

Proteinforsøg – Lysinvarianter hos byg. En kemisk, genetisk og biokemisk undersøgelse.

Af Eske Bruun

RISØ

21.12.10

Aa 7791.30



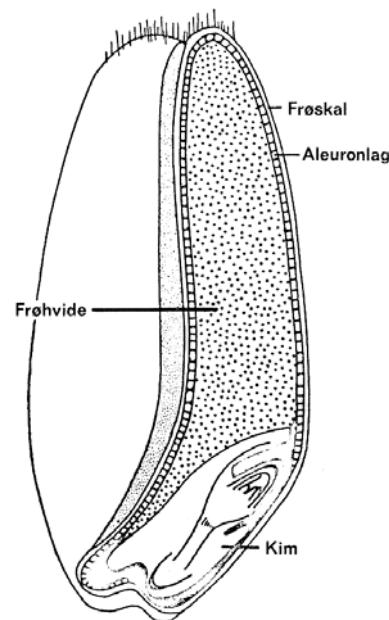
Indledning

Det meste af det byg der produceres i Danmark anvendes til foder for husdyrerne. Kornets næringsværdi afhænger i høj grad af forholdene mellem kulhydrater, proteiner, fedtstoffer, vitaminer og mineraler. For vitaminer og mineralers vedkommende suppleres foderet ved tilsætning. Proteinsammensætningen frembyder problemer, idet protein-næringsværdien i høj grad er bestemt af indholdet og forholdet mellem de essentielle aminosyrer for det pågældende dyr. Byg er lysinfattig, og da lysin er en essentiel aminosyre for bl.a. svin og høns og i øvrigt også for os, betyder det, at svin fodret med byg ikke kan udnytte foderets øvrige aminosyrer optimalt. Andre aminosyrer findes derimod i overskud bl.a. prolin og glutaminsyre. Derfor suppleres med protein tilskud, som fortørnvis er baseret på importert sojaskrå. Hvis der fodres ensidigt med byg og der ikke gives lysinrigt tilskudsfoder, vil man ikke få proteinet udnyttet ordentligt. Dette resulterer i større foderforbrug, dårligere kødkvalitet og større udledning af organisk kvælstof i urin og fæces. Sidstnævn-

te faktor kan have uheldige konsekvenser for miljøet, idet det kan bidrage til større udledning af nitrat i grundvand, vandløb, sør og nære kystområder.

Bygkernens bygning:

Man kan betragte bygkernen som et plantefoster. Heri findes kimplanten med rod, stængel og blade.



Oplagsnæringen er frøhviden, der giver energi og nødvendige bestanddele til spiringen. Det hele er omgivet af et aleuronlag samt yderst frøskallen. Der findes flere proteinfraktioner i bygplanten. Som det ses af tabel 1 findes lysin især i kim og aleuronlag samt i frøhviden omkring stivelseskornene.

Protein fraktion	Morfologisk placering	Opløselig i	% af total protein	% af total lysin
Albuminer + globuliner	Kim og aleuronlag	Svage saltoplosninger	30	50
Prolaminer i frøhviden	Protein legemer	60% alkohol	30	8
Glutaminer i frøhviden	Udfældet omkring stivelseskorn	Syrer og baser	35	35
Uopløselig rest	Cellevægge	- - -	5	7

Tabel 1. Proteinfraktionen for ikke lysinberiget byg. (Naturens Verden 11-12, 1974).

Bygmutanten RI 1508

Man har fremavlet bygsorter, hvor lysinindholdet er forøget. I en af sorterne (RI 1508) er lysinmængden forøget med ca. 40%. Lysinforøgelsen er sket på en indirekte måde, idet RI 1508 næsten ikke indeholder noget af proteinfraktionen prolamin, men kun vandlig oploselige proteinfraktioner.

Desværre giver denne sort et mindre kerneudbytte på ca. 15% som følge af en mindre stivelsesmængde. Det giver et "skrumpet" kerneudseende.

Eksperimenter:

Materiale:

A: 1 bygaks af en normal bygplante af sorten Bomi, genotype LYS3LYS3

B: 1 bygaks af en RI 1508 bygplante, genotype lys3lys3

C: 4 bygaks af en plante heterozygotisk for RI 1508, genotype LYS3lys3

Genetisk analyse:

Kernerne af typen A og B sammenlignes og der lægges mærke til om der er forskel i fyldningsgrad af kernerne. A-kernerne er fyldte og runde. B-kernerne er skrumpne. C-kernerne er fremkommet ved selvbestøvning af en heterozygot bygplante (en krydsning mellem A og B planter), kernerne er således F2-generationen.

I aksene af typen C er der både fyldte og skrumpne kerner. Antallet af fyldte og skrumpne kerner tælles. Det observerede talforhold mellem fyldte og skrumpne kerner testes mod forventningerne om en et-gen-udspaltring runde:skrumpede i forholdet 3:1, hvor hypotesen er, at egenskaben er bestemt af et recessivt gen (2 alleler i et locus med dominans). Sandsynligheden for at det observerede talforhold afviger fra det forventede kan findes med en χ^2 -analyse.



Det kan være lidt svært at skelne kernetyperne fra hinanden. Lettest er det at holde akset bøjet over fingeren så kernene stritter ud og så med en pincet

pille de skrumpede kerner fra i en petriskål og de fyldte i en anden.

Ved en ekstra observation af de afpillede kerner kan deres form efterkontrolleres.



Bygkerner. Øverst i hvert billede: lys3lys3. Nederst i hvert billede. LYS3LYS3.

	LYS3 -	LYS3lys3	Ialt
Observation			
Forventet			
Afvigelse			

Det fundne χ^2 har 1 frihedsgrad og sandsynligheden for det fundne resultat, kan findes i en χ^2 -tabel.

Kemisk analyse:

Der tages 4 reagensglas.

I glas nr. 1 fyldes 3 knuste kerner fra type A aks LYS3LYS3

I glas nr. 2 fyldes 3 knuste kerner fra type B aks lys3lys3

I glas nr. 3 fyldes 3 knuste fyldte kerner fra type C aks LYS3-

I glas nr. 4 fyldes 3 knuste skrumpne kerner fra type C aks lys3lys3

Tre kerne knuses med pistil i en morter. I hvert glas fyldes derefter 5 ml 50% ethanol. Prolaminen vil nu oploses i væsken. For bedre at oplose prolaminen bør glassene med mellemrum rystes. Efter 4-5 timer ved normal stuetemperatur er prolaminen oplost. Enten da eller senest den næste dag hældes 10 ml rent vand på glassene og de rystes. Spritopløsningen bliver da så svag at prolaminerne udfældes. Det kan ses inden der er gået 1/2 time som en svag uklarhed, et diffust mælket udseende, af oplosningen.

Væsken i glas nr. 1 og 3 der jo indeholder prolamin skulle nu blive mælket, hvorimod væsken i glas 2 og 4 skulle forblive klar som tegn på at den næsten ikke indeholder prolaminer. Hvis man finder dette resultat, er det en bekræftelse af, at skrumpne kerner og lavt prolaminindhold er effekter af et gen (eller måske flere tæktkoblede gener), dette kaldes pleiotropi. Reaktionens styrke afhænger af hvor meget kvælstof planterne har optaget under dyrknningen.

Kernernes vægt: Kerner fra LYS3LYS3 og lys3lys3 vejes og gennemsnitsvægten beregnes:

	Antal aks	Antal frø	Vægt i g	g/frø
LYS3LYS3				
LYS3lys3				
Forskel i %				

Supplerende forsøg

Elektroforese af kerneproteiner

Ved hjælp af elektroforese kan bygsortene adskilles. ProteinPower er et kit der er udviklet til elevforsøg. Proceduren er tilnærmet den normale polyacrylamid-gel farvemetode og er meget let at anvende. ProteinPower kan købes hos National Center for Biotechnology Education (NCBE). www.ncbe.reading.ac.uk.

Protekol til professionel elektroforese af proteiner fra byg kan rekvireres.

Denne metodik er noget omstændig og tidsrøvende, men resultaterne er mere præcise og informative.

Iagttagelse og undersøgelse af bygfrøet:

- Kimplanten:
Frøet spaltes med en skalpel. Med skalpelspidsen kan kimplanten tages ud, studeres under lup og beskrives. Man kan evt sammenligne med en tokimbladet kimplante, ært, børne el. lignende.
- Frøhviden:
Den halverede kimplante farves med JJK. Resultatet studeres og beskrives. Den knuste frøhvide kan farves med JJK og mikroskopieres for nærmere at beskrive stivelseskornene.

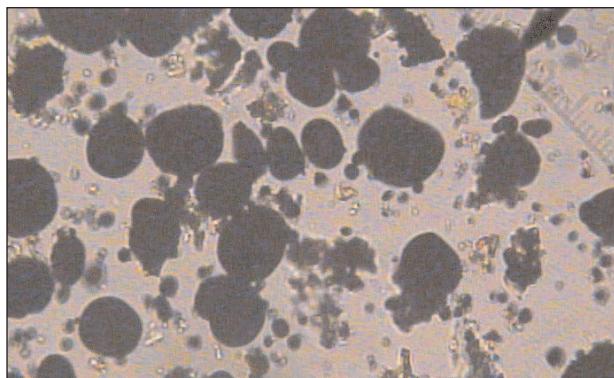


Spaltet bygkerne farvet med JJK.

Bemærk kimplanten til venstre i frøet.



Stivelseskorn forstørret 100*



Stivelseskorn forstørret 100*, farvet med JJK

Nogle arbejdsspørgsmål:

Ernæring og byg

- Hvad betyder det at en aminosyre er essentiel?
- Hvilke aminosyrer er essentielle for os?
- Diskuter mulige årsager til, at der ikke dyrkes og anvendes så meget byg, hvor lysinindholdet er forøget.
- Hvorfor udnyttes foderets øvrige aminosyrer ikke optimal, hvis der f.eks mangler lysin?
- Hvilken sammenhæng er der med mellem en dårlig foderudnyttelse og for meget organisk kvælstof i fæces? I hvilke stoffer findes N i fæces?
- Hvilken sammenhæng er der med mellem en dårlig foderudnyttelse og for meget organisk kvælstof i urinen? I hvilke stoffer findes N i urin?

Genetik

- Hvordan vil man kunne sikre at bygplanter selvbestøver?
- Hvad forstår ved koblede gener?
- Hvad betyder det at et gen udviser pleiotropi?

Biokemi

- Beskriv proteiners generelle opbygning ved hjælp af primær-, sekundær- og tertiær struktur.
- Hvilke forhold har indflydelse på proteiners oploselighed, se tabel 1?

Materialet er fremstillet på Forskningscenter Risø, 4000 Roskilde.