistry* vol. 42. No. 3. 299—302.
- WOODWORTH, C. M., LENG E. R., and JUGENHEIMER R. W. (1952): Fifty generation of selection for protein and oil in corn. *Agronomy J.* **44**, 60—66.

ПРОБЛЕМЫ ЛАБОРАТОРНОЙ СЕЛЕКЦИИ ЗЕРНОВЫХ НА СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКОВ

Л. ГАШПАР

Сельскохозяйственный научно-исследовательский Институт А. Н. Венгрии,
с. Мартонвашар

РЕЗЮМЕ

В введении данной статьи разбираются некоторые принципиальные проблемы и направления селекции на качество и количество белков. Далее в статье приводятся примеры для демонстрации влияния генетических факторов и внешних условий в отношении изменения содержания белков. Более подробно в статье разбирается взаимосвязь качества и соотношений фракции белков. Также указывается на значение фракции альбумина и глобулина с точки зрения качества белка кукурузы. Описывается гель электрофорезный метод, при помощи которого можно довольно просто проводить селекцию мутантов кукурузы opak, имеющих высокое содержание лизина.

PROBLEME DER SELEKTION IM LABORATORIUM BEI DER ZÜCHTUNG VON GETREIDEN AUF EIWEISSGEHALT

L. GÁSPÁR

Landwirtschaftliches Forschungsinstitut der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Martonvásár

ZUSAMMENFASSUNG

Die Abhandlung erörtert eingangs einige Probleme und Richtungen der Züchtung auf Eiweissqualität und -quantität. Verfasser veranschaulicht an Beispielen den Einfluss von Umwelts- und genetischen Faktoren auf die Bildung des Eiweissgehaltes. Die Zusammenhänge des zwischen der Eiweissqualität und den Eiweissfraktionen bestehenden Verhältnisses werden eingehend besprochen. Verfasser beschäftigte sich auch mit der Bedeutung der Albumin- und Globulinfraktion in bezug auf die Eiweissqualität von Mais. Man bekommt die Beschreibung einer Gel-elektrophoretischen Methode, geeignet zur einfachen Selektion vom opaque-mutant Mais grossen Lysingehaltes.

PROBLEMS OF LABORATORY SELECTION IN BREEDING PROTEIN IN CEREALS

L. GÁSPÁR

Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences, Martonvásár

SUMMARY

Some theoretical problems and trends in breeding for quality and quantity are discussed in the introduction. Moreover, some examples are given of environmental factors and genetic ones, to demonstrate the protein content formation. In greater detail, it deals with the connection between protein quality and protein fraction ratios. The significance of albumin and globulin fractions, from the point of view of protein quality of maize was also studied.

In addition a gel electrophoretic method is introduced on the basis of which the opaque maize mutants of large lysin content can be simply selected.