

Slutrapport for projektet

Bioaktive stoffer i kartofler under tørkestress

Projektansvarlig

LKF, Grindstedvej 55, 7184 Vandel

web-adresse: lkf@lkfvandel.dk

Projektansvarlig: Hanne Grethe Kirk, hgk@lkfvandel.dk

Deltager

DJF, Århus Universitet, Forsøgsvej 1, 4200 Slagelse

Projektansvarlig: Sabine Ravnskov, Sabine.Ravnskov@agrsci.dk

Resume

Det er kendt, at der findes et stort antal forskellige aktivstoffer i kartoffel, men kun få er godt beskrevet. Projektets formål var at screene for stoffer, der kan have betydning i forhold til knoldenes kvalitet, sundhed og ernæring, og stoffer som kan være enten positive eller negative i forhold til plantens forsvarsmekanismer mod sygdomme og skadedyr.

Der blev valgt seks spisesorter med forskellig genetisk baggrund for at få en god variation. Planterne blev dyrket hhv. under normale forhold og under tørkestress. Der blev udtaget prøver løbende af både blade og knolde, der blev analyseret med avancerede kemiske metoder for deres indhold af naturstoffer.

å LKF blev der i 2008 og 2009 anlagt forsøg med overdækkede parceller vandet med siveslanger, Fig 1 og 2.



Figur 1. Plastoverdækket markforsøg



Figur 2. Siveslanger

Forsøget deltes i to huse, hvoraf det ene blev udsat for 2 ugers tørke i juli måned, det andet blev vandet normalt som kontrol. Under og efter tørkeperioden blev taget prøver af blade og knolde. Prøverne blev straks nedfrosset i flydende kvælstof og opbevaret i fryser indtil analyse. Tørken var ikke alvorlig nok til at planterne tog skade, og udbyttet var stort set ens i de to behandlinger. Dog kunne man se, at planterne i tørkehuset generelt stod grønne længere, fordi de en overgang var standset i væksten. Ved tidlig nedvisning ville der sikkert være en udbytteforskel.

Projektets faglige forløb

Markforsøgene var anlagt som et split-plotforsøg med sorterne Bintje, Desirée, Ditta, Jutlandia, Sarpo Mira og Toluca. De to behandlinger, tørke og kontrol, var lagt med så stor afstand at der kunne rejses et tunnelhus over hver. Begge huse blev overdækket kort før starten på tørkebehandlingen og overdækningen blev fjernet igen efter behandlingens afslutning.

I 2008 blev forsøget anlagt med tre gentagelser pr behandling. Der udtoges prøver i juli måned dag 1, 2, 4, 6, 8, 12, 15 og 19 efter starten af tørkebehandlingen. Dag 15 og 19 var efter genvanding af forsøget.

I 2009 blev der lagt 6 gentagelser pr behandling men til gengæld med færre prøvetagninger: Dag 1, 6, 12, 15 og 19. Disse tidspunkter blev fastlagt udfra de foreløbige resultater af FØSU-projektet: *Developing potato into a high-efficient, low-maintenance and multipurpose crop*, der bygger på parallelle prøver udtaget fra de samme forsøg. Fordoblingen i antal gentagelser skyldes, at der i FØSU-projektet blev fundet en meget stor variation i materialet.

Prøvetagningen skete i en periode med meget kraftig tilvækst, så det var ikke muligt at udtage ens knoldstørrelser hele vejen igennem. Da mange sekundærstoffer findes i størst koncentration lige under huden er knoldstørrelsen og dermed overflade/volumenforholdet meget vigtig for vurderingen af ændringer i stoffernes koncentration som følge af behandlingen. For at tage højde for det blev knoldene størrelsesgraderet ved hjælp af en serie solde med forskellig maskevidde: 25-30mm, 30-40mm, 40-50mm og >50mm. De små knolde blev delt i to og de store i tre dele, hvor den midterste del blev kasseret af pladshensyn.

Alle prøver blev nedfrosset i flydende kvælstof i marken og overført til fryser.

Prøverne blev transporteret til DJF, Flakkebjerg på frost. Her blev prøverne frysetørret, kværnet og de bioaktive stoffer blev ekstraheret vha. 80% methanol i 1% eddikesyre. Ekstrakterne blev opbevaret på frost indtil analyse. Indholdet af følgende bioaktive stoffer blev kvantificeret: abscisinsyre, catechin, chlorogensyre, ferulasyre, jasmonsyre, kaempferol, kaffesyre, kanelisyre, nicotiflorin, p-coumarinsyre, rutin, salicylsyre, scopoletin og sinapinsyre.

Prøverne blev analyseret vha. et Applied biosystems 3200 LC-MS-MS Q-trap system med elektropray-ionisering. Systemet er udstyret med et Agilent 1200 HPLC system.

Resultat af analyse af indholdet af bioaktive stoffer

Det var intentionen at analysere indholdet af de nævnte bioaktive stoffer i bladene og knoldene fra de gennemførte forsøg. Idet vi ikke opnåede yderligere finansiering fra kartoffelafgiftsfonden til en videreførelse af projektet har vi været nødsaget til at foretage en stram prioritering i de udførte analyser af indholdet af bioaktive stoffer. I den første runde af analyser af materiale fra tørkeforsøget udført på LKF Vandel i sommeren 2008 valgte vi at fokusere på indholdet af de bioaktive stoffer i kartoffelplanternes blade. Vi har efterfølgende valgt at udbygge den første sæsons (2008) undersøgelser med undersøgelser af indholdet af de bioaktive stoffer i bladene fra planter i tørkeforsøget på LKF Vandel udført i sommeren 2009, for bedre at kunne underbygge vores undersøgelser. Vi har dermed ikke kigget på indholdet af de bioaktive stoffer i de forskellige sorters knolde under tørkestress, hvilket ellers potentielt set er ganske interessant, idet en række af stofferne synes at have sundhedsfremmende effekter.

Nærværende gennemgang dækker derfor analyser af udvalgte bioaktive stoffer i bladene fra de udvalgte seks kartoffelsorter: Bintje, Desirée, Ditta, Jutlandia, Sarpo Mira og Toluca i tørkeforsøgene udført på LKF Vandel i 2008 og 2009.

Vores resultater indikerer, at der er store forskelle i indholdet af de undersøgte bioaktive stoffers koncentration i de forskellige sorters blade. Ligeledes har vi kunnet iagttage ændringer i indholdet af de bioaktive stoffer i bladene under tørkestress, og de tørkefremkaldte ændringer er ikke ens på tværs af sorterne for alle de bioaktive stoffers vedkommende.

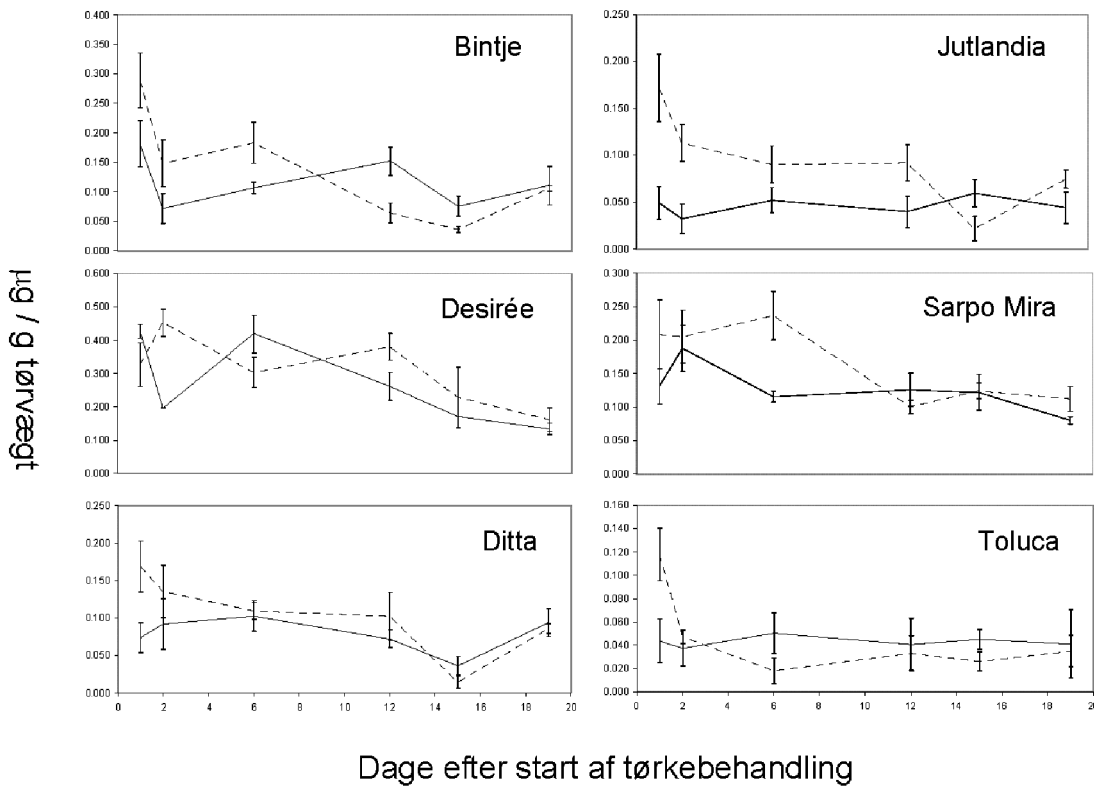
Resultater for udvalgte stoffer

Nedenfor afrapporterer vi resultaterne for en række af de bioaktive stoffer. Den grafiske fremstilling af resultater er rettet mod 2009-forsøget mens resultaterne fra 2008-forsøget alene omtales i teksten.

Abscisinsyre

Vi har kun analyseret prøverne fra 2009-forsøget for dette stof, hvorfor nedenstående alene refererer til denne vækstsæson. Set over hele tørkeperioden er der et højere niveau af abscisinsyre i bladene af de tørkestressede planter sammenlignet med kontrolplanterne. Denne forskel er forventelig, idet abscisinsyre er et plantehormon, hvis vigtigste rolle er at regulere vandbalancen i planten (Zhu 2002). Derfor er det særdeles interessant, at de forskellige sorters produktion ændredes på forskellig

vis som en følge af tørkebehandlingen (se Figur 3), hvilket kunne tyde på, at de forskellige sorters fysiologiske svar på tørkestress ikke er ens.



Figur 3: Indholdet af abscisinsyre i blade fra tørkestressede (stiplede linier) og kontrolplanter (fuldt optrukne linier) som en funktion af antallet af dage efter tørkebehandlingens start. De enkelte målinger er et gennemsnit af indholdet i materiale fra 4 eller 5 gentagelser. De lodrette linier ved hver målepunkt indikerer variationen på tværs af gentagelserne.

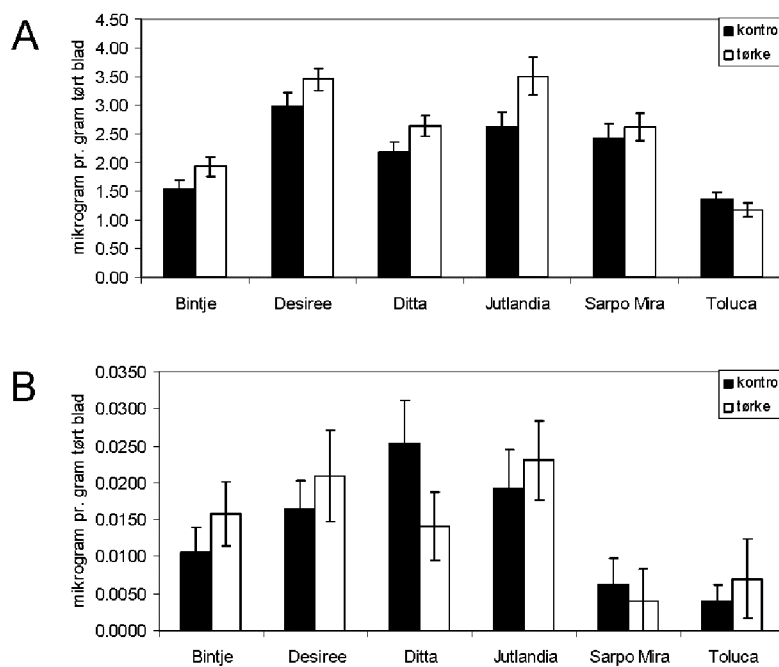
Jasmonsyre og salicylsyre

Plantehormonerne jasmonsyre og salicylsyre synes at have en rolle i forbindelse med forsvar mod sygdomme (Halim *et al.* 2006), hvilket øger relevansen af at undersøge ændringer i disse stoffers koncentrationer i relation til tørkestress i de forskellige sorter.

I forsøget i 2008 sås der en svag tendens til et sænket indhold af disse to stoffer som en følge af tørkestress. I 2009-forsøget kunne der for salicylsyres vedkommende i fire ud af fem sorter iagttages en øgning i indholdet af disse to bioaktive stoffer som en følge af tørkestresset (Figur 3A) mens billedet for jasmonsyre var mere variabelt (Figur 3B).

Årsagen til forskellen på 2008 og 2009 kan muligvis alene være et resultat af de flere gentagelser af de enkelte behandlinger i 2009, hvilket har øget sikkerheden af målingerne.

Den øgede produktion af salicylsyre i de tørkestressede planter i 2009 kunne tyde på, at disse planter har et øget forsvarsberedskab, som planten også vil kunne anvende i forsvaret mod plantesygdomme.

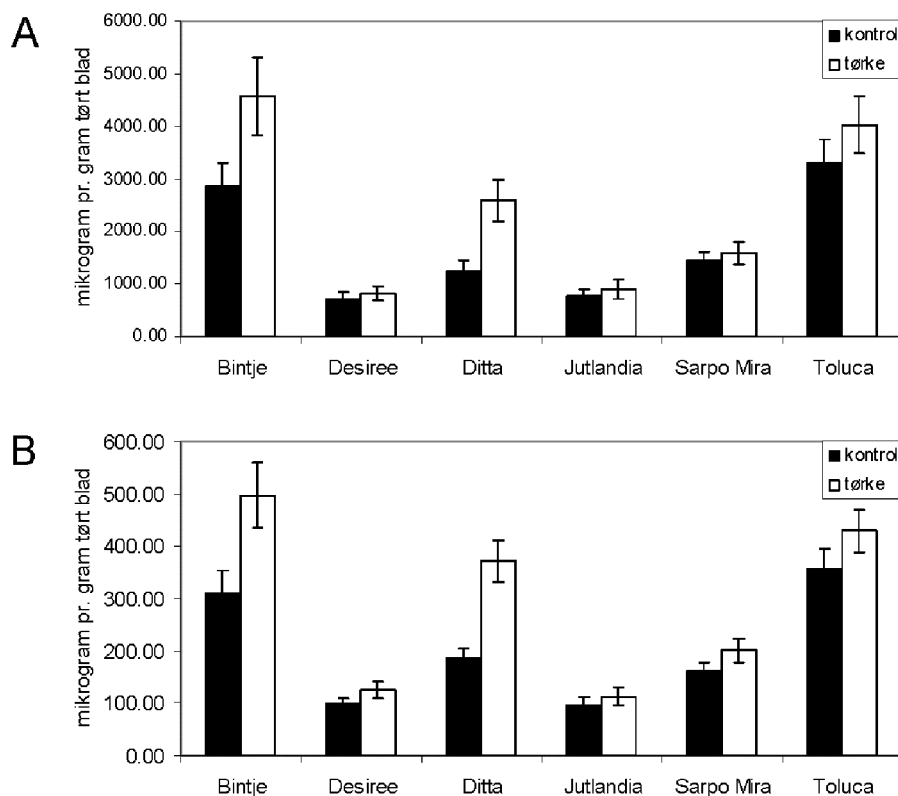


Figur 3: Indholdet af salicylsyre (A) og jasmonsyre (B) i bladene af kontrolplanter (kontrol) og tørkestressede (tørke) planter fra forsøget udført på LKF Vandel i sommeren 2009. Hver søjle repræsenterer et gennemsnit af 30 målinger gennem forsøget. De lodrette linier ved hver målepunkt indikerer variationen på tværs af de gentagne målinger.

Rutin og nicotiflorin

Det ses af Figur 4, at der kunne ses en stor forskel i indholdet af disse to stoffer i bladene fra de forskellige sorter i 2009-forsøget, hvilket bekræfter resultaterne opnået i 2008-forsøget. Hvis disse forskelle også kan iagttages i knoldene vil dette være interessant, idet både rutin og nicotiflorin har forskellige sundhedsfremmende effekter.

I 2008-forsøget sås en svag tendens til et lavere indhold af rutin og nicotiflorin ved tørkestress. Som det var tilfældet med salicylsyre og jasmonsyre er det ikke den samme tendens vi har kunnet iagttage i 2009-forsøget. Derimod lå niveauet af både rutin og salicylsyre konsekvent højere i tørkebehandlingen, hvis vi sammenligner på tværs af hele forsøget (Figur 4). Dette er både interessant i forbindelse med stress-behandlingen i sig selv og potentielt i relation til stoffernes sundhedsfremmende effekter, såfremt dette billede også kunne iagttages i knoldene.



Figur 4: Indholdet af rutin (A) og nicotiflorin (B) i bladene af kontrolplanter (kontrol) og tørkestressede (tørke) planter fra forsøget udført på LKF Vandel i sommeren 2009. Hver søjle repræsenterer et gennemsnit af 30 målinger gennem forsøget. De lodrette linier ved hver målepunkt indikerer variationen på tværs af de gentagne målinger.

Referencer

1. Halim, V.A., Vess, A., Scheel, D., & Rosahl, S. (2006) The role of salicylic acid and jasmonic acid in pathogen defence. *Plant Biology* **8**, 307-313.
2. Zhu, J.K. (2002) Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology* **53**, 247-273.