

Hannele Linja-aho

Tanniinipitoisuudesta härkävavun (*Vicia faba* L.)
siemenissä

S I S Ä L L Y S

	sivu
Johdanto	1
1. Aineisto ja menetelmät	3
1.1. Aineisto	3
1.2. Kemialliset menetelmät	3
1.2.1. Folin-Denis-menetelmä	3
1.3. Tilastolliset menetelmät	4
2. Tulokset ja niiden tarkastelu	4
Kirjallisuusluettelo	15

JOHDANTO

Kasvien sekundääriyhdisteisiin on alettu kiinnittää yhä enemmän huomiota; ne eivät ehkä olekaan niin merkityksettömiä kuin on luultu. Vaikutustapoja vain ei ole tunnettu. Yhdisteryhmä, joka on saanut osakseen yhä kasvavaa kiinnostusta, on tanniinit. Ne kuuluvat polyfenoleihin, ja niille on yhteistä kyky saostaa valkuaisaineita (HASLAM et al., 1977). Tähän ominaisuuteen on havaittu perustuvan muutamien kasvien vastustuskyky hyönteisiä, lintuja ym. herbivoreja vastaan (COOPER-DRIVER et al., 1977; FEENY, 1976; FOX ja MacAULEY, 1977; HARBORNE, 1977; HAUKIOJA et al., 1978; LEVIN, 1971; McMILLIAN et al., 1972; RICE, 1974; TIPTON et al., 1970). Tämä vaikutustapa saattaa olla laajempikin, mitä tähän mennessä on saatu selville.

Tanniinien tarjoama vastustuskyky ulottuu joillakin kasveilla myös sieniä, bakteereja ja viruksia vastaan (CADMAN, 1960; HARRIS ja BURNS, 1973; RICE, 1974; SANDERS ja MIXON, 1978).

Ohrasta on löydetty mutanttigeeni ant-13, joka katkaisee synteetiketjun niin aikaisessa vaiheessa, että ohran kaikista osista puuttuvat sekä antosyaanit ja katekiini että proantosyanidiinit (v. WETTSTEIN et al., 1977). Tämän tutkijaryhmän mukaan oluen maku ei näiden polyfenolien puuttumisesta kärsinyt, mutta sen säilyvyys parani ja "hyllyikä" piteni. Kenttäkokeissa tämä ant-13 tuotti kuitenkin 20-25 % heikomman sadon kuin emolajike 'Foma'. Tämä johtui v. WETTSTEINin ja hänen tutkijaryhmänsä (1977) mukaan luultavasti ant-13-mutanttin suuresta alttiudesta viljaruosteelle. Alentuneen taudinkestävyyden välttämiseksi olisi tanniinittomuus siis saatava rajoitetuksi vain jyviin.

Rehukasvien korkealla tanniinipitoisuudella on omat haittavaikutuksensa, jotka ovat ilmenneet ruokittaessa mm. kananpoikia, porsaita ja rottia tanniinipitoisella ravinnolla (ALAVIUHKOLA, 1979; ELKIN et al., 1978; HERSTAD, 1978; LINDGREN, 1975; MARTIN-TANGUY et al., 1977). Nämä haittavaikutukset perustuvat tanniinien jo mainittuun ominaisuuteen sitoa proteiineja liukenemattomiksi komplekseiksi. Rehun sisältämä valkuaisen saostuessa käyttökeltvottomaan muotoon tanniinipitoisen kasvin ravintoarvo alenee. Lisäksi tanniinit haittaavat ruoansulatusprosessia saostamalla myös ruoansulatusentsyymejä toimintakyvyttömään muotoon (mm. GRIFFITHS, 1978; HARBORNE, 1977; RHOADES ja CATES, 1976).

GRIFFITHSin (1978) mukaan tanniinit, joita on härkäpavun siemenissä, estivät sellulaasien toimintaa. Samoin nämä tanniinit estivät sekä trypsiinin että amylaasin toimintaa. TAMIR ja ALUMOT (1969) väittävät johenneksenleipäpuun kondensoituneiden tanniinien estävän trypsiinin ja α -amylaasin lisäksi myös lipaasin toimintaa, joskaan vaikutus lipaasiin ei ole yhtä voimakas kuin kahteen ensin mainittuun entsyymiin.

Lehmillä esiintyvään puhallustautiinkin on väitetty rehun sisältämien tanniinien liittyvän (mm. JONES et al., 1976; GOSDEN, 1978), mutta vaikutus näyttää tässä tapauksessa olevan edullinen, puhallustautia estävä.

Tanniinien vaikutus riippuneen eläimen ruoansulatuskanavan rakenteesta, ehkä lähinnä sen pH-arvosta. JONESin ja MORGANin (1977) mukaan proteiini-tanniini-kompleksit olivat erittäin pysyviä välillä pH 3.5 - pH 7.0. Erilaisiin reaktiotapoihin saattavat vaikuttaa myös eri eläinten erilaiset entsyymit (FOX ja MacAULEY, 1977), esim. syljen polyfenolioksidaasit (MILES, 1968). Myös se, että eri fenoleilla sidokset voivat olla erilaiset, saattaa vaikuttaa (FOX ja MacAULEY, 1977). Lampailla ei havaittu raakaproteiinin su-lavuudessa rehun tanniinipitoisuuserojen aiheuttavan merkitseviä eroja (SÄTERBY, 1976). BURNS ja COPE (1974) havaitsivat kuitenkin lampaiden laiturilla hylkivän kirjavaa nivelvirnaa (*Coronilla varia* L.), jonka lehdistä on 1.7 % tanniineja.

Sorghum on tanniinien suhteen parhaimmin tutkittuja kasvilajeja (mm. BARHAM, 1946; BATE-SMITH & RASPER, 1969; BLESSIN et al., 1963; BURNS, 1971; CUMMINS, 1971; DANGI & PARODA, 1978; ELKIN et al., 1978; HARRIS et al., 1970; HARRIS & BURNS, 1973; MAXSON et al., 1972; MAXSON & ROONEY, 1972; McMILLIAN et al., 1972; PARODA, et al., 1975; STRUMEYER & MALIN, 1975 sekä TIPTON et al., 1970). Mainituissa tutkimuksissa Sorghum-lajikkeiden jyvien tanniinipitoisuus vaihteli 0.003 % - 8.2 %.

Olen tutkinut Kasvinjalostuslaitoksella härkäpapulajikkeita ja -linjoja löytääkseni matalatanniinista ja tanniinitonta aineistoa käytännön jalostustyöhön. Risteytyksiä löydetyllä materiaalilla on jo tehty, ja on toiveita saada aikanaan kauppaan koti-mainen tanniiniton tai vähätanniininen härkäpapulajike.

1. Aineisto ja menetelmät

1.1. Aineisto

Analyysit on tehty härkäpapujen siemenistä, jotka ovat vuosien 1975 - 80 satoa. Näytteitä analysoitiin vuoden 1975 sadosta 24, vuoden 1976 sadosta 18, vuoden 1977 sadosta 51, vuoden 1978 sadosta 169, vuoden 1979 sadosta 169 ja vuoden 1980 sadosta 156. Kustakin näytteestä mitattiin kaksi rinnakkaismääritystä. Tutkitut härkäpavut ovat eronneet toisistaan mm. siemenkuoren värin, siemenarven värin, siemenen koon ja kukan värin suhteen. Niitä ei kuitenkaan jaeta eri alalajeihin näiden ominaisuuksien perusteella kuten herne.

Siemenet jauhettiin varastokuivina Philips-kahvimyllyllä (tyyppi HM 3210). Kutakin analyysiä varten punnittiin 300 mg näyte härkäpapujauhoa. Siemenkuorten ja sirkka-lehtien tanniinipitoisuus määritettiin myös erikseen. Tällöin siemenet rikottiin ensin vasaralla, ja kuoret jauhettiin erikseen, sisus erikseen.

1.2. Kemiälliset menetelmät

1.2.1. Folin-Denis-menetelmä

Härkäpavut analysoitiin samalla Folin-Denis-menetelmällä kuin herneet (AULIN, 1979). Härkäpavusta käytettiin kuitenkin pienempää näytemäärää (300 mg). Tähän lisättiin 80 ml tislattua vettä ja keitettiin 30 minuuttia pystyjäähdyttäjän alla sähköhauhteella. Jäähdytynyt liuos sentrifugoitiin 10 min. (3300 kierrosta/min. BHG Segurita). Kirkas liuos kaadettiin 100 ml:n mittapulloon, joka täytettiin tislatulla vedellä.

Näistä näyteliuoksista pipetoitiin 4 ml uutetta tai 2 ml kuoriuutetta 100 ml:n mittapulloihin, joihin lisättiin kuhunkin 50 ml tislattua vettä sekä 5 ml tiedotteessa 12 (AULIN, 1979) selostettua Folin-Denis-reganssia ja 10 ml kyllästettyä Na_2CO_3 -liuosta. Mittapullot täytettiin tislatulla vedellä. Ravistelun jälkeen liuos sai seistä 30 minuuttia, minkä jälkeen mittapulloista otettiin näyte kyvetteihin (n. 3 ml). Transmittanssi mitattiin aallonpituudella 670 nm (spektrofotometri Varian S 634).

Transmittanssilukemia vastaavat tanniinipitoisuudet saatiin standardikäyriltä, jotka piirrettiin tunnettujen tanniinipitoisuuksien avulla (J. T. BAKER, 1199 tannic acid, MP 1701).

1.3. Tilastolliset menetelmät

Keskiarvot, keskivirheet ja t-testit on laskettu HEWLETT-PACKARD 41C- tieteilaskimella, yhden tekijän varianssianalyysit Olivetti Programma 101 - pienoistietokoneella. Saatuja arvoja on verrattu MÄKISEN (1974) taulukkojen arvoihin.

2. Tulokset ja niiden tarkastelu

Tanniineja on viittä tyyppiä (taul. 1). Käyttämällämme analyysimenetelmällä ei näitä tyyppisiä voi erikseen määrittää. SWAINin ja HILLISin (1959) mukaan yleisesti vieläkin käytössä oleva FOLIN-DENIS-menetelmä (A.O.A.C., 1970) on oikeastaan kokonaisfenolittä määrittävä. Yksinkertaista, tarkkaa ja nopeata, siis rutiinianalyysiin sopivaa menetelmää ei ole vielä kehitetty. Suoritetuissa pistokokeissa kokonaisfenolimäärä korreloi kuitenkin varsin hyvin esim. proantosyanidiinipitoisuuden kanssa. Alustavaa karsintaa voidaan jalostusmateriaalista siis varsin hyvin suorittaa kumman menetelmän avulla tahansa.

2.1. Tulokset

Härkäpavulla havaittiin vastaava kukan värin ja tanniinipitoisuuden välinen korrelaatio (taul. 2) kuin herneelläkin (AULIN, 1979). Lajikkeilla, joiden kukka on puhtaan valkoinen, on siementen tanniinipitoisuus vain n. 1/3 niiden lajikkeiden tanniinipitoisuudesta, joilla on mustatäpläinen kukka (taul. 2). Tanniinipitoisuuden ero on erittäin merkitsevä näiden kahden kukanväryyden välillä. Puhtaan valkeata kukkaa voidaan siis tässäkin tapauksessa käyttää markkeerina valittaessa ja jalostettaessa matalatanniinisia lajikkeita, vaikka härkäpapua ei kukanvärin perusteella jaetakaan kahteen alalajiin kuten herne (AULIN, 1979).

Lajikkeilla, joilla on puhtaan valkea kukka, on kaikilla sekä vaalea siemenkuori että vaalea siemenarpi. Vaalea siemenkuori ei yksinään riitä takaamaan matalaa tanniinipitoisuutta kuten taulukoista 3, 4 ja 6 näkyy.

Taulukosta 3 voidaan havaita, että tummissa siemenissä on poikkeuksetta ollut matalampi tanniinipitoisuus kuin vaaleissa, tumma-arpisissa siemenissä. Nämä erot ovat olleet tilastollisesti jokseenkin merkitseviä (neljässä tapauksessa), merkitseviä (seitsemässä tapauksessa) ja erittäin merkitseviä (neljässä tapauksessa). Vain kahdessa tapauksessa ei erolla ollut tilastollista merkitystä.

Tanniinien luokittelu ja ominaisuuksia SWAINin (1979) mukaan

Taulukko 1.

Tanniinityyppi	Kemiallinen rakenne	Molekyyllipaino	Proteiinien saostamiskyky
Proantosyanidiini (eli kondensoitunut tanniini eli leukoanto- syanidiini)	flavan - 3 - olien ja flavan - 3,4 - diolien oligomeerejä	1000 - 3000	+ + + +
Hydrolysoituva tanniini	gallushapon tai heksahydroksi- difeenihapon estereitä glukoo- sin tai muiden polyolien kanssa	1000 - 1500	+ + + + +
Oksitanniinit	vaihtelevia, muodostuneet proto- tanniineista tai muista fenoli- yhdisteistä	500 - 1500	+ + +
β -tanniinit	vaihtelevia: lignaaneja, stilbee- nejä jne.	300 - 500	+ + +
Prototanniinit	proantosyanidiinien, hydrolysoi- tuvien tanniinien ja oksitanniinien esiasteita	200 - 600	±

± = tuskin ollenkaan saostava
+ + + + = erittäin voimakkaasti saostava

Taulukko 2.

Härkäpavun (*Vicia faba* L.) siementen tanniinipitoisuuksia vuoden 1977 sadosta (Folin-Denis-menetelmä). Siemenkuori kaikilla vaalea.

lajike	kukan väri	tanniini % keskiarvo \pm SE	n
Pirhonen	mustatäpl.	1.14	1
Arla	"	1.23	1
Mikko	"	1.26 \pm 0.07	2
Sving	"	1.57 \pm 0.14	2
Kompakt Weiss	puhtaan valkea	0.34 \pm 0.05	4
Triple White	"	0.46 \pm 0.05	4
Staygreen	"	0.49 \pm 0.07	4
Bianka	"	0.54 \pm 0.12	3

F-arvo (valkokukk./mustatäpl.) = 104.1677^{***} > 15.08

mustatäpl. eivät eroa toisistaan merkitsevästi (F = 1.8967)

valkokukkaiset eivät eroa toisistaan merkitsevästi (F = 0.9630)

Taulukko 3.

Härkäpavun (*Vicia faba* L.) siementen tanniinipitoisuuksia vuoden 1978 sadosta Folin-Denis- menetelmällä määritettynä (tilastollinen merkitsevyys testattu yhden tekijän varianssianalyysillä).

Lajike/hybridi		n	tanniini % \pm S.E. tummat siemenet	n	tanniini % \pm S.E. vaaleat siemenet	tilastoll. merkitse- vyys
Sving x Mikko	F ₂	3	0.75 \pm 0.02	3	1.47 \pm 0.08	xx
Arla x Pirhonen (7620)	F ₂	3	0.87 \pm 0.05	3	1.94 \pm 0.27	x
Mikko x Arla (7482)	F ₂	3	0.93 \pm 0.01	3	1.49 \pm 0.00	xxx
Sving x Pirh.	F ₂	3	0.95 \pm 0.01	3	1.61 \pm 0.00	xxx
WW 14/67 x Aht.	F ₄	3	1.04 \pm 0.05	3	1.44 \pm 0.09	x
Ahtiainen		3	1.04 \pm 0.00	3	1.64 \pm 0.00	xxx
WW 14/67 x Pirh.	F ₄	3	1.05 \pm 0.01	4	1.61 \pm 0.05	xxx
Pirhonen (7330) sät.		3	1.07 \pm 0.04	3	1.49 \pm 0.00	xx
" (7329) sät.		3	1.10 \pm 0.02	3	1.49 \pm 0.08	x
" sät. kk. -73		3	1.11 \pm 0.04	3	1.36 \pm 0.00	xx
Arla x Pirh. (7477)	F ₂	3	1.14 \pm 0.04	3	1.67 \pm 0.05	xx
Mikko x Pirh.	F ₂	3	1.16 \pm 0.03	3	1.15 \pm 0.00 (sukl. rusk.)	NS
Pirh. x Arla	F ₂	3	1.16 \pm 0.03	3	1.46 \pm 0.00	xx
Pirhonen (7328) sät.		3	1.21 \pm 0.02	3	1.48 \pm 0.00	xx
Mikko x Arla (7622)	F ₂	3	1.35 \pm 0.06	3	1.57 \pm 0.00	x
Arla x Mikko	F ₂	3	1.47 \pm 0.05	3	1.74 \pm 0.00	xx
Arla sät.		3	1.49 \pm 0.01	3	1.53 \pm 0.05	NS
Arla x Aht.	F ₄	3	1.50 \pm 0.02 (beige)	3	1.60 \pm 0.05	NS
Pirhonen		6	1.76 \pm 0.08			
Mikko		6	1.79 \pm 0.12			
Hja 70001				6	1.79 \pm 0.12	
Arla				6	1.88 \pm 0.16	
Sving				6	2.08 \pm 0.13	

NS = ero ei merkitsevä

x = jokseenkin merkitsevä (5 % riskitaso)

xx = merkitsevä (1 % riskitaso)

xxx = erittäin merkitsevä (0.1 % riskitaso)

Taulukosta 4 havaitaan vuoden 1979 sadossa samansuuntaiset erot. Tässä koesarjassa tosin on myös neljä poikkeusta eli vaaleat, tumma-arpiset siemenet ovat olleet vähemmän tanniineja sisältäviä kuin tummat siemenet. Nämä erot eivät kuitenkaan ole tilastollisesti merkitseviä. Päinvastaisista eroista viisi on niin ikään tilastollisesti merkityksettömiä. Tilastollisesti ero on jokseenkin merkitsevä seitsemässä ja merkitsevä kahdessa tapauksessa.

Edellä esitetystä voidaan siis päätellä siemenarven värillä olevan merkitystä tanniinipitoisuuden morfologisenä markkeerina, koska vaaleasiemenisten härkäpapujen tanniinipitoisuus pyrkii olemaan tummasiemenisiä korkeampi, mikäli siemenarpi on tumma.

Vaalea siemenarpi ei kuitenkaan riitä yksinään markkeeriksi sekään. Beige-siemenisen F₃-polven hybridin Mikko x Arla (9406/79) siemenarpi on vaalea kuten matalatanniinisilla, vaaleakuorisilla lajikkeilla Bianka, Staygreen, Kompakt Weiss ja Triple White. Hybridistä on myös musta- ja vaaleasiemeniset jälkeläistöt, joissa molemmissa siemenarpi on tumma. Vaalea-arpisten beige-siementen tanniinipitoisuus oli 2.04 ± 0.00 (n = 3) ja vaaleiden, tumma-arpisten 1.76 ± 0.10 (n = 4) sekä mustien, tumma-arpisten 1.90 ± 0.12 (n = 3). Vaalea-arpisten tanniinipitoisuus oli siis tässä tapauksessa korkein, joskaan erot eivät olleet tilastollisesti merkitseviä ($F = 0.9790 < 225$ ja $F = 4.6123 < 6.61$ vaaleisiin siemeniin verrattuna). Sen sijaan ero mainittuihin vaaleasiemenisiin, vaalea-arpisiin lajikkeisiin oli erittäin merkitsevä ($F = 1896,13^{xxx} > 29,25$). - Matalatanniinisisuuden morfologiseksi markkeeriksi kelpaa siis vain yhdistelmä: vaalea siemenkuori ja vaalea siemenarpi.

Tanniinipitoisuutta, kuten kukan väriä sekä siemenkuoren ja -arven väriä säätelevien geenien välillä vallitsee tiivis kytkentä: 593 analyysituloksesta ei yksikään osoittanut kytkennän murtumaa. Toinen selitys on pleiotropia: sama geeni tai geenisarja säätelee kaikkia näitä mainittuja ominaisuuksia.

Tanniinipitoisuutta on perinnöllisyystieteessä tutkittu erittäin vähän. Tanniiniton ohramutantti ant-13 (v. WETTSTEIN et al., 1977) osoittaa, että ilmiö on geneettinen. Ohralla sitä säätelevä geeni on resessiivinen. PARODA et al. (1975) väittävät Sorghum-lajikkeilla tanniinipitoisuuden periytyvän siten, että matalatanniinisuus dominoi. PICARD (1976) on todennut härkäpapulla päinvastaisen ilmiön: matalatanniinisuus on resessiivinen ominaisuus.

Löydettyjä matalatanniinisia härkäpapulajikkeita (Bianka, taul. 2 ja 6, Dreifachweiss ja Manholt's Wierboon, taul. 5, Kompakt Weiss, taul. 2 ja 5, Staygreen ja Triple White, taul. 2, 5 ja 6), joiden tanniinipitoisuus vaihtelee 0.16 - 0.63 %, on käytetty risteytysvanhempina. On pyritty saamaan aikaan uusia, matalatanniinisia lajikkeita ja

Taulukko 4.

Härkäpavun (*Vicia faba* L.) siementen tanniinipitoisuuksia vuoden 1979 sadosta Folin-Denis-menetelmällä määritettynä. (Siementen värieron vaikutusta tanniinipitoisuuteen testattu yhden tekijän varianssianalyysillä.)

Lajike/hybridi		n	tanniini % ± S.E. tummat siemenet	n	tanniini % ± S.E. vaaleat siemenet	tilastoll. merkitse- vyys
Sving X Pirh.	F ₃	2	1.33 ± 0.00	3	1.73 ± 0.00	xx
Hja 70001		3	1.52 ± 0.00	3	1.58 ± 0.00	NS
Sving x Arla	F ₃	3	1.55 ± 0.00	3	1.94 ± 0.05	x
Mikko x Arla	F ₃	3	1.58 ± 0.06			
Pirhonen sät. kk. -73		3	1.59 ± 0.05	3	1.83 ± 0.00	x
WW 14/67 x Jögeva	F ₅	3	1.59 ± 0.08	3	1.66 ± 0.12	NS
Arla x Aht.	F ₅	3	1.60 ± 0.00	3	1.82 ± 0.05	x
WW 14/67 x Aht.	F ₅	3	1.61 ± 0.00	3	1.84 ± 0.16	NS
Arla x Mikko (9777)	F ₃	3	1.64 ± 0.06	3	1.93 ± 0.03	x
Pirh. x Aht.	F ₂	3	1.67 ± 0.00	3	1.99 ± 0.00	x
Pirh. x Mikko	F ₃	3	1.68 ± 0.00	3	1.72 ± 0.11	NS
Sving x Arla	F ₃	3	1.69 ± 0.08	3	2.11 ± 0.09	x
Arla x Pirh.	F ₃	3	1.73 ± 0.08	3	2.19 ± 0.00	x
Mikko x Arla	F ₃	3	1.75 ± 0.06	4	1.76 ± 0.10	NS
Arla x Pirh.	F ₃	3	1.76 ± 0.08	4	1.49 ± 0.05	NS
Aht. x Pirh.	F ₆	3	1.79 ± 0.05	3	2.19 ± 0.00	xx
Sving x Mikko	F ₃	3	1.81 ± 0.00	3	1.74 ± 0.05	NS
Pirh. x Aht.		3	1.82 ± 0.04			
Arla x Mikko (9417)	F ₃	3	1.93 ± 0.07			
Pirh. x Arla	F ₃	3	1.98 ± 0.09	3	1.71 ± 0.19	NS
WW 14/67 x Pirh.	F ₅	3	2.02 ± 0.05	3	1.84 ± 0.05	NS

NS = ei merkitsevä

x = jokseenkin merkitsevä (5 % riskitaso)

xx = merkitsevä (1 % riskitaso)

xxx = erittäin merkitsevä (0.1 % riskitaso)

Taulukko 5.

Härkäpavun (*Vicia faba* L.) siemenkuoren ja sirkkalehtien tanniinipitoisuuseroja vuoden 1979 sadosta (erojen tilastollinen merkitsevyys on laskettu t-testillä ja ryhmiä valkokukkaiset ja mustatäpläiset on verrattu keskenään yhden tekijän varianssianalyysillä).

kk puht. valk.	n	tanniini % ± S.E. siemenkuori	n	tanniini % ± S.E. sirkkalehdet	tilastoll. merkitse- vyys
Triple White	3	0.16 ± 0.01	3	0.83 ± 0.02	xxx
Marholt's Wierboon	3	0.20 ± 0.01	3	0.84 ± 0.02	xx
Kompakt Weiss	3	0.22 ± 0.03	3	0.77 ± 0.02	xx
Dreifachweisse	3	0.23 ± 0.01	3	0.80 ± 0.02	xxx
Staygreen	3	0.49 ± 0.01	3	0.76 ± 0.02	xx
kk. mustatäpl.					
Frühe Weissheimige	3	6.46 ± 0.18	3	0.77 ± 0.02	xx
White Windsor	3	6.88 ± 0.12	3	0.78 ± 0.03	xxx
Selecta	3	6.96 ± 0.03	3	0.75 ± 0.03	xxx
		F = 5594.97 ^{xxx}		F = 3.74 NS	

NS = ei merkitsevä ero

x = jokseenkin merkitsevä ero (5 % riskitaso)

xx = merkitsevä ero (1 % riskitaso)

xxx = erittäin merkitsevä ero (0.1 % riskitaso)

Taulukko 6.

Härkäpavun (*Vicia faba* L.) risteytysaineiston F₂-polven siementen ja P-polven lajikkeiden tanniinipitoisuuksia kasvihuoneolosuhteissa kasvatettuna satovuodelta 1980.

(Kuorten ja sirkkalehtien tanniinipitoisuuserojen tilastollinen merkitsevyys on testattu t-testillä.)

	(kuoren väri)	n	tanniini % ± S.E. siemenkuori	n	tanniini % ± S.E. sirkkalehdet	tilastoll. merkitsevyys
Triple White	(vaal.)	6	0.29 ± 0.02	6	0.82 ± 0.02	xxx
Staygreen	(vaal.)	6	0.38 ± 0.03	6	0.86 ± 0.03	xxx
Bianka	(vaal.)	6	0.63 ± 0.03	6	0.84 ± 0.03	xxx
Pirhonen	(beige)	3	6.83 ± 0.08	3	0.86 ± 0.02	xxx
Hja 70001	(musta)	3	7.50 ± 0.14	3	0.84 ± 0.01	xxx
Korkeamäki	(musta)	3	8.17 ± 0.08	3	0.83 ± 0.04	xxx
Sving	(beige)	3	8.17 ± 0.22	3	0.82 ± 0.02	xx
Mikko	(musta)	3	8.33 ± 0.08	3	0.81 ± 0.01	xxx
Sving	(vaalea)	3	8.58 ± 0.08	3	0.85 ± 0.02	xxx
Korkeamäki	(keskirusk.)	3	8.67 ± 0.17	3	0.92 ± 0.02	xxx
Korkeamäki	(beige)	3	8.67 ± 0.22	3	0.93 ± 0.02	xxx
Arla	(beige)	3	9.08 ± 0.22	3	0.91 ± 0.02	xxx
Korkeamäki	(vaalea)	3	9.83 ± 0.22	3	0.88 ± 0.02	xxx
Triple White x Pirh.	(musta)	3	7.17 ± 0.17	3	0.85 ± 0.02	xxx
Kork.m. x Triple Wh.	(vaal.)	3	7.58 ± 0.08	3	0.82 ± 0.02	xxx
Bianka x Pirh.	(musta)	3	7.58 ± 0.17	3	0.91 ± 0.03	xxx
Kork.m. x Staygr.	(vaal.)	3	7.75 ± 0.14	3	0.83 ± 0.03	xxx
Staygr. x Kork.m.	(vaal.)	3	7.75 ± 0.14	3	0.85 ± 0.02	xxx
Bianka x Kork.m.	(vaal.)	3	8.17 ± 0.17	3	0.86 ± 0.02	xxx
Mikko x Bianka	(rusk.)	3	8.42 ± 0.22	3	0.76 ± 0.03	xxx
Kork.m. x Pirh.	(musta)	3	8.50 ± 0.14	3	0.82 ± 0.02	xxx
Kork.m. x Staygr.	(vaal.)	3	8.50 ± 0.25	3	0.81 ± 0.02	xxx
Triple Wh. x Mikko	(keskirusk.)	3	9.17 ± 0.30	3	0.84 ± 0.03	xx

NS = ero ei ole tilastollisesti merkitsevä

x = ero on jokseenkin merkitsevä (5 % riskitaso)

xx = ero on merkitsevä (1 % riskitaso)

xxx = ero on erittäin merkitsevä (0.1 % riskitaso)

Taulukko 7.

Härkäpavun (*Vicia faba* L.) siemenkuoren ja sirkkalehtien tanniinipitoisuuseroja eri vuosien sadosta. (Erojen merkitsevyys testattu yhden tekijän varianssianalyysillä)

lajike	n	tanniini % ± S.E. siemenenkuori	n	tanniini % ± S.E. sirkkalehdet	tilastoll. merkitse- vyys
1975					
Primus	3	7.50 ± 0.14	3	0.78 ± 0.02	xxx
Pirhonen	3	7.75 ± 0.14	3	0.71 ± 0.02	xxx
Hja 70011	3	7.75 ± 0.14	3	0.69 ± 0.01	xxx
Sving	3	8.50 ± 0.14	3	0.87 ± 0.02	xxx
		F = 9.00 ^{xx}		F = 18.82 ^{xxx}	
1977					
Hja 70011	3	6.57 ± 0.16	3	0.78 ± 0.02	xxx
Pirhonen	3	7.23 ± 0.31	3	0.55 ± 0.02	xxx
Sving	3	7.33 ± 0.08	3	0.57 ± 0.01	xxx
Hja 70001	3	7.50 ± 0.14	3	0.67 ± 0.01	xxx
Arla	3	7.76 ± 0.30	3	0.58 ± 0.00	xxx
		F = 3.77 ^x		F = 82.89 ^{xxx}	
1978					
Pirhonen sät. (7330)	3	4.67 ± 0.08	3	0.83 ± 0.02	xxx
Pirhonen sät. (7329)	3	5.75 ± 0.25	3	0.68 ± 0.09	xxx
Pirhonen sät. (7328)	3	5.98 ± 0.63	3	0.82 ± 0.03	xxx
Arla sät.	3	6.33 ± 0.22	3	0.71 ± 0.02	xxx
Ahtiainen	3	7.67 ± 0.17	3	0.88 ± 0.02	xxx
		F = 21.01 ^{xxx}		F = 3.31 NS	
1979					
Arla x Mikko F ₂ /F ₃	3	8.25 ± 0.14	3	0.82 ± 0.00	xxx

NS = ero ei ole tilastollisesti merkitsevä

x = ero on jokseenkin merkitsevä (5 % riskitaso)

xx = ero on merkitsevä (1 % riskitaso)

xxx = ero on erittäin merkitsevä (0.1 % riskitaso)

F₂/F₃ = kuori F₂-polvea, sirkkalehdet F₃-polvea

Samalla koetettu selvittää periytymisilmiöitä. F_1 -polven siemenistä ei analysoitu tanniinipitoisuutta, koska siemenkuori on maternaalista solukkoa eli siis yhtä sukupolvea jäljessä embryosta. F_2 -polven analyysitulokset on esitetty taulukossa 6. (Siemenkuori edustaa näissä siis F_1 -polvea.)

Kirjallisuudessa on väitetty (mm. NIEHAUS & SCHMIDT, 1970, NITSAN, 1971, BOND, 1977, GRIFFITHS & JONES, 1977, MARTIN-TANGUY et al., 1977, SANDERS & MIXON, 1978, GRIFFITHS, 1979, MOSELEY, 1979, EGGUM, 1980) tanniinien sijaitsevan pääasiassa siementen kuoriosassa eikä sisuksessa. Taulukoista 5, 6 ja 7 havaitaan, että kaikissa runsaasti tanniineja sisältävissä härkäpavun siemenissä kuoriosan tanniinipitoisuus (4.67 - 9.83 %) on jopa noin 10-kertainen (0.55 - 0.93 %) siemenen sisukseen (= sirkkalehtiin) verrattuna. Analysoiduissa 228 näytteessä ei ollut yhtään poikkeusta. Lisäksi ero oli kaikissa joko tilastollisesti merkitsevä tai erittäin merkitsevä.

Matalatanniinisissa (0.16 - 0.63 %) lajikkeissa (taul. 5 ja 6) sen sijaan muun siemenen tanniinipitoisuus oli korkeampi (0.76 - 0.86 %) kuin siemenkuoren (0.16 - 0.63 %). Nämäkin erot olivat tilastollisesti merkitseviä tai erittäin merkitseviä. Käytännössä sisuksen alle 1 %:n tanniinipitoisuudella tuskin lienee haittavaikutuksia, joten jalostustyön on kohdistuttava kuoriosaan, sen tanniinipitoisuuden alentamiseen.

Taulukosta 6 havaitaan, että poikkeuksetta kuoriosan (F_1 -polven) tanniinipitoisuus on lähempänä runsastanniinista vanhempaa kuin matalatanniinista. Vertailtaessa t-testillä F_1 -polvea olevaa kuorta kummankin vanhemman kuoreen havaittiin, että kaikissa tapauksissa hybridin tanniinipitoisuus eroaa erittäin merkitsevästi tai merkitsevästi matalatanniinisestä vanhemmasta. Hybridi on runsastanniinista vanhempaansa matalatanniinisempi kuudessa tapauksessa yhdeksästä. Ero on joko jokseenkin merkitsevä (viidessä tapauksessa) tai merkitsevä. Hybridin ja runsastanniinisen vanhemman tanniinipitoisuudella ei ole tilastollisesti merkitsevää eroa neljässä risteytyksessä.

Taulukossa 6. esitettyjen tulosten perusteella voidaan siis väittää, että matalatanniisuus on resessiivinen ominaisuus eikä suinkaan dominoiva kuten Sorghumilla (PARODA et al., 1975). Tulokset ovat sopusoinnussa PICARDin (1976) härkäpapuanalyysien kanssa, joiden mukaan tanniinittomuutta kontrolloi kaksi komplementaarista resessiivistä geeniä, joilla on pleiotrooppinen vaikutus kasvin, kukan ja siemenkuoren väriin. CROFTS et al. (1980) ovat julkaisseet risteytyskokeittensa tulokset (korkea tanniinipitoisuus x tanniiniton), ja todenneet F_2 -polven lukusuhteiden perusteella, että yksi resessiivinen geeni määrää tanniinittomuuden. Heidän takaisinristeytyksistä saamansa tulokset tukevat tätä olettamusta. Näistä CROFTSin ja hänen työtovereittensa (1980) tutkimuksista tietämättä olen suorittanut vastaavia risteytyksiä vuodesta 1979 alkaen, ja F_3 -polven siemenet, joiden kuori siis on F_2 -polvea, ovat vielä tuleentumattomia, joten analyysituloksia ei voida vielä verrata CROFTSin työtovereineen (1980) julkaisemiin.

Mutaatiojalostus on yksi keinoista saada aikaan uusia lajikkeita. Valitettavasti suurin osa mutaatioista on tavalla tai toisella haitallisia. - Verrattaessa taulukossa 3 näkyvien säteilytettyjen (16 400 r) Pirhosten ja Arlan tanniinipitoisuuksia säteilyttämättömiin Pirhoseen ja Arlaan havaittiin, että erot eivät olleet tilastollisesti merkitseviä lukuun ottamatta tapausta, jossa kukkivaa Pirhosta oli säteilytetty. Tällöin ero oli jokseenkin merkitsevä. Taulukosta 7 näkyy vuoden 1978 tulosten kohdalla, että säteilytysjälkeläisten siementen sisus on tanniinipitoisuudeltaan samaa luokkaa kuin säteilyttämättömienkin. Sen sijaan kuoriosan tanniinipitoisuudet ovat säteilytysjälkeläistössä huomattavasti matalammat. (4.67 - 6.33 %) kuin säteilyttämättömässä aineistossa.

On teoriassa täysin mahdollista saada säteilyttämällä tai kemikaaleilla aikaan tanniiniton härkäpapumutantti. Minkälainen se sitten on muilta ominaisuuksiltaan, sen paljastavat monivuotiset käytännön viljelykokeet. - Jalostustyössä olisi myös otettava huomioon tanniinien vaikutus resistenssiin. Olisi saatava selville, mikä tanniinipitoisuus on välttämätön, jotta kasvi on riittävän vastustuskykyinen. Täysi tanniinittomuus saattaa heikentää jalosteen vastustuskykyä kohtuuttomasti.

KIITOKSET laborantti Anne Aallolle, joka on analysoinut suuren osan aineistosta siirryttyäni muihin tehtäviin sekä kasvinjalostuslaitoksen muulle henkilökunnalle, josta kukin omalla työpanoksellaan on osallistunut aineiston syntyyn, kasvuun ja tulosten julkistamiseen. - Härkäpapuaineiston luovutuksesta analysoitavaksi haluan kiittää maisteri Oiva Inkilää ja maisteri Marketta Saastamoista, jonka kanssa yhteistyö on ollut kitkatonta ja rakentavaa. - Taloudellisesta tuesta esitän lämpimät kiitokseni Suomen Kulttuurirahastolle.

KIRJALLISUUSLUETTELO

- ALAVIUHKOLA, T., 1979: Herne ja härkäpapu lihasikojen rehuna. - Maatalouden tutkimuskeskus Sikatalouskoeaseman tiedote n:o 2: 1-14.
- Association of Official Analytical Chemists. 1970: Official methods of analysis. s. 154. 11. painos. 1015 ss. A.O.A.C., Washington, D.C.
- AULIN, H., 1979: Tanniinipitoisuuden muuntelusta ja siihen vaikuttavista tekijöistä herneen (Pisum sativum L.) siemenissä. - Maatalouden tutkimuskeskus kasvinjalostuslaitoksen tiedote n:o 12: 1-35.
- BARHAM, H.N., WAGONER, J.A., CAMPBELL, C.L. & HARCLÉRODE, E.H., 1946: The Chemical Composition of Some Sorghum Grains and the Properties of their Starches.- Tech. Bull. 61, Agr. Exp. Sta., Kansas State Coll. of Agr. and Appl. Sci., Manhattan, Kan. : 5-47.
- BATE-SMITH, E.C. & RASPER, V., 1969: Tannins of Grain Sorghum: Luteoforol (leucoluteolinidin) 3',4',4'',5,7 - pentahydroxyflavan. - J. Food Sci. 34: 203-209.
- BLESSIN, C.W., van ETTEN, C.H. & DIMLER, R.J., 1963: An Examination of Anthocyanogens in Grain Sorghums. - Cereal Chem. 40: 241-250.
- BOND, D.A., 1977: Breeding for zero-tannin and protein yield in field beans (Vicia faba L.). - Comm. Eur. Communities NoEur 5686 En: 348-360.
- BURNS, R.E., 1971: Method for Estimation of Tannin in Grain Sorghum. - Agr. J. 63: 511-512.
- BURNS, R.E. & COPE, W.A., 1974: Nutritive Value of Crownvetch forage as influenced by structural constituents and phenolic and tannin compounds. - Agr. J. 66: 195-200.
- CADMAN, C.H., 1960: Inhibition of plant virus infection by tannins. - s. 101-105 teoksessa J.B. Pridham (toim.) Phenolics in plants in health and disease. - Pergamon Press-Oxford-Lontoo-New York-Pariisi. 131 ss.

- COOPER-DRIVER, G., FINCH, S. & SWAIN, T., 1977: Seasonal Variation in Secondary Plant Compounds in Relation to the Palatability of *Pteridium aquilinum*. - *Bioch. Systematics and Ecology* (1977) 5: 177-183.
- CROFTS, H.J., EVANS, L.E. & McVETTY, P.B.E., 1980: Inheritance, Characterization and Selection of Tannin-free fababeans (*Vicia faba* L.). - *Can. J. Plant Sci.* 60: 1135-1140.
- CUMMINS, D.G., 1971: Relationships Between Tannin Content and Forage Digestibility in Sorghum. - *Agr. J.* 63: 500-502.
- DANGI, O.P. & PARODA, R.S., 1978: Combining Ability for Quality Characters in Forage Sorghum. - *Z. Pflanzenzüchtg.* 80: 38-43.
- EGGUM, B.O., 1980: Factors affecting the nutritional value of field beans (*Vicia faba*) teoksessa D.A. BOND (toim.) *Vicia faba*. Feeding Value, Processing and Viruses: 107-123. - ECSC, EEC, EAEC, Brussels-Luxembourg.
- ELKIN, R.G., FEATHERSTON, W.R. & ROGLER, J.C., 1978: Investigations of Leg Abnormalities in Chicks Consuming High Tannin Sorghum Grain Diets. - *Poultry Sci.* 57: 757-762.
- FEENY, P., 1976: Plant Apparency and Chemical Defense. - Teoksessa Wallace, J.W. & MANSELL, R.L. (toim.): *Recent Advances in Phytochemistry* 10: 1-40. Plenum Press, New York & London.
- FOX, L.R. & MacAULEY, B.J., 1977: Insect Grazing on Eucalyptus in Response to Variation in Leaf Tannins and Nitrogen. - *Oecologia (Berl.)* 29: 145-162.
- GOSDEN, A.F., 1978: Toxic constituents of forage crops. - Teoksessa: Welsh Plant Breeding Station Annual Report 1977. 257 ss. - Cambrian News.
- GRIFFITHS, D.W., 1978: Inhibition of digestive enzymes by field bean tannins. - Teoksessa: Welsh Plant Breeding Station Annual Report 1977. - 257 ss. Cambrian News.

- GRIFFITHS, D.W., 1979: Enzyme inhibitors in field beans. - Teoksessa: Welsh Plant Breeding Station Annual Report 1978. - 287 ss. Cambrian News.
- GRIFFITHS, D.W. & JONES, D.I.H., 1977: Cellulase Inhibition by Tannins in the Testa of Field Beans (*Vicia faba*). - J.Sci.Fd Agric. 28: 983-989.
- HARBORNE, J.B., 1977: Introduction to Ecological Biochemistry. - 243 ss. Academic Press, Lontoo.
- HARRIS, H.B. & BURNS, R.E., 1973: Relationship Between Tannin Content of Sorghum Grain and Preharvest Seed Molding. - Agr. J. 65: 957-959.
- HARRIS, H.B., CUMMINS, D.G. & BURNS, R.E., 1970: Tannin Content and Digestibility of Sorghum Grain as Influenced by Bagging. - Agr. J. 62: 633-635.
- HASLAM, E., 1977: Review-Symmetry and promiscuity in procyanidin biochemistry. - Phytochemistry 16: 1625-1640.
- HASLAM, E., OPIE, C.T. & PORTER, L.J., 1977: Procyanidin metabolism - a hypothesis - Phytochemistry 16 (1): 99-102.
- HAUKIOJA, E., NIEMELÄ, P., ISO-IIVARI, L., OJALA, H. & ARO, E.-M., 1978: Birch leaves as a resource for herbivores. I. Variation in the suitability of leaves. - Rep. Kevo Subarctic Res. Stat. 14: 5-12.
- HERSTAD, O., 1978: Åkerbønner (*Vicia faba* L.) som fôr til kyllingar. - Meldinger fra Norges Landbrukshøgskole 57 (41): 13 ss.
- JONES, W.T., BROADHURST, R.B. & LYTTLETON, J.W., 1976: The condensed tannins of pasture legume species. - Phytochemistry 15: 1407-1409.
- JONES, W.T. & MORGAN, J.L., 1977: Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) with fraction 1 leaf protein with submaxillary mucoprotein and their reversal by polyethylene glycol and pH. - J.Sci. Food Agric. 28: 126-136.
- LEVIN, D.A., 1971: Plant Phenolics. An Ecological Perspective. - Amer. Natur. 105: 157-181.
- LINDGREN, E., 1975: The nutritive value of peas and field beans for hens. - Swedish J. Agr. Res. 5 (3): 159-161.

- MATRIN-TANGUY, J., GUILLAUME, J. & KOSSA, A., 1977: Condensed tannins in horse bean seeds: Chemical structure and apparent effects on poultry: - J. Sci. Food Agric. 28 (8) : 757-765.
- MAXSON, E.D., CLARK, L.E., ROONEY, L.W. & JOHNSON, J.W., 1972: Factors Affecting the Tannin Content of Sorghum Grain As Determined by Two Methods of Tannin Analysis. -Crop Sci. 12: 233-235.
- MAXSON, E.D. & ROONEY, L.W., 1972: Evaluation of Methods for Tannin Analysis in Sorghum Grain. -Cereal Chem. 49: 719-729.
- McMILLIAN, W.W., WISEMAN, B.R., BURNS, R.E., HARRIS, H.B. & GREENE, G.L., 1972: Bird Resistance in Diverse Cermplasm of Sorghum. -Agr.J. 64:821-822
- MILES, P.W., 1968: Insect secretions in plant.- A Rev. Phytopathol. 6: 137-164.
- MOSELEY, G. & GRIFFITHS, D.W., 1979: Varietal Variation in the Anti-nutritive Effects of Field Beans (*Vicia faba*) when Fed to Rats. - J.Sci. Food Agric. 30: 772-778.
- MÄKINEN, Y., 1974: Tilastotiedettä biologelle. 306 ss. Turku.
- NIEHAUS, M.H. & SCHMIDT, W.H., 1970: Evaluation of Bird Resistant Grain Sorghum in Ohio. Agr.J. 62: 677-678.
- NITSAN, Z., 1971: *Vicia faba* Beans vs. Soyabean Meal as a Source of Protein. - J.Sci Fd Agric. 22: 252-255.
- PARODA, R.S., SAINI, M.L. & ARORA, S.K., 1975: Inheritance of Tannin Content in Eu-Sorghums. -Z.Pflanzenzüchtung 74: 251-256.
- PICARD, J., 1976: Aperçu sur l'hérédité du caractère absence de tanins dans les graines de féverole (*Vicia faba* L.). - Ann. Amélior. Plantes 26 (1): 101-106.
- RHOADES, D.F. & CATES, R.G., 1976: Toward a general theory of plant antiherbivore chemistry. -Teoksessa WALLACE, J.W. & MANSELL, R.L. (toim.): Recent Advances in Phytochemistry 10: 168-213. Plenum Press, New York & Lontoo.
- RICE, E.L., 1974: Allelopathy. -s. 260-263. - Academic Press.

- SANDERS, T.H. & MIXON, A.C., 1978: Effect of peanut tannins on percent seed colonization and in vitro growth by *Aspergillus parasiticus*. - *Mycopathologia* 66 (3): 169-173.
- STRUMEYER, D.H. & MALIN, M.J., 1975: Condensed Tannins in Grain Sorghum: Isolation, Fractionation and Characterization. - *J. Agric. Food Chem* 23 (5): 909-914.
- SWAIN, T., 1979: Tannins and Lignins. - Teoksessa: Rosenthal, G.A. & Janzen, P.M. (toim.) *Herbivores - Their Interaction with Secondary Plant Metabolites*. - 718 ss. - Academic Press, New York.
- SWAIN, T. & HILLIS, W.E., 1959: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I-The quantitative analysis of phenolic constituents. - *J.Sci. Food Agric.* 10: 63-68.
- SÄTERBY, B., 1976: Näringsvärdet hos foderarter och matarter till får. - Lantbrukshögskolan, Avd. f. husdjurens näringsfysiologi, stenoilserie nr. 34, 8 ss.
- TAMIR, M. & ALUMOT, E., 1969: Inhibition of digestive enzymes by condensed tannins from green and ripe carobs. - *J.Sci. Food Agric.* 20: 199-202.
- TIPTON, K.W., FLOYD, E.H., MARSHALL, J.G. & McDEVITT, J.B., 1970: Resistance of certain grain *Soegh* hybrids to bird damage in Louisiana. - *Agr. J.* 62: 211-213.
- WETTSTEIN, D., JENDE-STRID, B., AHTENST-LARSEN, B & SØRENSEN, J.A., 1977: Biochemical mutant in barley renders chemical stabilization of beer superfluous. - *Carlsberg Res. Commun.* 42: 341-351.

