

Hannele Aulin

Tanniinipitoisuuden muuntelusta ja siihen vaikuttavista
tekijöistä herneen (Pisum sativum L.) siemenissä

SISÄLLYSLUETTELO

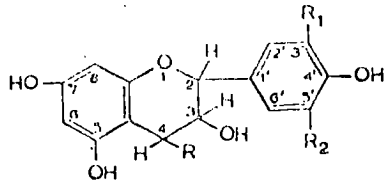
| | sivu |
|---|------|
| Johdanto | 1 |
| 1. Aineisto ja menetelmät | 11 |
| 1.1. Aineisto | 11 |
| 1.2. Kemialliset menetelmät | 12 |
| 1.2.1. Folin-Denis-menetelmä | 12 |
| 1.2.2. Eetteriuutto | 13 |
| 1.2.3. Vanilliini-suolahappomenetelmä | 14 |
| 1.3. Tilastolliset menetelmät | 14 |
| 2. Tulokset | 15 |
| 2.1. Eetteriuutto | 15 |
| 2.2. Ruokaherneen (<i>Pisum sativum</i> ssp. <i>sativum</i>) siementen tanniinipitoisuus | 16 |
| 2.3. Reuhherneen (<i>Pisum sativum</i> ssp. <i>arvense</i>) siementen tanniinipitoisuus | 19 |
| 2.4. Herneen siementen ja taimien tanniinipitoisuuksien korrelaatio | 22 |
| 2.5. Pimeässä kasvatettujen taimien tanniinipitoisuuksia | 22 |
| 2.6. Vanilliini-suolahappomenetelmällä saatuja tuloksia | 24 |
| 3. Tulosten tarkastelu | 25 |
| Kirjallisuusluettelo | 30 |

Johdanto

Tanniinit ovat polyfenoleja, joiden molekyyllipaino vaihtelee 500-3000 (HASLAM et al., 1977) ja jotka saostavat proteiineja, mihin ominaisuuteen perustuu niiden käyttö nahkojen parkitsemiseen. Tästä käyttötavasta johtuvat tanniineista käytetyt nimitykset parkkihappo tai parkkiaineet (vrt. Gerbsäure, garvsyra, Gerbstoffe).

Tanniini-nimitystä näkee toisinaan käytettävän kaikista kasvien polyfenoleista, toisinaan antosyanogeenien, proantosyanidiinien tai leukoantosyanidiinien synonyyminä. DADIC et al. (1970) nimittivät proantosyanidiinejä ja leukoantosyanidiinejä tanninogeneiksi. Näistä syntyy varsinaisia, "aitoja" tanniineja polymeroitumalla. "Aidon" tanniinin esiasteena voi leukoantosyanidiinien eli flavaani-3,4-diolien lisäksi olla myös katekiini tai jokin muu flavaani-3-oli (kuvat 1 ja 2). Tällaisista polymeroitumalla syntyneistä tanniineista käytetään yhteisnimitystä kondensoituneet tanniinit. Niiden polymerisaatioaste voi vaihdella. Usein kasvit sisältävät seoksen erilaisia tanniineja ja eri polymerisaatioasteita.

Kondensoituneet tanniinit eivät hydrolysoidu, vaan happokäsittely vain lisää niiden polymerisaatioastetta. Tanniinien toinen suuri pääryhmä, hydrolysoituvat tanniinit, sen sijaan hydrolysoituu helposti happojen vaikutuksesta, jolloin tanniineista irtoaa sokerimolekyylijä ja tavallisimmin joko gallus- tai ellaghappoa (kuva 3). Gallotanniineista vapautuu niiden hydrolysoituessa gallushappoa ja ellagtanniineista ellaghappoa (DADIC et al., 1970 ; HASLAM, 1966).



Catechine (R=H)

$R_1 = R_2 = H$

$R_1 = OH; R_2 = H$

$R_1 = R_2 = OH$

Epigallocatechin,
Epigallocatechin
Catechin,
Epicatechin
Gallocatechin,
Epigallocatechin

Flavandioli-hydrate (R=OH)

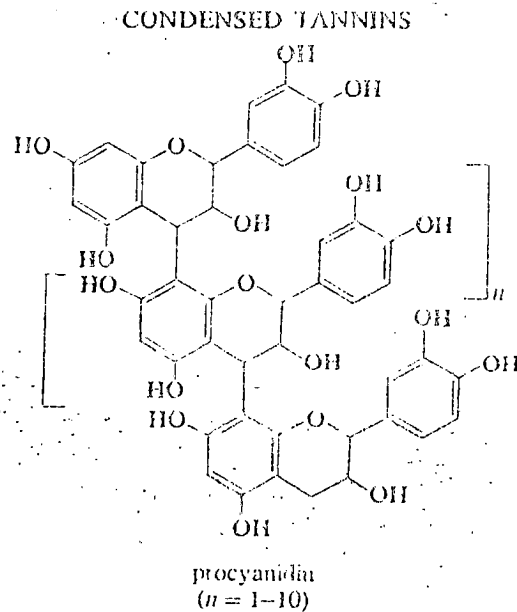
$R_1 = R_2 = H$

$R_1 = OH; R_2 = H$

$R_1 = R_2 = OH$

„Leuko-pelagoidiinihydrat“
(Pelagoidioli)
„Leuko-cyanidiinihydrat“
(Cyanidioli)
„Leuko-delphiiniinihydrat“
(Delphiidioli)

Kuva 1. Kondensoituneiden tanniinien perusyksikkö, leukoantosyanidiineille ja katekiinille yhteinen kolmen hiilirenkaan perusrunko (HERRMANN, 1963).



Kuva 2. Katekiinin polymerisaatiotuote, jonka edelleen polymeroitussa syntyy tanniinimolekyylit (HARBORNE, 1977).

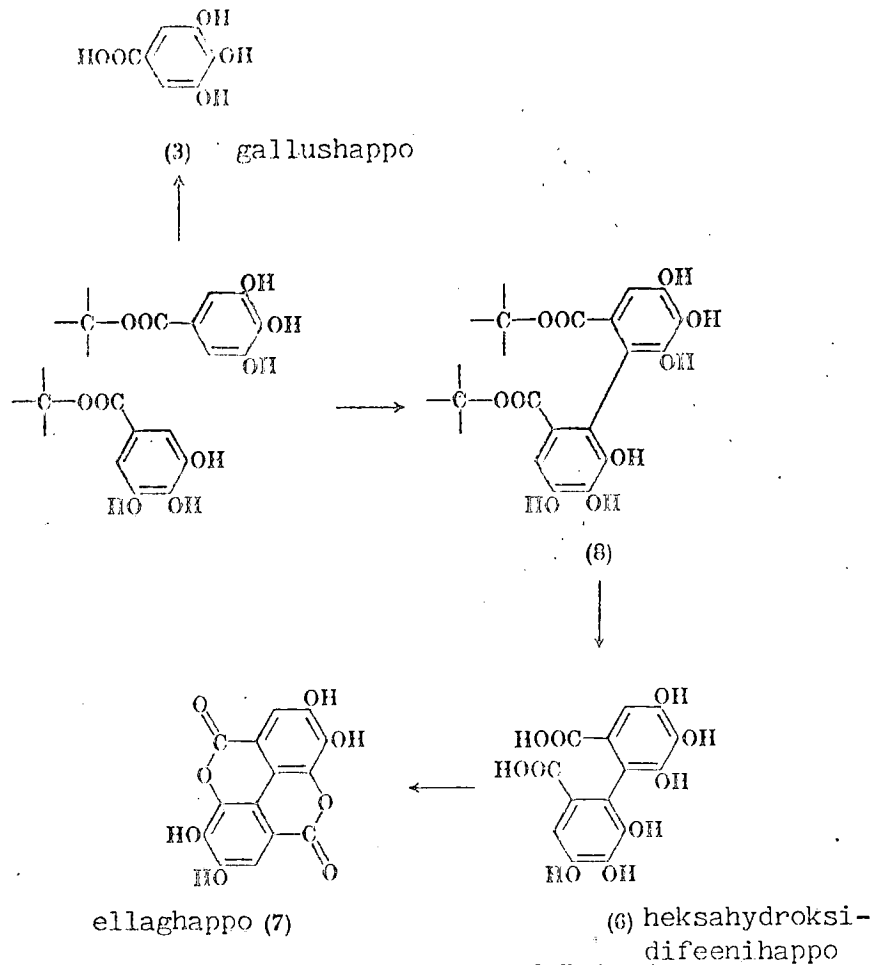


Fig. 4. Inter-relationship of the gallotannins and ellagitannins.

Kuva 3. Ellaghappo ja gallushappo ovat hydrolysoituvien tanniinien perusyksiköt (HASLAM, 1966).

Kondensoituneista tanniineista on käytetty myös nimitystä flavolaani (engl. flavolan) (SARKAR et al., 1976).

Polyfenolit ovat kasvikunnassa yleisiä sekundääriyhdisteitä. Ne eivät reagoi kasvissa itsessään, vaan ovat aineenvaihdunnan loppu- tuotteita, joita kerääntyy vakuoleihin. Niiden merkitystä luonnossa ovat selvittelleet ekologit, jotka ovat huomanneet tanniinien toimivan kasvien puolustautumiskeinona (mm. COOPER-DRIVER et al., 1977; FEENY, 1976; FOX ja MACAULEY, 1977; HARBORNE, 1977; HUKKIOJA et al., 1978; LEVIN, 1971 sekä RICE, 1974). Näiden tutkijoiden mukaan monien kasvien (mm. Quercus, Pteridium aquilinum, Betula tortuosa) hyönteis- ja yleensäkin herbivoriresistenssissä on tanniineilla osuutensa. Tämä ilmenee siten, että lehtien tanniinipitoisuudessa on vuodenzikasta

vaihtelua (COOPER-DRIVER et al., 1977; HARBORNE, 1977; HAUKTOJA et al., 1978), ja tanniinipitoisuuden noustessa yli kynnyksen toukat lakkaavat käyttämästä lehtiä ravinnokseen (HARBORNE, 1977). Sananjalan tanniinipitoisuus on lisäksi avoimilla kasvupaikoilla korkeampi kuin varjoisilla (COOPER-DRIVER et al., 1977).

Mainittu hyönteisresistenssi perustuu tanniinien kykyyn saostaa proteiineja ja muodostaa niiden kanssa usein palautumattomia, liukeneemattomia komplekseja, joita herbivorin elimistö ei pysty käyttämään hyväkseen (mm. HARBORNE, 1977). Vastaavasti linnut eivät syö Sorghum-lajikkeiden jyviä, jos niiden tanniinipitoisuus on korkea. Vähän tanniinia sisältävillä Sorghum-lajikkeilla sen sijaan lintujen aiheuttamat satotappiot ovat huomattavat USA:ssa (McMILLIAN et al., 1972; TIPTON et al., 1970). Se, että osa hyönteisistä pystyy käyttämään ravinnokseen runsaastikin tanniinia sisältäviä kasvinosia, johtunee elimistön pH-eroista (HARBORNE, 1977), sillä tanniinit haittaavat proteiinien sulavuutta tehokkaimmin pH:n ollessa suuruusluokkaa 4,2-7,0. Tammen lehdillä elävän hallamittarin toukan suoliston pH on 9,2, mikä saattaa olla sopeutuma, jotta enemmän typpeä saadaan irrotetuksi elimistön käyttöön proteiini-tanniini-komplekseista.

Tanniineilla on merkitystä kasveille myös suojausmekanismina joitakin sieniä, bakteereja ja jopa viruksia vastaan (mm. CADMAN, 1960; HARRIS ja BURNS, 1973; RICE, 1974). Virusresistenssin sanotaan perustuvan myös tanniinien saostamiskykyyn: ne saostavat viruspartikkeleita estäen siten viruksia toimimasta. - Kokeellisesti on todettu tanniinin haittaavan Herpes-viruksen kasvua soluviljelmissä (BÉLADI et al., 1965). - DADIC⁽¹⁹⁷¹⁾ on esittänyt teorian, jonka mukaan tanniinit hidastavat ja haittaavat syöpäsolujen kasvua estämällä niiden hengitysaineenvaihduntaa.

Tanniineja ja tanninogenejä on tutkittu myös elintarvikkeista. Oluen tanniini- ja antosyaanipitoisuuksia ovat tutkineet mm. DADIC et al. (1970). Antosyaaniton ja katekiiniton olut säilyy paremmin, sillä polyfenolit ovat pääsyy oluen samenemiseen (DADIC et al., 1970).

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

Rehukasvien korkealla tanniinipitoisuudella on omat haittavaikutuksensa, jotka ovat ilmenneet ruokittaessa mm. kananpoikia, porsaita ja rottia tanniinipitoisella ravinnolla (ALAVIUKKOLA, 1979; ELKIN et al., 1978; HERSTAD, 1978; LINDGRÉN, 1975; MARTIN-TANGUY et al., 1977). Nämä haittavaikutukset perustuvat tanniinien jo mainittuun ominaisuuteen sitoa proteiineja liukenemattomiksi komplekseiksi. Rehun sisältämän valkuaisen saostuessa käyttökeltottomaan 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, olivatpa ne sitten sienten entsyymejä tai peräisin lehmän pötsistä. Samoin nämä tanniinit estivät sekä trypsiinin että amylaasin toimintaa. TAMIR ja ALUMOT (1969) väittävät johanneksenleipäpuun kondensoituneiden tanniinien estävän trypsiinin ja α -amylaasin lisäksi myös lipaasin toimintaa, joskaan vaikutus lipaasiin ei ole yhtä voimakas kuin kahteen ensin mainittuun entsyymiin.

Sorghum-lajikkeiden jyvien sisältämien tanniinien vaikutusta rehunkuiva-aineen ja proteiinien sulavuuteen on tutkinut in vitro mm. CUMMINS (1971) ja Lespedeza cuneata-palkokasvin sisältämien tanniinien vaikutusta ovat tutkineet mm. DONNELLY ja WEAR (1972). Kokeet osoittivat tanniinien vähentävän sekä proteiinien että kuiva-aineen sulavuutta.

Rehun sisältämien tanniinien vaikutus näkyy kananpoikasten pienikokoisuutena, vaikka niiden käyttämä rehumäärä oli kontrolliryhmään verrattuna suurempi, kun niitä ruokittiin Sorghum-rehulla (ELKIN et al., 1978) tai härkäpavulla (HERSTAD, 1978; MARTIN-TANGUY et al., 1977). Näiden kasvien tanniinit ovat samantapaisia, kondensoituneita tanniineja, joiden polymerisaatioaste vaihtelee, ja joiden perusyksikkönä on prosyanidiini (MARQUARDT et al., 1978; STRUMEYER & MALIN, 1975). Myskisorsan poikasten kasvu oli niin ikään heikointa, kun niitä ruokittiin paljon tanniinia sisältävillä härkäpavuilla (MARTIN-TANGUY et al., 1977).

ELKIN et al. (1978) ovat todenneet runsaasti tanniinia (1.86%) sisältäviä Sorghum-lajikkeita syöneillä kananpojilla esiintyvän merkitsevästi enemmän jalka-anomaliaa (sääret ulospäin taipuneet ja kinnernivel paisunut) kuin niillä kananpojilla, joita ruokittiin vähän (0.37-0.44%) tanniinia sisältäneillä jyvillä.

MARQUARDT et al. (1977) ovat lisäksi havainneet annettaessa kananpoikasille härkäpavun kuoriosan kondensoituneita tanniineja (puhdistettuna 4% rehusta), että maksa jäi normaalia pienemmäksi.

Tutkittaessa munimisikäisiä kanoja tulokset olivat ristiriitaisia. LINDGRENin (1975) mukaan rehun tanniinipitoisuus ei vaikuttanut kanojen munintaan, mutta MARTIN-TANGUY et al. (1977) päätyivät päinvastaiseen tulokseen. Näiden tutkijoiden mukaan rehun (härkäpavu) korkea tanniinipitoisuus näytti sekä pienentävän munien painoa että vähentävän munien määrää.

Rottakokeissa havaittiin (EGGUM, 1977), että tanniinin määrän vaihdellessa 0.55%-1.23% typen sulavuus aleni 86.9%:sta 82.7%:iin eli 4.2 prosenttiyksikköä tyypipitoisuuden ollessa kummassakin tapauksessa sama (2%).

LINDGRENin (1975) arvion mukaan raakaproteiinin sulavuuskerroin saataisiin nousemaan viidellä prosenttiyksiköllä, jos kasvinjalostuksella onnistuttaisiin pudottamaan rehun tanniinipitoisuutta kahdesta prosentista yhteen prosenttiin.

DONNELLY ja ANTHONY (1973) ovat tutkineet Lespedeza cuneata-rehua. Tästä palkokasvista on olemassa vähätanniinisia ja runsastanniinisia lajikkeita. DONNELLY ja ANTHONY (1973) vertasivat näiden eri lajikkeiden sulavuutta nuorten härkien pötsissä pötsiavannetta käyttäen ja totesivat korkean tanniinipitoisuuden heikentävän sekä proteiinien että yleensä kuiva-aineen sulavuutta. DONNELLY ja ANTHONY eivät tutkineet, mitä tanniini-proteiini-kompleksille tapahtuu sen jälkeen, kun se uudelleen nieltynä siirtyy satakertaan sekä edelleen juoksutusmahaan ja suolistoon.

Lehmillä esiintyvään puhallustautiin on myös väitetty rehun sisältämien tanniinien liittyvän (mm. JONES et al., 1976; GOSDEN, 1978). Tässä tapauksessa tanniineilla näyttää kuitenkin olevan edullinen vaikutus, sillä runsas tanniinimäärä palkokasvissa estää puhallustaudin lehmissä. Palkokasvirehu, jossa on vähän tanniineja, vaahtoa lehmän pötsissä, jolloin pötsi laajenee, ja pahimmassa tapauksessa eläin tukehtuu. Sen sijaan proteiini-tanniini-kompleksit, joita muodostuu tanniineista ja lehden sekä syljen valkuaisaineista, estävät mainitun vaahtoamisen pötsissä. Suolessa nämä kompleksit sitten JONESin et al. (1976) mukaan hajoavat käyttökelpoiseen muotoon. GOOSDENin (1978) mukaan tämä kompleksien pilkkoutuminen tapahtuu jo ennen suolistoon joutumista, ja syynä on pH-arvon muutos ruoansulatuselimistön eri osissa. Monimahaiset siis pystyvät ilmeisesti käyttämään tanniinipitoista rehua hyödykseen ilman haittavaikutuksia. - Vastaava tilanne kuin lehmillä on ilmeisesti myös lampailla, sillä raakaproteiinin sulavuudessa ei havaittu parkkihappopitoisuuserojen aiheuttavan merkitseviä eroja (SÄTERBY, 1976).

Lihaskojen kasvu- ym. arvoissa ei havaittu eroja ruokittaessa niitä herneillä, joissa parkkihappopitoisuudet erosivat toisistaan. Vastaavia kokeita ei tehty emakoilla eikä pikkuporsailla (ALAVIUHKOLA, 1979). Ruokittaessa sikoja härkäpavulla saatiin ristiriitaisia tuloksia, joten tarvitaan lisätutkimuksia kuten ALAVIUHKOLAKin (1979) toteaa.

Edellä esitetystä on käynyt ilmi tanniinien monenlainen biologinen, lähinnä ekologinen merkitys. Tanniinitutkimusten tärkeyttä lisäävät myös taloudelliset näkökohdat. Varsinkin rehukasvien tanniinit liittyvät kiinteästi maailman proteiiniongelmien. Rehukasveista on tutkittu etenkin durran (Sorghum) tanniinipitoisuutta (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%. (Tanniinipitoisuus vaihtelee jonkin verran myös käytetystä analyysimenetelmästä riippuen.)

Heinäkasveissa (Gramineae) tanniinit ovat yleensä harvinaisia. Sorghum-lajikkeiden lisäksi tanniineja on myös ohrassa (mm. DADIC et al., 1970) ja korakaanissa (RAMACHANDRA et al., 1977). Korakaanin (Eleusine coracana Gaertn.) jyvien tanniinipitoisuus vaihteli 0.04% - 3.47%. Ohrasta tunnetaan myös tanniiniton mutantti ant-13 (v. WETTSTEIN et al., 1977).

Palkokasvit (Leguminosae) ovat tärkeä valkuaislähde, mutta niiden arvokkaiden proteiinien hyväksi käyttöä haittaavat tanniinit, joita on esim. härkäpavun (Vicia faba L.) siemenissä 0% - 1.78% (mm. GRIFFITHS, 1978; HERSTAD, 1978; MARQUARDT et al., 1978; MARTIN-TANGUY et al., 1977; PICARD, 1976 ja BINGEFORS, 1975). - Myös Lespedeza cuneata (Dumont) G. Don sisältää tanniineja sekä lehdissä (2.8% - 9.3%) että varsissa (1.5% - 3.0%) (mm. DONNELLY & ANTHONY, 1973; DONNELLY & WEAR, 1972; SARKAR et al., 1976). - Eri Astragalus-lajien lehtien tanniinipitoisuus vaihtelee 0.05% - 2.03% (DAVIS, 1973). - Apiloista vain Trifolium arvense, T. campestre ja T. dubium sisältävät tanniineja, kun taas puna- ja valkoopilasta (T. pratense ja T. repens) ne puuttuvat (SARKAR et al., 1976) vanilliini-suolahappomenetelmällä analysoitaessa.

Herneen (Pisum sativum) siementen parkkihappoja on tutkinut BINGEFORS (1975) ja todennut valkokukkaisten herneiden sisältävän vähemmän (0.46% - 0.61%) tanniineja kuin kirjavakukkaisten (0.98% - 1.42%). Ruokintakokeissa LINDGREN (1975) on todennut tämän parkkihappopitoisuuseron korreloivan

negatiivisesti kananpoikasten kasvun kanssa. Lihanikakokeissa sen sijaan ei havaittu merkitseviä eroja ruokittaessa toista koe-eläinryhmää valkokukkaisten hernelajikkeiden siemenillä ja toista kirjavakukkaisten herneiden siemenillä (ALAVIUKKOLA, 1979).

Tanniinipitoisuuden periytymisestä on hyvin vähän julkaistu tietoja. Eri Sorghum-lajien ja -lajikkeiden jyvien tanniinipitoisuuden periytymistä ovat tutkineet PARODA et al. (1975) sekä DANGI ja PARODA (1978). PARODA et al. (1975) väittävät, että vähätanniinisuutta aiheuttavat enimmäkseen dominoivat geenit siten, että jokaista tanniinipitoisuuteen vaikuttavaa resessiivistä geeniä kohti on ainakin 2-3 dominoivaa geeniä tai geeniryhmää. Tämän tutkijaryhmän mukaan tanniinipitoisuus on enemmän perintötekijöiden kuin ympäristötekijöiden määräämä ominaisuus (heritabiliteetti 60,88%). DANGI ja PARODA (1978) toteavat myös, että alhainen tanniinipitoisuus dominoi. Neljässä risteytyksessä oli myös negatiivista heteroosia havaittavissa. - MAXSON et al. (1972) toteavat, että myös ympäristötekijöillä on osuutta Sorghum-lajikkeiden jyvien tanniinipitoisuuden muuntelussa, mutta sitä, mitkä ympäristötekijät ovat vaikuttamassa, ei tiedetä.

Tanniinittomien mutanttien löytyminen ohrasta (v. WETTSTEIN et al., 1977) ja härkäpavusta (MARQUARDT et al., 1978; PICARD, 1976) todistaa tanniinipitoisuuden olevan geneettinen ominaisuus. Härkäpavun tanniinittoman siemenkuoren periytymistä on tutkinut PICARD (1976) ja todennut, että tanniinien puuttumista kontrolloivat resessiiviset geenit, joista kaksi on identifioitu. Nämä geenit katkaisevat antosyaanisynteesin tai antosyaaniprekursorien synteesin eri vaiheessa, jolloin lopputuloksena ovat valkoiset kukat. - Ohran tanniiniton mutantti on myös resessiivisen geenin/geenien aiheuttama ja kaikkialta kasvusta puuttuvat lisäksi antosyaanit (v. WETTSTEIN et al., 1977).

Oman työni tarkoituksena oli tutkia parkkihappopitoisuudessa ilmenevää muuntelua eri hernelajikkeiden siemenissä ja etsiä vähätanniinista aineistoa jalostustyöhön. Tanniinianalyysit tehtiin pääasiassa siemenistä, koska lehtien ja varsien tanniinipitoisuus vaihtelee kasvukauden aika-

na ainakin sananjalassa (Pteridium aquilinum), ja lisäksi on todettu myös kasvupaikan varjoisuudella olevan vaikutusta lehtien tanniinipitoisuuteen (COOPER-DRIVER et al., 1977). Avoimilla paikoilla kasvaneissa sananjaloiissa on todettu enemmän tanniineja kuin varjoisten alueiden sananjaloiissa. Siemenissä ei tällaisten tekijöiden aiheuttamaa vaihtelua ole havaittu.

Täysin tanniinitonta hernenutanttia ei ole löydetty. Alimmat tanniinipitoisuudet olivat ruokaherneellä (Pisum sativum ssp. sativum), joka on valkokukkainen (0.36-0.60%) ja korkeimmat kirjavakukkaisella alalajilla (Pisum sativum ssp. arvense), jota käytetään rehuherneenä (0.69-1.95%).

1. Aineisto ja menetelmät

1.1. Aineisto

Tanniinianalyysit on tehty Maatalouden tutkimuskeskuksen kasvinjalostuslaitoksen aineistosta, vuosien 1976, 1977 ja 1978 sadoista. Koska vuodet 1977 ja 1978 olivat huonoja hernevuosia, analyysijä on eniten vuoden 1976 sadosta.

Herneestä tutkittiin kahta eri alalajia, ruokaherneenä käytettyä (Pisum sativum ssp. sativum) ja rehuherneenä käytettyä (P. sativum ssp. arvense). Nämä alalajit eroavat toisistaan kukan värin ja siemenkuoren värin perusteella. P. sativum ssp. sativum on valkokukkainen ja sen siemenkuori on väritön, joten keltaiset tai vihreät sirkkalehdet kuultavat sen läpi. P. sativum ssp. arvense on kirjavakukkainen ja sen siemenkuori on värillinen, vaalean tai keskiruskea, usein marmorikuviainen.

Kummankin alalajin lajikkeiden siemeniä analysoitiin yhteensä 385 näytettä, neljä rinnakkaisanalyysiä kustakin. 23 lajiketta, 25 hybridiä (eri sukupolvina F_2 - F_{15}) ja 17 eri linjaa tutkittiin. Alalajista P. sativum ssp. sativum analysoitiin siemeniä seuraavista lajikkeista, linjoista tai hybrideistä: Aska, Hertta, Kalle, Kiri, Kronenerbse, Lotta, Maro, Proco, Riitto, Rondo, Simo, Stivo, Torstai III, Ville, Jo 1069, Jo 1070, Jo 9161, Riitto x Rondo (F_{15}), Riitto x Torstai III (F_{15}), Riitto x Torstai III (F_{15}), Kronenerbse x Kalle (F_{11}), Torstai III x Kalle (F_{10}) (7522), Torstai III x Kalle (F_{10}) (7523), Simo x Torstai III (F_9), Rondo x Simo (F_9 ja F_{10}), Lotta x Simo (F_3), Simo x Hertta (F_3), Simo x Maro (F_9) (9259) ja (9292), Simo x Maro (F_9) (9293). - Alalajista P. sativum ssp. arvense analysoitiin siemeniä seuraavista lajikkeista, linjoista tai hybrideistä: Bello, Lysima, Nadja, Poneka, Regina, Timo, Vesta, Violetta, Jo 6728, Jo 7636, Jo 5014, Jo 5041, Bello x Jo 6728 (F_2), Bello x Jo 7636 (F_2), Bello x Timo (F_2), Bello x Vesta (F_3), Lysima x Timo (F_2), Poneka x Jo 7636 (F_2), Poneka x Vesta (F_2), Regina x Bello (F_2), Vesta x Timo (F_8) (7634) ja (7635) sekä Violetta x Timo (F_9).

Varastokuivat siemenet (kosteus keskimäärin 16-17%) jauhettiin ja kutakin analyysiä varten punnittiin 1,000g näyte rehuhernettä ja 2,000g

ruokahernettä.

1.2. Kemialliset menetelmät

1.2.1. Folin-Denis-menetelmä

Virallisena menetelmänä tanniinipitoisuuden määrittämiseksi mainitaan ns. Folin-Denis-menetelmä, joka perustuu tanniinien värireaktioon reagenssin kanssa ja värin voimakkuuden spektrofotometriseen mittaukseen (Association of Official Analytical Chemists, 1970).

Reagenssi:

375 ml tislattua vettä

25 ml ortofosforihappoa (85%) Merck 573

50 g $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ Merck 6673

10 g $\text{H}_3(\text{P}(\text{Mo}_3\text{O}_{10})_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$ Merck 532

Seosta keitetään kahden tunnin ajan pystyjäähdyttäjän alla sähköhauteella, minkä jälkeen liuos jäädytetään ja kaadetaan 500 ml:n mittapulloon, joka täytetään tislatulla vedellä.

Kyllästetty Na_2CO_3 -liuos:

70 g vedetöntä Na_2CO_3 Merck 6392

200 ml tislattua vettä

Liuoksen annetaan seistä yön yli. Liukenematon Na_2CO_3 annetaan jäädä pullon pohjalle ja kyllästetty liuos kaadetaan varovasti sen päältä pois toiseen astiaan.

Suoritus:

1,000 g reuhernejauhoa (tai 2,000 g ruokahernejauhoa) keitetään 200 ml:n kanssa tislattua vettä 30 minuuttia pystyjäähdyttäjän alla sähköhauteella. Vesiliuoksen annetaan jäähtyä, minkä jälkeen se kaadetaan sentrifugiputkiin ja sentrifugoidaan 5 minuuttia 3000 kierrosta/min. (BHG Segurita). Sentrifugointi toistetaan ja yhdistetyt liuosmäärät kustakin näytteestä kaadetaan 500 ml:n mittapulloihin, jotka täytetään tislatulla vedellä.

Näistä näyteliuoksista (500 ml) pipetoidaan 5 ml 100 ml:n mittapulloihin, joihin lisätään kuhunkin 50 ml tislattua vettä sekä 5 ml edellä selostettua Folin-Denis-reagenssia ja 10 ml kyllästettyä Na_2CO_3 -liuosta. Mittapullot

täytetään tislattulla vedellä. Liuosta ravistellaan ja sen annetaan seistä 30 minuuttia. Tämän jälkeen mittapulloista otetaan kyvetteihin siniseksi värjäytynyttä näytettä, jonka absorbanssi mitataan aallonpituudella 670 nm. Käytetty spektrofotometri on ollut Bausch & Lomb Spectronic 20.

Saatuja absorbanssilukemia vastaavat parhkiainepitoisuudet saadaan standardikäyrältä, joka on piirretty millimetripaperille käyttäen tanniiniliuoksia (J. T. BAKER, 1199 tannic acid, MP 1701), joiden pitoisuus tunnetaan (0.1 mg, 0.2 mg, 0.3 mg, 0.5 mg, 0.9 mg/100 ml).

1.2.2. Eetteriuutto

Mahdollisten häiritsevien aineiden, esim. lipidien, uuttamiseksi pois näytteistä käytettiin 20 tunnin dietyylieetteri (Merck 921) -uuttoa Soxhlet-laitteella ennen analysointia.

Uutoshylsyn (MN 645; 33 x 94 mm) sisällön annettiin kuivua uuttamisen jälkeen. Kuivunut näyte siirrettiin 500 ml:n keittopulloon, johon lisättiin 200 ml tislattua vettä. Analysointia jatkettiin tämän jälkeen kuten edellä (1.2.1.) on selostettu.

1.2.3. Vanilliini-suolahappomenetelmä

BURNSin (1971) vanilliini-suolahappomenetelmää on käytetty useimmiten Sorghum-lajien ja -lajikkeiden jyvien tanniinipitoisuuden määrittämiseen. Tässä menetelmässä käytetään standardina (+)-katekiiniliuoksia (Sigma C-1251), joiden pitoisuus tunnetaan.

Reagenssi:

100 ml 8 % väk. suolahappoa (Merck 317) metanolissa (Merck 6009)

100 ml 4 % vanilliini (BDH 10291) metanolissa (Merck 6009)

Reagenssin komponentit sekoitetaan vasta näytteeseen lisättäessä.

Suoritus:

Punnitaan 1,000 g näyte, johon lisätään 50 ml metanolia.

Ravistellaan silloin tällöin ja annetaan olla pimeässä 24 tuntia.

- Supernatanttia pipetoidaan 1 ml kyvetiin, johon lisätään nopeasti 2.5 ml suolahappometanolia ja 2.5 ml vanilliinimetanolia. Absorbanssi mitataan 20 minuutin kuluttua spektrofotometrillä aallonpituudella 500 nm.

1.3. Tilastolliset menetelmät

Keskiarvot, keskivirheet sekä yhden tekijän varianssianalyysit on laskettu pienoistietokoneella (Olivetti Programma 101).

Korrelaatiokerroin r ja regressiosuoran yhtälö sekä keskiarvojen vertaus TUKEYn testillä on suoritettu MÄKISEN (1968) mukaan.

2. Tulokset

2.1. Eetteriuutto

Eetteriuuton tarpeellisuuden selvittämiseksi tehtiin analyysyjä paitsi ruokaherneestä (Pisum sativum ssp. sativum) ja rehuherneestä (P. sativum ssp. arvense) myös härkäpavusta (Vicia faba) ja rehuvirnasta (V. sativa). Vertailtavat analyysit suoritettiin muuten samoin, mutta toista ryhmää uutettiin ennen analysointia 20 tuntia dietyylieetterillä, toista ei. Vertailussa on mukana ilman eetteriuuttoa analysoituja näytteitä 70 ja eetterillä uutettuja 48. Tulokset on esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. Eetteriuuton vaikutus tanniinipitoisuusanalyysihin.

| lajike | ilman eetteriuuttoa | | | eetteriuuton jälkeen | | |
|-----------------------------------|---------------------------------|-----|----------|-------------------------------------|-----|--|
| | tanniini% keskiarvo \pm SE | | | tanniini% keskiarvo \pm SE (n) | | |
| <u>Pisum sativum ssp. sativum</u> | | | | | | |
| Hertta | 0.53 \pm 0.02 | (5) | F=4.644 | 0.44 \pm 0.05 | (4) | |
| Rondo | 0.48 \pm 0.02 | (9) | F=13.882 | 0.34 \pm 0.02 | (4) | |
| Jo 9161 | 0.49 \pm 0.03 | (5) | F=4.9428 | 0.40 \pm 0.02 | (4) | |
| Kiri | 0.56 \pm 0.02 | (3) | F=3.5625 | 0.43 \pm 0.06 | (3) | |
| Simo | 0.49 \pm 0.02 | (9) | F=3.4285 | 0.43 \pm 0.02 | (3) | |
| Riitto | 0.50 \pm 0.02 | (6) | F=3.3437 | 0.43 \pm 0.02 | (3) | |
| Lotta | 0.54 \pm 0.01 | (6) | F=3.2000 | 0.51 \pm 0.01 | (3) | |
| <u>P. sativum ssp. arvense</u> | | | | | | |
| Jo 7636 | 1.60 \pm 0.02 | (8) | F=7.3000 | 1.46 \pm 0.06 | (3) | |
| Jo 6728 | 0.96 \pm 0.03 | (6) | F=0.0000 | 0.96 \pm 0.04 | (5) | |
| <u>Vicia faba</u> | | | | | | |
| Arla | 1.63 \pm 0.19 | (3) | F=0.1040 | 1.55 \pm 0.12 | (3) | |
| Pirhonen | 1.78 \pm 0.04 | (2) | F=1.4020 | 1.56 \pm 0.14 | (3) | |
| Mikko | 1.83 \pm 0.10 | (2) | F=1.2154 | 1.61 \pm 0.13 | (4) | |
| Korkeamäki(vaal.) | 2.10 \pm 0.00 | (3) | F=4.7179 | 2.25 \pm 0.07 | (3) | |
| <u>V. sativa</u> | | | | | | |
| Hanka | 1.27 \pm 0.19 | (3) | F=0.0016 | 1.31 \pm 0.04 | (3) | |

n= analyysien lukumäärä

F:n arvot saatu yhden tekijän varianssianalyysillä

Yhden tekijän varianssianalyysillä todettiin, ettei eetteriuutto aiheuta tilastollisesti merkitseviä eroja tanniinipitoisuusarvoihin. Tämän tuloksen perusteella eetteriuuton käytöstä luovuttiin, koska se vie paljon aikaa. Seuraavassa (2.2. ja 2.3.) esitetyt tulokset on saatu ilman eetteriuuttoa suoritetuista analyyseistä.

2.2. Ruokaherneen (Pisum sativum ssp. sativum) siementen tanniinipitoisuus

Tämän alalajin kukkien väri on valkoinen, siemenkuori läpikuultava ja sirkkalehdet joko vihreät tai keltaiset. Analysoitiin kolmen eri sadon siemeniä (1976, 1977 ja 1978). Vuoden 1976 sadosta analysoitiin yhteensä 103 näytettä, neljä rinnakkaisanalyysejä kustakin. Vuoden 1977 sadosta analysoitiin yhteensä 57 näytettä, neljä rinnakkaisanalyysejä jokaisesta ja vuoden 1978 sadosta 24 näytettä, neljä rinnakkaisanalyysejä kustakin. Tanniinipitoisuus vaihteli tällä alalajilla 0.36%-0.60%. Tulokset on esitetty taulukoissa 2 ja 3 (sivu 17 ja 18).

Vain lajikkeella Lotta ja hybridillä Rondo x Simo on eri satovuosien välinen tanniinipitoisuusero ollut 5% riskitasolla merkitsevää, muu vuosivaihtelu sen sijaan ei ole ollut tilastollisesti merkitsevää.

Verrattaessa kaikkia analysoituja ruokahernenäytteitä keskenään (taul.4) yhden tekijän varianssianalyysillä pienoistietokoneella (Olivetti Programma 101) todettiin, ettei minkään ruokahernelajikkeen siementen tanniinipitoisuus ole tilastollisesti merkitsevästi toisia alempi ($F=1.3750 < 1.65$).

Taulukko 2. Ruokaherneen (Pisum sativum ssp. sativum) siementen tanniini-
pitoisuuksia Folin-Denis-menetelmällä määritettyinä vuoden 1976 sadosta.

| lajike | (n) | tanniini% keskiarvo \pm SE | siemenalh väri |
|---|-----|---------------------------------|-------------------|
| Jo 1070 | (3) | 0.43 \pm 0.02 | kelt. |
| Ville | (3) | 0.45 \pm 0.01 | vihr. |
| Aska | (3) | 0.47 \pm 0.01 | vihr. |
| Jo 1069 | (3) | 0.47 \pm 0.03 | kelt. |
| Rondo | (9) | 0.48 \pm 0.02 | vihr. |
| Riitto x Rondo (F ₁₅) | (3) | 0.48 \pm 0.04 | vihr. |
| Kronenerbse | (3) | 0.49 \pm 0.01 | kelt. |
| Simo | (9) | 0.49 \pm 0.02 | vihr. |
| Jo 9161 | (5) | 0.49 \pm 0.03 | vihr. |
| Riitto x Torstai III (F ₁₅) | (3) | 0.49 \pm 0.04 | vihr. |
| Stivo | (3) | 0.50 \pm 0.01 | kelt. |
| Riitto | (6) | 0.50 \pm 0.02 | vihr. |
| Kalle | (3) | 0.51 \pm 0.01 | vihr. |
| Simo x Hertta (F ₃) | (4) | 0.51 \pm 0.01 | vihr. |
| Torstai III x Kalle (F ₁₀) | (3) | 0.51 \pm 0.01 | kelt. |
| Torstai III | (6) | 0.51 \pm 0.02 | kelt. |
| Torstai III x Kalle (F ₁₀) | (3) | 0.52 \pm 0.03 | vihr. |
| Simo x Torstai III (F ₉) | (3) | 0.52 \pm 0.04 | vihr. |
| Hertta | (5) | 0.53 \pm 0.02 | vihr. |
| Riitto x Torstai III (F ₁₅) | (3) | 0.53 \pm 0.04 | kelt. |
| Lotta | (6) | 0.54 \pm 0.01 | kelt. |
| Lotta x Simo (F ₃) | (4) | 0.54 \pm 0.02 | vihr. |
| Kronenerbse x Kalle (F ₁₁) | (3) | 0.54 \pm 0.02 | vihr. |
| Rondo x Simo (F ₉) | (4) | 0.55 \pm 0.01 | vihr. |
| Kiri | (3) | 0.56 \pm 0.02 | vihr. |

Taulukko 3. Ruokaherneen (*Pisum sativum* ssp. *sativum*) siementen tanniini-
pitoisuuksia Folin-Denis-menetelmällä määritettynä vuosien 1977 ja 1978
sadosta.

| lajike | (n) | 1977 tanniini% keskiarvo \pm SE | 1978 tanniini% keskiarvo \pm SE | (n) |
|---------------------------------|-----|---|---|-----|
| Simo x Maro (F ₉) | (3) | 0.42 \pm 0.01 | | |
| " " " | (3) | 0.43 \pm 0.00 | | |
| " " " | (3) | 0.44 \pm 0.01 | | |
| Rondo x Simo (F ₁₀) | (3) | 0.47 \pm 0.02 | | |
| Rondo | (6) | 0.43 \pm 0.01 | 0.45 \pm 0.01 | (3) |
| Jo 1070 | (3) | 0.43 \pm 0.01 | | |
| Jo 1069 | (3) | 0.46 \pm 0.00 | | |
| Jo 9161 | (3) | 0.44 \pm 0.01 | | |
| Proco | (3) | 0.46 \pm 0.03 | 0.51 \pm 0.01 | (3) |
| Maro | (3) | 0.45 \pm 0.01 | | |
| Simo | (6) | 0.47 \pm 0.02 | 0.50 \pm 0.00 | (3) |
| Lotta | (3) | 0.48 \pm 0.02 | 0.52 \pm 0.01 | (3) |
| Riitto | (3) | 0.50 \pm 0.01 | 0.48 \pm 0.01 | (3) |
| Stivo | (3) | 0.47 \pm 0.00 | 0.49 \pm 0.00 | (3) |
| Hertta | (3) | 0.50 \pm 0.01 | 0.52 \pm 0.01 | (3) |
| Kiri | (3) | 0.50 \pm 0.00 | 0.54 \pm 0.02 | (3) |
| Aska | (3) | 0.51 \pm 0.02 | | |

Taulukko 4. Vuosivaihtelussa ilmenneiden erojen merkitsevyys (yhden tekijän
varianssianalyysi). (* = 5% riskitasolla merkitsevä)

| | | |
|--------------|--|--------------------------------|
| Simo | (1976, 1977, 1978) | F = 0.6521 < 3.68 |
| Stivo | (1976, 1977, 1978) | F = 5.000 < 5.14 |
| Kiri | (1976, 1977, 1978) | F = 3.500 < 5.14 |
| Riitto | (1976, 1977, 1978) | F = 0.2173 < 4.26 |
| Hertta | (1976, 1977, 1978) | F = 1.1250 < 4.46 |
| Rondo | (1976, 1977, 1978) | F = 1.8750 < 3.68 |
| Lotta | (1976, 1977, 1978) | F = 4.333 > 4.26 * < 8.02 |
| Aska | (1976, 1977) | F = 1.666 < 7.71 |
| Rondo x Simo | (1976, 1977) (F ₃) (F ₁₀) | F = 14.875 > 6.61 * < 16.26 |
| Jo 1069 | (1976, 1977) | F = 0.1333 < 7.71 |
| Jo 1070 | (1976, 1977) | F = 0.000 < 7.71 |
| Jo 9161 | (1976, 1977) | F = 0.8918 < 5.99 |

2.3. Rehuherneen (Pisum sativum ssp. arvense)

siementen tanniinipitoisuus

Alalajin ssp. arvense kukat ovat kirjavat ja siemenkuori värillinen, joko vaalean tai keskiruskea, usein marmorikuviainen. Folin-Denis-menetelmällä analysoitiin kahden eri satovuoden (1976 ja 1977) siemeniä yhteensä 141 näytettä, neljä rinnakkaisanalyysiä kustakin. Tanniinipitoisuus vaihteli tällä alalajilla 0.69%-1.95%. Tulokset on esitetty taulukoissa 5 ja 6.

Taulukko 5. Rehuherneen (Pisum sativum ssp. arvense) siementen tanniinipitoisuudet vuosien 1976 ja 1977 sadoista Folin-Denis-menetelmällä mitattuna.

| lajike | 1976 analyysien lukumäärä (n) | 1976 tanniinipit. (%) keskiarvo \pm SE | 1977 (n) | 1977 \bar{x} \pm SE |
|-------------------------------------|-------------------------------------|--|-------------|----------------------------|
| Bello x Jo 6728 (F ₂) | (4) | 0.82 \pm 0.05 | | |
| Jo 6728 (Sinikka x Hohenheimer) | (6) | 0.96 \pm 0.03 | | |
| Poneka | (3) | 1.02 \pm 0.06 | | |
| Regina x Bello (F ₂) | (4) | 1.03 \pm 0.02 | | |
| Bello x Jo 7636 (F ₂) | (4) | 1.08 \pm 0.03 | | |
| Poneka x Vesta (F ₂) | (3) | 1.10 \pm 0.07 | | |
| Bello x Vesta (F ₃) | (4) | 1.10 \pm 0.07 | | |
| Lysima | (4) | 1.10 \pm 0.01 | (3) | 1.35 \pm 0.01 |
| Bello x Timo (F ₂) | (5) | 1.11 \pm 0.03 | | |
| Timo | (12) | 1.11 \pm 0.04 | (3) | 1.55 \pm 0.04 |
| Poneka x Jo 7636 (F ₂) | (3) | 1.12 \pm 0.02 | | |
| Regina | (4) | 1.20 \pm 0.04 | | |
| Lysima x Timo (F ₂) | (4) | 1.20 \pm 0.05 | | |
| Bello | (11) | 1.24 \pm 0.04 | (3) | 1.22 \pm 0.07 |
| Violetta | (6) | 1.29 \pm 0.05 | (3) | 1.40 \pm 0.04 |
| Violetta x Timo (F ₉) | (4) | 1.48 \pm 0.06 | | |
| Nadja | (3) | 1.51 \pm 0.05 | (3) | 1.46 \pm 0.01 |
| Vesta x Timo (F ₈) 7634 | (5) | 1.57 \pm 0.06 | | |
| Jo 7636 (Sinikka x Hohenheimer) | (8) | 1.60 \pm 0.02 | | |
| Vesta | (12) | 1.62 \pm 0.06 | (3) | 1.75 \pm 0.07 |
| Jo 5014 (Viol. x Timo) | (3) | 1.67 \pm 0.02 | | |
| Vesta x Timo (F ₈) 7635 | (5) | 1.71 \pm 0.05 | | |
| Jo 5041 (Vesta x Timo) | (3) | 1.76 \pm 0.10 | | |

Taulukko 6. Rehuherneen (P. sativum ssp. arvense)

siementen tanniinipitoisuuksien vuosivaihtelun tilastollinen merkitsevyys (yhden tekijän varianssianalyysi).

| | | | | |
|----------|--------------|-------------|---------|---------------------|
| Timo | (1976, 1977) | F = 25,8531 | > 17,81 | erittäin merkitsevä |
| Lysima | (1976, 1977) | F = 550,0 | > 47,18 | " " |
| Bello | (1976, 1977) | F = 0,0839 | < 4,75 | ei merkitsevä |
| Vesta | (1976, 1977) | F = 1,1449 | < 4,67 | " " |
| Violetta | (1976, 1977) | F = 2,1607 | < 5,59 | " " |
| Nadja | (1976, 1977) | F = 0,9705 | < 7,71 | " " |

Vain lajikkeiden Timo ja Lysima vuosivaihtelu oli tilastollisesti erittäin merkitsevää. Muiden verrattujen rehuhernelajikkeiden väliset vuotuiset erot tanniinipitoisuudessa eivät olleet tilastollisesti merkitseviä.

Yhden tekijän varianssianalyysin avulla todettiin, että rehuhernelajikkeista muutamien tanniinipitoisuus oli 1976 erittäin merkitsevästi muita alempi ($F = 26,2517 > 2,40$). Tämän jälkeen laskettiin TUKEYn keskiarvotestillä (MÄKINEN, 1968) pienin merkitsevä erotus 5% riskitasolla. Taulukossa 7 on esitetty eri rehuhernelajikkeiden välisen tanniinipitoisuuseron merkitsevyys (+) 5% riskitasolla.

Taulukko 7. Rehuhernelajikkeiden siementen tanniinipitoisuus-
erojen tilastollinen merkitsevyys 5% riskitasolla TUKEYn
keskiarvotestin perusteella vuoden 1976 sadosta (pienin
merkitsevä erotus D=0.27, + = ero merkitsevä 5%riskitasolla).

Bello x Jo 6728

Jo 6728

Poneka

Regina x Bello

Bello x Jo 7636

Poneka x Vesta +

Bello x Vesta +

Lysima +

Bello x Timo +

Timo +

Poneka x Jo 7636 +

Regina +

Lysima x Timo +

Bello + +

Violetta + + +

Violetta x Timo + + + + + + + + + + + +

Nadja + + + + + + + + + + + +

Vesta x Timo (7634) + + + + + + + + + + + + + +

Jo 7636 + + + + + + + + + + + + + +

Vesta + + + + + + + + + + + + + +

Jo 5014 + + + + + + + + + + + + + +

Vesta x Timo (7635) + + + + + + + + + + + + + +

Jo 5041 + + + + + + + + + + + + + + +

Bello x Jo 6728

Jo 6728

Poneka

Regin a x Bello

Bello x Jo 7636

Poneka x Vesta

Bello x Vesta

Lysima

Bello x Timo

Timo

Poneka x Jo 7636

Regina

Lysima x Timo

Bello

Violetta

Violetta x Timo

2.4. Herneen siementen ja taimien tanniinipitoisuuden korrelaatio.

Hernelajikkeiden Poneka, Lysima, Regina, Bello, Vesta, Jo 7636 sekä hybridien Simo x Maro, Rondo x Simo, Bello x Jo 6728, Bello x Jo 7636, Bello x Vesta, Poneka x Vesta, Bello x Timo, Poneka x Jo 7636 ja Lysima x Timo siemeniä kasvatettiin 25 vrk sisällä laboratoriossa (17.11.-12.12.1978). Taimet kuivatettiin lämpökaapissa (80°C) 1 vrk ja analysoitiin Folin-Denis-menetelmällä. Taimien tanniinipitoisuus vaihteli 0.91-1.50%. Tuloksia verrattiin siementen tanniinipitoisuuksien keskiarvoihin (kuva 6.) ja havaittiin suuntaa antava positiivinen korrelaatio siementen ja taimien tanniinipitoisuuksien välillä ($r = 0.478$, regressiosuora $y = 0.27x + 0.82$).

2.5. Pimeässä kasvatettujen taimien tanniinipitoisuuksia.

Vestan ja Reginan sekä hybridien Bello x Timo, Poneka x Vesta, Lysima x Timo ja Poneka x Jo 7636 taimia kasvatettiin pimeässä 12 vrk (24.5.-5.6.1979). Varret, juuret ja siemenen jäännökset erotettiin toisistaan ja kuivatettiin lämpökaapissa (1 tunti 110°C), minkä jälkeen tanniinipitoisuus määritettiin Folin-Denis-menetelmällä. Saadut arvot ja siementen tanniinipitoisuuden keskiarvot on esitetty taulukossa 8.

Taulukko 8. Pimeässä 12 vrk kasvatettujen taimien tanniinipitoisuudet sekä siementen keskimääräiset tanniinipitoisuudet.

| | TANNIINIPITOISUUS (%) | | | |
|------------------|-----------------------|------------|--------|-------------|
| | idut | siemenjäte | juuret | siemen |
| Bello x Timo | 4.12 | 1.15 | 1.69 | 1.11 ± 0.03 |
| Poneka x Vesta | 4.06 | 1.06 | 1.74 | 1.10 ± 0.07 |
| Lysima x Timo | 3.73 | 1.20 | 2.50 | 1.20 ± 0.05 |
| Poneka x Jo 7636 | 3.68 | 0.79 | 0.72 | 1.12 ± 0.02 |
| Vesta | 2.68 | 1.06 | 1.72 | 1.62 ± 0.06 |
| Regina | 2.62 | 1.25 | 1.59 | 1.20 ± 0.04 |

Kuva 4. Hermeen siementen ja kolmen viikon ikäisten taimien taimien taimiaineksisuus.

taimien taimiaineksisuus %

1.5

$$y = 0,27x + 0,62$$

$$r = 0,478 \quad (\text{suuntaa antava})$$

| | siemenen taimiaineksisuus % | taimien taimiaineksisuus % |
|------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Simo x Maro | 0,44 | 0,96 |
| Rondo x Simo | 0,47 | 0,91 |
| Bello x Jo 6728 | 0,62 | 1,16 |
| Poneka | 1,02 | 1,07 |
| Bello x Jo 7636 | 1,08 | 0,93 |
| Bello x Vesta | 1,10 | 0,94 |
| Poneka x Vesta | 1,10 | 0,97 |
| Lysima | 1,10 | 1,44 |
| Bello x Timo | 1,11 | 1,07 |
| Poneka x Jo 7636 | 1,12 | 0,95 |
| Regina | 1,20 | 1,20 |
| Lysima x Timo | 1,20 | 1,50 |
| Bello | 1,24 | 1,08 |
| Jo 7636 | 1,60 | 1,29 |
| Vesta | 1,62 | 1,23 |

1.0

0.5

1.5 siementen taimiaineksisuus %

2.6. Vanilliini-suolahappomenetelmällä saatuja tuloksia.

Kirjallisuudessa useimmin käytetty Sorghum-lajikkeiden jyvien tanniinipitoisuuden määrittäminen on BURNSin (1971) vanilliini-suolahappomenetelmä. Tällä menetelmällä analysoitiin hernelajikkeet Rondo, Simo, Lotta, Kiri, Stivo (ssp. sativum). Näiden siemenistä puuttuu tällä menetelmällä mitattavissa oleva tanniinityyppi, sillä reagenssia lisättäessä ei syntynyt punaista väriä. Analyysin suoritusavassa ei ollut vikaa, koska sekä ohralla että härkäpavulla kokeiltaessa muodostui punainen väri, jonka voimakkuus oli spektrofotometrillä mitattavissa. Härkäpapuaineistosta löytyi tällä menetelmällä neljä 0-lajiketta, joista siis puuttuivat katekiinityypiset tanniinit kokonaan. Folin-Denis-menetelmällä testattaessa näistä neljästä lajikkeesta tanniinipitoisuus osoittautui muita analysoituja härkäpapuja alemmaksi eli samaa suuruusluokkaa olevaksi kuin ruoka-hernelajikkeissa. Matalatanniinisten härkäpapulajikkeiden kolmen kokeen keskiarvot vaihtelivat 0.40 - 0.54 %.

3. Tulosten tarkastelu

Herneen siemenissä esiintyvä tanniinipitoisuuden vaihtelu on selvästi jaettavissa kahteen ryhmään, toisaalta 0.50 % paikkeilla (0.36 - 0.60 %) ja toisaalta 1 % paikkeilla (0.69 - 1.95 %) oleva pitoisuus. Tämä jakautuma siementen tanniinipitoisuudessa noudattaa jakoa alalajeihin ssp. sativum ja ssp. arvense. Tulos on yhtäpitävä BINGEFORSin (1975) tulosten kanssa. Näiden herneen alalajien tärkeimmät erot ovat kukan värissä ja siemenkuoren värissä. Kysymyksessä voi siis olla tiivis kytkentä näihin ominaisuuksiin tai pleiotropia. Saman, tai samojen geenien vaikutus kahteen ominaisuuteen, kukan väriin ja siementen tanniinipitoisuuteen tuntuu varsin todennäköiseltä, sillä flavaani-3,4-diolit eli leukoantosyaanidiinit ovat antosyaanien prekursoreita, mutta niistä voi syntyä myös tanniineja. Alalajin ssp. arvense kukkien väri on juuri antosyaania, kun taas alalajin ssp. sativum kukista antosyaanit puuttuvat. - Tanniiniton ohramutantti ant-13 on samalla myös antosyaaniton (v. WETTSTEIN et al., 1977), joten tämä tutkimustulos tukee pleiotropia-ajatusta. - Siementen tanniinipitoisuuden korrelaatiota kukan värin kanssa on ilmennyt myös härkäpavulla (PICARD, 1976; AULIN, julkaisematon). Analysoimillani kirjavakukkaisilla härkäpapulajikkeilla siementen tanniinipitoisuus Folin-Denis-menetelmällä mitattuna vaihteli 1.14 - 2.10 %, mutta neljällä valkokukkaisella härkäpapulajikkeella tanniinipitoisuus oli vain 0.31 - 0.81 %. Näistä neljästä analysoimastani valkokukkaisesta härkäpapulajikkeesta puuttuu samoin kuin ruokaherneestä vanilliini-suolahappomenetelmällä (BURNS, 1971) analysoitavissa oleva tanniinityyppi. Mainituista lajikkeista Triple White on samalla menetelmällä todettu muuallakin tanniinittomaksi (PICARD, 1976; MARQUARDT et al., 1978), samoin Bianka (PICARD, 1976; MARTIN-TANGUY et al., 1977). - Folin-Denis-menetelmällä näitä lajikkeita ei ole aikaisemmin analysoitu.

Tiivis kytkentä (385 näytettä) kahden kemiallisen ominaisuuden välillä ja jopa kahteen eri sukuun kuuluvalla kasvilla ei mielestäni vaikuta niin

todennäköiseltä kuin pleiotropia, jossa sama geeni tai samat geenit kontrolloivat yhteisen prekursorin ja joko antosyaanin (kukan väri) tai tanniinin synteesiä. - Kytkeäntäkään ei ole mahdotonta, sillä onhan kysymyksessä kaksi lähisukuista kasvia, joiden kromosomiluku on varsin pieni, härkäpavulla $2n=12$ tai 14 (LECHNER, 1959) ja herneellä $2n=14$ (ANDEWEG & KOOISTRA, 1962). Kytkeäntäryhmiä on siis vain kuusi tai seitsemän.

Sorghum-lajikkeista on havaittu yleensä tummajyväisten sisältävän enemmän tanniinia kuin vaaleajyväisten (mm. McMILLIAN et al., 1972). Ruskeajyväiset Sorghum-lajikkeet ovat yleensä tanniinipitoisempia kuin puna-, kelta- tai valkojyväiset (HARRIS et al., 1970). Myös korakaanilla on valkeissa jyvissä vähemmän tanniineja kuin ruskeissa jyvissä (RAMACHANDRA et al., 1977).

Ruokaherneen siemenkuori on väritön, ja sen läpi kuultavat sirkkalehdet, jotka ovat joko vihreät tai keltaiset. Näiden välillä ei ole tanniinipitoisuudessa eroa. Samaan tulokseen on päätyneet myös BINGEFORS (1975). - Reuherneen siemenkuoren väri vaihtelee yksivärisestä vaalean- tai keskiruskeasta marmorikuvioidiseen, jolloin vaaleanruskealla pohjalla on tummanvioletteja tai ruskeita pilkkuja tai viiruja. Analysoimani reuhernelajikkeet ovat varsin heterogeenisiä siemenkuoren värin suhteen, joten on vaikea löytää korrelaatiota mihinkään tiettyyn väriin. Härkäpavulla voitiin siemenet jakaa siemenkuoren värin perusteella kolmeen ryhmään. Vaaleat (melkein valkoiset), keskiruskeat ja miltei mustat siemenet erosivat lajikkeella Korkeamäki tanniinipitoisuudeltaan toisistaan siten, että tummissa siemenissä tanniinia oli jokseenkin merkitsevästi (5% riskitaso) vähemmän kuin vaaleissa siemenissä. Vastaavasti myös ruskeissa siemenissä oli jokseenkin merkitsevästi vähemmän tanniinia kuin vaaleissa siemenissä, ts. tilanne on päinvastainen kuin Sorghum-lajikkeilla. Mainitun härkäpapulajikkeen kukan väri on kirjava ja siemenarpi on tumma vaaleissakin siemenissä. Sen sijaan neljällä analysoimallani valkokukkaisella härkäpapulajikkeella on vaaleat siemenet, joissa siemenarpikin on vaalea. Näiden tanniinipitoisuus on huomattavan matala Folin-Denis-menetelmällä (0.40-0.54%) ja vanilliini-suolahappomenetelmällä nolla. Härkäpavulla valkokukkaisuuden saa aikaan resessiivinen o-geeni. Antosyaanimuodostukseen tarvitaan perusgeenin O lisäksi jompikumpi alleeleista Z_1 tai Z_2 . Sinertävään väriin tarvitaan vielä näidenkin lisäksi

dominoiva geeni X. Musta siemen on vain O-yksilöillä, ja sen muodostumiseen tarvitaan myös geeni Sc. O-yksilöiden siemenväri on keltainen ja ruskehtava, mutta geenin Y resessiivinen alleeli (y) muuttaa sen vihreäksi. Geeni N saa aikaan siementen mustan siemenarven. oo-yksilöiden siemenväri on vaalea, ei ruskehtava. O-tekijällä on siis pleiotrooppinen vaikutus (LECHNER, 1959) eli se on samanaikaisesti sekä kukkien että siemenkuoren värin perustekijä. Kytöntää sen sijaan ei ole esiintynyt tämän perustekijän ja geenien Z (antosyaaniväri kukissa) ja N (siemenarven väri) välillä, vaan kaikki nämä (O, Z ja N) sijaitsevat eri kytkentäryhmissä. Geeni Sc (musta siemenkuori) ei ole osoittanut kytköntää, vaan segregoituu riippumattomasti (LECHNER, 1959).

Herneellä kukan väriin vaikuttaa perustekijä A, jonka ollessa läsnä geeni Ar saa aikaan punaisen ja geeni B sinertävän kukan. Geeni Ce yhdessä geenien AmArABCr kanssa vaikuttaa purppuranväristen kukkien syntymiseen. Perustekijä A vaikuttaa myös siemenkuoren väriin: sen ollessa läsnä geeni J saa aikaan tummanruskean ja geeni Oh vaaleanruskean siemenkuoren kehittymisen. Marmorikuvioinnin aiheuttaa geeni M, joka on eri kytkentäryhmässä kuin Oh ja Ar. Kolmannessa kytkentäryhmässä ovat geenit A ja Am (ANDEWEG & KOOISTRA, 1962). Vaikuttaa todennäköiseltä, että perustekijällä A (tai härkäpavulla perustekijällä O) on jo havaitun pleiotropian lisäksi vaikutusta myös tanniinipitoisuuteen.

Koska ruokaherneellä siementen tanniinipitoisuuserot eri vuosina (taul.4, s. 18) olivat 12 analysoidusta tapauksesta vain kahdessa jokseenkin merkitseviä ja muissa tilastollisesti merkityksettömiä, voidaan olettaa, että esim. säätekijät eivät säätele siementen tanniinipitoisuutta. Se, että on löydetty tanniinittomia mutanteja ohrasta ja härkäpavusta, tukee olettamusta tanniinipitoisuuden geneettisestä säätelystä. Ruokahernelajikkeiden siementen tanniinipitoisuudessa havaittu muuntelu on varsin vähäistä ja todetut pitoisuuserot osoittautuivat tilastollisesti merkityksettömiksi, joten alalaji ssp. sativum on tämän ominaisuuden suhteen geneettisesti yhtenäinen.

Rehunerneellä siementen tanniinipitoisuuden vuosivaihtelu oli kahdessa tapauksessa kuudesta erittäin merkitsevää, neljässä tilastollisesti merkityketöntä (taul. 6, s. 20). Vaatii lisäselvitystä, mikä osuus sää- ynnä muilla ympäristötekijöillä mahdollisesti on rehunerneellä ilmenevään muunteluun. Tällä alalajilla (ssp. arvense) muuntelu on laajempaa kuin ruoka-herneellä, ja eri lajikkeiden välillä on myös tilastollisesti erittäin merkitseviä eroja yhden tekijän varianssianalyysillä testattuna. - Maalaji on kaikissa rehunernekokeissa sama, savi, joten tanniinipitoisuuserot eivät johdu maaperästä.

Tanniinipitoisuuden periytymisestä on vähän tietoja ja tutkimustuloksia. Tanniiniton mutantti sekä ohrasta (v. WETTSTEIN et al., 1977) että härkäpavusta (PICARD, 1976) on resessiivinen. Sorghum-lajikkeista osa on vähätanniinisia, osa runsaasti tanniinia sisältäviä ja PARODA et al. (1975) väittävät vähätanniinisuutta dominoivaksi ominaisuudeksi.

Käytännön jalostustyötä nopeuttaisi, jos runsastanniiniset yksilöt voitaisiin karsia jalostusaineistosta jo taimina. Tämän takia analysoitiin kolmen viikon ikäisten taimien tanniinipitoisuus. Todettiin kuitenkin vain suuntaa antavaa positiivista korrelaatiota taimien ja siementen tanniinipitoisuuden välillä. Aineiston vähäisyydellä saattaa olla tässä merkitystä, joten lisäanalyysit ovat tarpeen. - Taimien tanniinipitoisuus ei ilmeisesti johdu tanniinien siirtymisestä siemenestä taimeen, vaan kysymyksessä on taimessa tapahtuva synteesi. Tähän viittasivat analyysitulokset herneen iduista, juurista ja siemenjätteistä 12 vrk kuluttua kylvämisestä (taul. 8, s. 22). Koska siemenjätteiden tanniinipitoisuus 12 vrk kuluttua oli likimain sama kuin siementen tanniinipitoisuus, mutta iduissa oli korkea tanniinipitoisuus, samoin juurissa lukuunottamatta hybridiä Poneka x Jo 7636, tapahtuu synteesiä eikä kuljetusta siemenestä kasvaviin osiin. Tanniinisynteesi ei ilmeisesti vaadi valoa, sillä pimeässä kasvaneissa herneen iduissa oli 2.62 - 4.12 % tanniinia kuivapainosta (taul. 8, s. 22), mutta valossa kasvaneissa taimissa se oli vain 0.93 - 1.50 %.

On vielä paljon tutkimista tanniinien kemiallisessa rakenteessa, niiden vaikutuksessa eri eliöihin ja esiintymisessä kasveissa sekä niiden pitoisuuksien periytymisessä. Viimeksi mainituille tutkimuksille ovat pohjana edellä esitetyt tulokset tanniinipitoisuuden muuntelusta.

Parhaat kiitokset tahdon esittää Maatalouden tutkimuskeskuksen kasvinjalostuslaitoksen johtajalle, professori Rolf MANNERille aiheen ehdottamisesta sekä mahdollisuudesta syventyä siihen sekä kasvinjalostuslaitoksen muulle henkilökunnalle, jonka arvokkaan työn tuloksena on syntynyt jalostusaineisto, joka oli käytettävissäni. Professori Tarvo OKSALAA haluan kiittää mitä lämpimimminkin lukuisista aiheeseen liittyvistä innostavista keskusteluista ja neuvoista. Lisäksi olen kiitollinen professori Jaakko PUROLLE ja professori Arne ROUSILLE tekstin tarkastamisesta.

KIRJALLISUUSLUETTELO:

- ALAVIUHKOLA, T., 1979: Herne ja härkäpapu lihasikojen rehuna. - Maatalouden tutkimuskeskus Sikatalousaseman tiedote n:o 2, 14 ss.
- ALSTON, R.E., 1964: The Genetics of Phenolic Compounds. - Teoksessa HARBORNE, J.B. (toim.): Biochemistry of Phenolic Compounds. - 618 ss. Academic Press, Lontoo & New York.
- ANDEWEG, J.M. & KOOISTRA, E., 1962: Gemüseeerbsen. - Teoksessa KAPPERT, H. & RUDORF, W. (toim.): Handbuch der Pflanzenzüchtung VI Züchtung von Gemüse, Obst, Reben und Forstpflanzen. - 913 ss. Verlag Paul Parey, Berlin & Hamburg.
- Association of Official Analytical Chemists. 1970: Official methods of analysis. - 11. painos. - 1015 ss., A.O.A.C., Washington, D.C.
- BARHAM, H.N., WAGONER, J.A., CAMPBELL, C.L. & HARCLERODE, 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., 1957: Symposium on Biochemistry and Taxonomy. Plant phenolics as taxonomic guides. - Proc. Linnean Soc. of London 169 (1956-57): 198-211.
- 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.
- BÉLÁDI, I., PUSZTAI, R. & BAKAI, M., 1965: Inhibitory Activity of Tannic Acid and Flavonols on the Infectivity of Herpesvirus hominis and Herpesvirus Suis. - Naturwissenschaften 52 (13): 402.
- BINGEFORS, S., 1975: Om antinutritionella substanser i ärter. - Sveriges Utsädesförenings Tidskrift 85: 211-219.
- BLESSIN, C.W., van ETTEN, C.H. & DIMLER, R.J., 1963: An Examination of Anthocyanogens in Grain Sorghums. - Cereal Chem. 40: 241-250.
- BURNS, R.E., 1971: Method for Estimation of Tannin in Grain Sorghum. - Agr. J. 63: 511-512.

- CADMAN, C.H., 1960: Inhibition of plant virus infection by tannins. -
Teoksessa PRIDHAM, J.B. (toim.): Phenolics in plants in "health and
disease s.101-105. - 131 ss. Pergamon Press, Oxford, Lontoo, New York,
Pariisi.
- 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.
- CUMMINS, D.G., 1971: Relationships Between Tannin Content and Forage
Didestibility in Sorghum. - Agr. J. 63: 500-502.
- DADIC, M., 1971: Phenolic Antioxidants as Potential Carcinostatic Agents.-
The Brewers Digest : 58-60.
- DADIC, M., van GHELUWE, J.E. & VALYI, Z., 1970: Chemical constituents of
nylon-66 beer adsorbate. I. Preliminary investigations and antho-
cyanogen contents. - J. Inst. Brew. 76: 267-280.
- DANGI, O.P. & PARODA, R.S., 1978: Combining Ability for Quality Characters in
Forage Sorghum. - Z. Pflanzenzüchtg. 80: 38-43.
- DAVIS, A.M., 1973: Protein, Crude Fiber, Tannin and Oxalate Concentrations of
Some Introduced Astragalus Species. - Agr. J. 65: 613-615.
- DONNELLY, E.D. & ANTHONY, W.B., 1973: Relationship of Sericea Lespedeza leaf
and stem Tannin to Forage Quality. - Agr. J. 65: 993-994.
- DONNELLY, E.D. & WEAR, J.I., 1972: Acid detergent method for reduction
of tannin interference in determining lignin of sericea lespedeza.-
Agr. J. 64: 838-839.
- EGGUM, B.O., 1977: The nutritive quality of cereals. - Cereal Res. Comm. 5 (2):
153-157.
- 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. ss.
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.
- 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., 1966: Chemistry of Vegetable Tannins. - 179 ss. Academic Press,
Lontoo.
- 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.
- HERRMANN, K., 1963: Über "Gerbstoffe" in Lebensmitteln und deren Bestimmung.-
*Deutsche Lebensmittel-Rundschau. Zeitschrift für Lebensmittelkunde
und Lebensmittelrecht* 59: 309-317.
- HERSTAD, O., 1978: Åkerbønner (*Vicia faba* L.) som fôr til kyllingar. -
Meldinger fra Norges Landbrukshøgskole 57 (41): 13 ss.
- HERTZSCH, W., 1959: Futtererbsen. - Teoksessa KAPPERT, H. & RUDORF, W. (toim.):
Handbuch der Pflanzenzüchtung IV. Züchtung der Futterpflanzen. -
552 ss. - Verlag Paul Parey, Berlin & Hamburg.
- JONES, W.T., BROADHURST, R.B. & LYTTLETON, J.W., 1976: The condensed tannins
of pasture legume species. - *Phytochemistry* 15: 1407-1409.

- LECHNER, L., 1959: Wicken- (Vicia-) Arten. - Teoksessa KAPPERT, H. & RUDORF, W. (toim.): Handbuch der Pflanzenzüchtung IV. Züchtung der Futterpflanzen. - 552 ss. Verlag Paul Parey, Berlin & Hamburg.
- 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.
- MARQUARDT, R.R., WARD, A.T. & EVANS, L.E., 1978: Comparative properties of tannin-free and tannin-containing cultivars of faba beans (*Vicia faba*). - Can. J. Plant Sci. 58: 753-760.
- MARTIN-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 Germplasm of Sorghum. - Agr. J. 64: 821-822.
- MÄKINEN, Y., 1968: Tilastotiedettä biologieille. 184 ss. Turku.
- 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.
- RAMACHANDRA, G., VIRUPAKSHA, T.K. & SHADAKSHARASWAMY, M., 1977: Relationship between Tannin Levels and in vitro Protein Digestibility in Finger Millet (*Eleusine coracana* Gaertn.). - J. Agric. Food Chem. 25 (5): 1101-1104.

- 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. ss. Plenum Press, New York & Lontoo.
- RICE, E.L., 1974: Allelopathy. - s.260-263. - Academic Press.
- SARKAR, S.K., HOWARTH, R.E. & GOPLEN, B.P., 1976: Condensed Tannins in Herbaceous Legumes. - Crop Sci. 16 (4): 543-546.
- STRUMEYER, D.H. & MALIN, M.J., 1975: Condensed Tannins in Grain Sorghum: Isolation, Fractionation and Characterization. - J. Agric. Food Chem. 23 (5): 909-914.
- SÄTERBY, B., 1976: Näringsvärdet hos foderärter och matärter till får. - Lantbrukshögskolan, Avd. f. husdjurens näringsfysiologi, stencilserie 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 Sorghum hybrids to bird damage in Louisiana. - Agr. J. 62: 211-213.
- v. WETTSTEIN, D., JENDE-STRID, B., AHRENST-LARSEN, B. & SØRENSEN, J.A., 1977: Biochemical mutant in barley renders chemical stabilization of beer superfluous. - Carlsberg Res. Commun. 42: 341-351.

Tiivistelmä

Herneen siementen tanniinipitoisuus vaihteli 0.36 - 1.95 % analysoiduissa 385 näytteessä. Alalajin Pisum sativum ssp. sativum tanniinipitoisuuden havaittiin olevan poikkeuksetta alempi kuin alalajin P. sativum ssp. arvense. Sirkkalehtien värillä (keltaiset tai vihreät) ei ole yhteyttä tanniinipitoisuuseroihin. Valkoinen kukkien väri näyttää korreloivan positiivisesti matalan tanniinipitoisuuden kanssa. Ruokahernelajikkeista ei mikään ollut merkitsevästi toisia vähemmän tanniinia sisältävä eikä täysin tanniinitonta mutanttia löydetty. Vanilliini-suolahappomenetelmällä määritettävissä oleva tanniinityyppi puuttuu alalajista ssp. sativum. Reuhernelajikkeiden välillä oli tilastollisesti merkitseviä tanniinipitoisuuseroja. Vuosivaihtelu ei yleensä ollut tilastollisesti merkitsevää, mutta kahden reuherneen tanniinipitoisuus (Timo ja Lysima) erosi 1976 ja 1977 erittäin merkitsevästi. Tanniinisynteesin havaittiin olevan myös pimeässä tapahtuvaa. Siementen ja taimien tanniinipitoisuuksien välillä todettiin suuntaa antavaa korrelaatiota ($r = 0.478$).

Avainsanat: herne, muuntelu, parkkihappo, Pisum, polyfenolit, proantosyanidiinit, tanniinit

