

Anpassung der Sojabohne an besondere Qualitätsanforderungen

J. VOLLMANN, H. WAGENTRISTL, A. POKEPRASERT, H. SCHALLY und H. GRAUSGRUBER

Einleitung

Sojabohnen bestehen zu etwa 30 % aus Kohlenhydraten, zu 20 % aus fettem Öl und zu 40 % aus Protein, wobei je nach Art der Nutzung einzelne dieser Stoffgruppen bzw. spezifische Inhaltsstoffe in ihrer Bedeutung in den Vordergrund treten.

Kohlenhydrate spielen bei Spezialprodukten wie den Gemüsesojabohnen (= grüne Sojabohne, Edamame) eine wichtige Rolle, weil in diesem Fall der Zuckergehalt (Saccharose) der im Stadium der Grünreife geernteten Körner sehr wesentlich den Geschmack des Produktes beeinflusst; Edamame-Sorten stammen in der Regel aus Japan oder Taiwan, haben besonders große Körner, eine feine Textur und eine geringe Lipoxygenaseaktivität, welche bei konventionellen Sorten den unangenehmen Bohnengeschmack hervorruft (WAGENTRISTL et al., 2005). Neben der Saccharose wird auch den Oligosacchariden Raffinose und Stachyose als unerwünschte Kohlenhydrate Aufmerksamkeit geschenkt, da sie in verschiedenen Sojaprodukten als blähungsauslösende Inhaltsstoffe identifiziert worden sind, weshalb man ihre Gehalte verringern möchte.

Der Ölgehalt der Sojabohne ist das wichtigste Qualitätskriterium im weltweiten Anbau. Sojaöl enthält jedoch in seinem Fettsäurespektrum vergleichsweise hohe Gehalte an Linolsäure (> 50 %), signifikante Anteile an alpha-Linolensäure (ca. 7 %) und Gehalte an gesättigten Fettsäuren von etwa 15 %, weshalb es aus verschiedenen Gründen (Oxidationsanfälligkeit, negative Effekte auf das LDL/HDL-Cholesterinverhältnis, Bildung von Transfettsäuren bei der Fetthärtung zur Herstellung von Margarine) ernährungsmedizinisch viel ungünstiger bewertet wird als beispielsweise Rapsöl (FUS-

SENEGGER und WIDHALM, 2003). Andererseits ist Sojaöl reich an Tocopherolen (MARQUARD, 1990; UJIIE et al., 2005), die eine antioxidative Wirkung ausüben und zudem die Haltbarkeit des Öles erhöhen. Sojabohnen sind auch die wichtigste Quelle für Lecithin, das aufgrund seiner funktionellen Eigenschaften als Emulgator in der Lebensmitteltechnologie weithin eingesetzt wird.

Wegen des geringen Ölgehaltes der Samen und der im Vergleich zu anderen Pflanzenölen ungünstigen Fetteigenschaften ist Sojaöl in der europäischen Sojabohnenproduktion bedeutungslos.

In Europa hingegen gilt das Hauptinteresse an Sojabohnen deren hohem Samen-Proteingehalt von etwa 40 %. Sojaprotein ist reich an Lysin, weist aber wie auch andere Leguminosenproteine eher niedrige Konzentrationen an den schwefelhaltigen Aminosäuren Methionin und Cystein auf. Für die Tierernährung sind Proteingehalt der Bohnen bzw. des Schrotes, einzelne Aminosäurekonzentrationen und der Gehalt an Trypsininhibitoren die wichtigsten wertbestimmenden Merkmale, für Speisesojabohnen kommen je nach Art der Verwendung noch weitere Kriterien hinzu: Generell werden großkörnige und hellfarbige Genotypen bevorzugt, da sie einen geringeren Samenschalenanteil als kleinkörnige Formen aufweisen; zudem besteht eine positive Korrelation zwischen Tausendkorngewicht und Proteingehalt. Sojabohnen mit dunkler Pigmentierung des Nabels oder der Samenschale sind generell nicht für Speisezwecke verwendbar, da die dunkle Farbe zu unerwünschten Verfärbungen der Produkte führen kann. Für viele Sojaprodukte ist der Proteingehalt des Kornes ein wichtiges Qualitätskriterium, so z.B. für Sojamilch und Tofu. Neben einem Proteingehalt von möglichst über 42 % spielen

der Anteil wasserlöslicher Proteine sowie die spezifischen Protein-Gelierungseigenschaften und der Phytatgehalt für die Tofu-Herstellung eine Rolle. Auch für die Erzeugung von entfetteten Sojamehlen oder Proteinkonzentraten, die vielen Lebensmitteln zugesetzt werden, wird ein möglichst hoher Proteingehalt im Ausgangsmaterial angestrebt (BHARDWAJ et al., 1999; KIM und WICKER, 2005; WILSON, 2004)

Die im mitteleuropäischen Anbau erzielbaren Proteingehalte der Sojabohne liegen aus klimatischen Gründen oft deutlich unter 40 % (VOLLMANN et al., 2000) und sind dann den am Weltmarkt verfügbaren Qualitäten unterlegen. Neben einer besseren Anpassung an die spezifischen Produktionsbedingungen (SCHORI et al., 2003) ist also auch eine züchterische Adaptation an vorgegebene Qualitätsanforderungen notwendig, um den heimischen Sojaanbau lukrativer zu machen. Dies wird im vorliegenden Fall am Beispiel des Proteingehaltes an verschiedenen Experimenten in Detailbefunden erörtert.

Material und Methoden

Feldversuche und Bestimmung des Proteingehaltes

Mehrjährige Feldversuche wurden an den Standorten Raasdorf bzw. Gr. Enzersdorf (Niederösterreich) in 2,5 m langen Einzelreihen-Experimenten jeweils als generalisierte Gitteranlagen in 2 Wiederholungen angelegt und als solche (Bildung adjustierter Mittelwerte) ausgewertet. Der Proteingehalt wurde mit Hilfe der Nahinfrarot-Reflexionsspektroskopie (NIRS, InfraAlyzer 450, Bran und Luebbe, Norderstedt, Deutschland) an vermahlenden Proben gemessen und in g kg⁻¹ bezogen auf Trockenmasse angegeben.

Autoren: Univ.Prof. Dr. Johann VOLLMANN, Dr. Helmut WAGENTRISTL, MSc Apanee POKEPRASERT, Dr. Heinrich GRAUSGRUBER, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Department für Angewandte Pflanzenwissenschaften und Pflanzenbiotechnologie, Universität für Bodenkultur Wien, Gregor-Mendel Straße 33, A-1180 WIEN; Dipl.-Ing. Harald SCHALLY, Niederösterreichische Landes-Landwirtschaftskammer, Wiener Straße 64, A-3100 ST. PÖLTEN



Protein-Ranking eines Sortimentes

Ein Set von 60 Sojabohnensorten der Reifegruppen 0 bis 000 wurde über zwei Anbaujahre unter jeweils drei verschiedenen Stickstoff-Umwelten (i: unbehandelte Kontrolle, ii: Inokulation mit Rhizobien (*Bradyrhizobium japonicum* (Kirchner) Jordan), iii: 50 kg/ha N zu Blühbeginn) geprüft, um Auswirkungen auf den Proteingehalt der einzelnen Genotypen sowie Wechselwirkungen zwischen Genotyp und Stickstoff-Umwelten im Merkmal Proteingehalt zu messen. Als experimentelles Design wurde dabei eine Split-Plot-Anlage mit Stickstoff-Umwelten als Großparzellen und Genotypen als Kleinparzellen gewählt, wobei die Genotypen innerhalb einer Behandlung noch als generalisierte Gitteranlage angelegt waren. Die Analyse der Wechselwirkungen zwischen Genotypen und Stickstoff-Umwelten sowie die Darstellung im GGE-Biplot erfolgte mittels eines SAS-Makros (BURGUENO et al., 2002).

QTL-Mapping und Epistasie im Merkmal Proteingehalt

Aus der Kreuzung zwischen den Sojabohnensorten *Ma.Belle* und *Proto* wurden 82 F₂-Familien mit Mikrosatelliten genotypisiert, eine Kopplungskarte entwickelt und QTL für Proteingehalt und andere Merkmale beschrieben (CSANÁDI et al., 2001). Um epistatisch wirkende QTL und deren Auswirkungen auf den Proteingehalt zu untersuchen, wurden von jeder der 82 F₂-Familien in der F₆-Generation 5-8 Linien selektiert, sodass insgesamt 530 F_{2,6}-Linien entstanden, die über vier Jahre geprüft und mit 29 ausgewählten SSR-Markern neuerlich genotypisiert wurden. Marker-QTL-Assoziationen wurden durch einfache Varianzanalysen, epistatische Effekte durch zweifaktorielle Varianzanalysen mittels SAS (SAS Institute, 1988) festgestellt. Partielle r²-Werte für die Marker × Marker-Interaktionen, welche epistatisch wirkende QTL-Effekte beschreiben, wurden mittels der von HOLLAND et al. (2002) beschriebenen Methode errechnet.

Ergebnisse und Diskussion

Im Protein-Ranking von 60 Genotypen lagen die Proteingehalte im Falle der

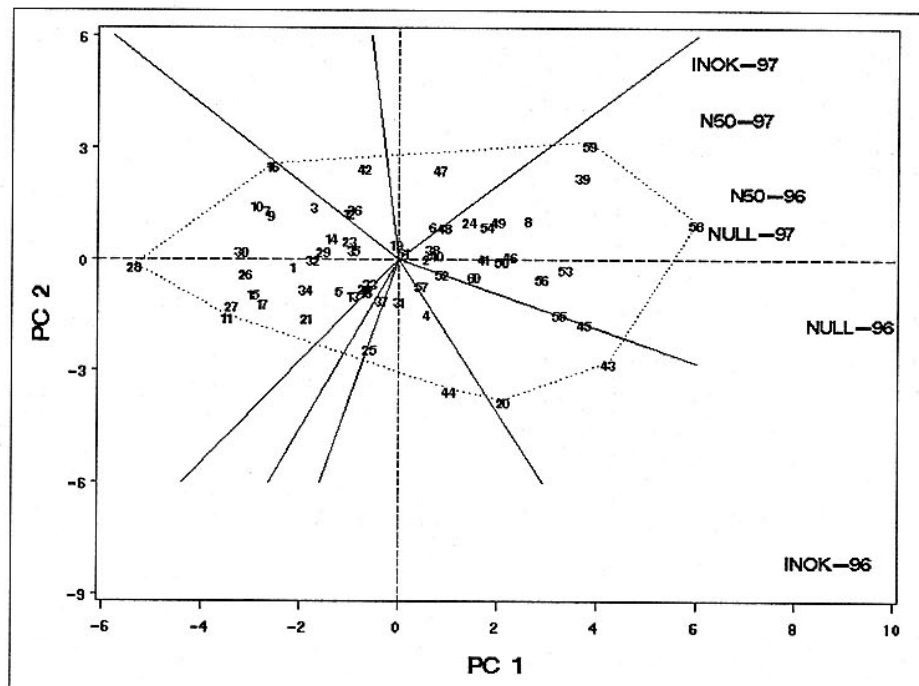


Abbildung 1: GGE-Biplot für das Merkmal Proteingehalt von 60 Sojabohnen-Genotypen (1-60) über 6 Stickstoff-Umwelten (NULL: unbehandelte Kontrolle, INOK: mit Rhizobien inokuliert, N50: N-Düngung; jeweils in den Anbaujahren 1996 und 1997)

unbehandelten Kontrolle zwischen 330 und 410 g/kg, nach Inokulation zwischen 340 und 425 g/kg und bei N-Düngung zwischen 370 und 440 g/kg. Sowohl der Einfluss des Genotyps als auch jener der Stickstoff-Umwelt auf den Proteingehalt waren hoch signifikant, die Interaktion zwischen Genotyp und Stickstoff-Umwelt ebenfalls; die Größenordnung der Interaktions-Varianzkomponente lag jedoch im Vergleich zur genetischen Varianzkomponente auf wesentlich niedrigerem Niveau, sodass zwar Wechselwir-

kungseffekte nachweisbar sind, jedoch keine allzu starke Veränderung der Rangreihung der Genotypen stattfindet. Dies kommt auch im GGE-Biplot (Abbildung 1) zum Ausdruck, in dem fünf Stickstoff-Umwelten zu einem „macro-environment“ clustern, in welchem ein „winning genotype“ (Genotyp Nr. 58) den besten Proteingehalt aufweist. Lediglich die Umwelt „INOK-96“ (inokuliert, Anbaujahr 1996) weicht von den anderen deutlich ab und hat mit Genotyp Nr. 43 auch einen anderen „winning

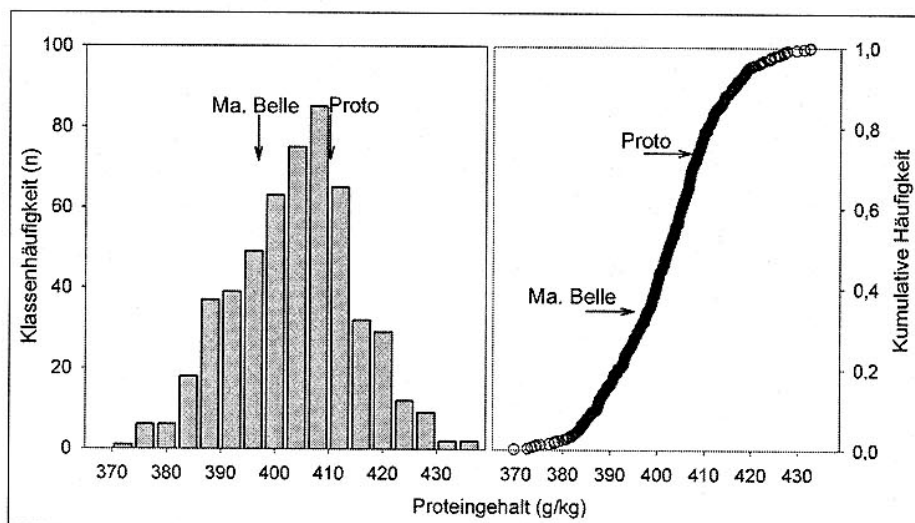


Abbildung 2: Verteilung der Proteingehalte von 530 F_{2,6}-Linien (Mittelwerte über vier Anbaujahre) sowie der beiden Kreuzungseltern *Ma.Belle* und *Proto* dargestellt als Histogramm (links) bzw. als kumulative Häufigkeitsverteilung (rechts)

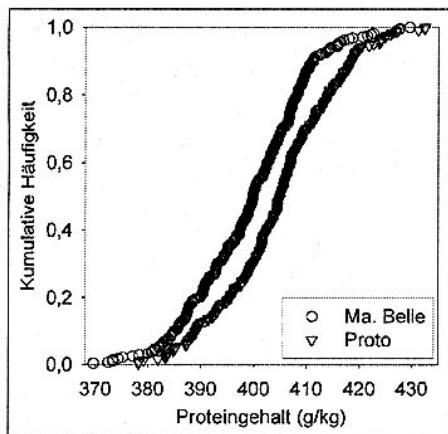


Abbildung 3: Kumulative Häufigkeitsverteilung der Proteingehalte von 530 $F_{2,6}$ -Linien in Abhängigkeit vom Elternallel auf dem SSR-Locus Satt 173

genotype“. Die festgestellte, vergleichsweise geringe Interaktion zwischen Genotyp und Stickstoff-Umwelt ist für die Selektion auf hohen Proteingehalt von Interesse, da sie bedeutet, dass in einer bestimmten Selektionsumwelt Sojabohnen auch für andere Stickstoff-Verhältnisse selektiert werden können.

Die in *Abbildung 1* im Vergleich zu „INOK-97“ stark abweichende Umwelt „INOK-96“ ist zudem ein Hinweis darauf, dass das Symbiosesystem Sojabohne-*Bradyrhizobium* an mitteleuropäische Anbauverhältnisse mit niedrigen Bodentemperaturen zur Zeit der Nodulierung bislang sehr schlecht angepasst ist.

Im Anbaujahr 1996 dürfte die Symbiose nicht in Gang gekommen sein (vgl. VOLLMANN et al., 2000), was zu stark verringerten Proteingehalten führte.

Die Proteingehalte der 530 $F_{2,6}$ -Linien der Kreuzung *Ma.Belle* $\times$ *Proto* sind in *Abbildung 2* sowohl in Form eines Histogrammes als auch in kumulativer Häufigkeitsverteilung dargestellt, in welcher jede einzelne Linie durch einen Punkt repräsentiert ist, dessen Lage durch deren Proteingehalt sowie ihren Rang innerhalb der Population definiert ist.

In der vorliegenden Kreuzungspopulation wurden 6 auf unterschiedlichen Kopplungsgruppen liegende QTL für Proteingehalt identifiziert, wobei sowohl Elter *Proto* als auch Elter *Ma.Belle* an einzelnen Loci Allele mit dem jeweils höheren Proteingehalt beitragen, was die transgressive Aufspaltung der Linien erklären kann. Die hier gefundenen QTL bestätigen teilweise auch die von CSANÁDI et al. (2001) in derselben Population berichteten. Das Beispiel eines Protein-QTL ist in *Abbildung 3* ebenfalls als kumulative Häufigkeitsverteilung dargestellt.

Neben den QTL-Haupteffekten zeigen zweifaktorielle Varianzanalysen eine Reihe von hoch signifikanten epistatischen Effekten zwischen Genlocus-Paaren auf den Proteingehalt an (*Tabelle 1*), was in *Abbildung 4* an kumulativen Häufigkeitsverteilungen exemplarisch dargestellt wird: Die zwei Genloci A und B haben selbst keinen Einfluss auf den Proteingehalt (*Abbildung 4a* und *4d*); unter der Bedingung des Allels „A“ (*Ma.Belle*) auf dem Locus A sind die Proteingehalte bedingt durch den Locus B je nach

Allel „B“ oder „b“ voneinander deutlich verschieden (*Abbildung 4b*), während das Allel „a“ (*Proto*) auf Locus A keinen differenzierenden Einfluss auf die Allele des Locus B ausübt (*Abbildung 4c*). Epistatische Effekte dürften somit für die Höhe des Proteingehaltes in einzelnen Linien der vorliegenden Population eine wichtige Rolle spielen. Bedingt durch die geringe Markerdichte und die damit verbundene Art des Nachweises (Punkt-Mapping anstelle von Intervall-Mapping) ist anzunehmen, dass die tatsächlichen Epistasie-Effekte noch deutlich höher als die in *Tabelle 1* angegebenen Schätzwerte sind. In bisherigen Untersuchungen an Sojabohnen wurden zahlreiche QTL für Proteingehalt und andere Samenmerkmale identifiziert, wie etwa von HYTEN et al. (2004) zusammengefasst. Hinweise auf epistatische Effekte fehlen dagegen zumeist gänzlich, sollten aber in einer auf die Züchtung von Sojabohnen mit hohem Proteingehalt gerichteten Selektionsstrategie berücksichtigt werden.

Zur Adaptierung der Sojabohne für eine direkte Verfütterung als hofeigene Proteinquelle ist neben hohem Proteingehalt auch eine Verringerung der Proteaseinhibitoraktivität erforderlich. Auch in diesem Merkmal existiert eine züchterisch nutzbare Variabilität (VOLLMANN et al., 2003), die eine schrittweise Qualitätsanpassung ermöglichen könnte.

Ein sicherer Anbau von Sojabohnen ist unter österreichischen Bedingungen ausschließlich mit Genotypen der frühesten Reifegruppen (000 - 00, 0 in Gunstlagen) möglich. In diesem Segment ist die genetische Variabilität in agronomischen und qualitativen Merkmalen im Vergleich zu der in späteren Reifegruppen vorhandenen sehr gering, was beispielsweise auch in der geringen Anzahl an Genbank-Akzessionen für frühe Gruppen zum Ausdruck kommt (CARTER et al., 2004). Gen-Introgression durch Einkreuzung von Qualitätseigenschaften aus „exotischem“ Material und Rückkreuzung (vgl. WILCOX und CAVINS, 1995) bzw. Reselektion zur Wiederherstellung der erforderlichen Phänologie ist die Methode der Wahl, um frühreifende Sojabohnen im Proteingehalt oder anderen Qualitätsmerkmalen zu verbessern

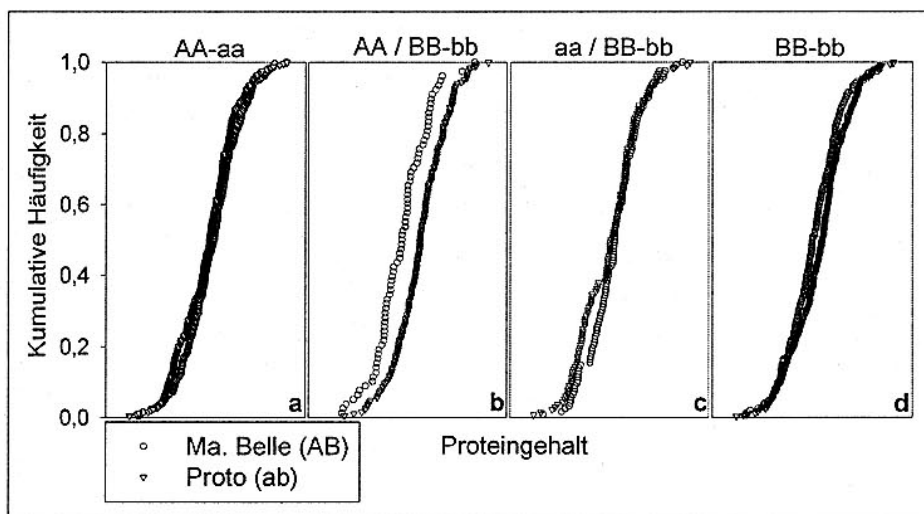


Abbildung 4: Epistatische Wechselwirkung zwischen den Genloci A und B auf den Proteingehalt, dargestellt anhand von kumulativen Häufigkeitsverteilungen: (a) Genlocus A (Satt 346), (b) Allel *Ma.Belle* auf Genlocus A, alternative Allele auf Genlocus B, (c) Allel *Proto* auf Genlocus A, alternative Allele auf Locus B, (d) Genlocus B (Sat_219)

Tabelle 1: Kreuztabelle von partiellen r^2 -Werten (in Prozent) aus 2-faktoriellen Varianzanalysen für Marker $\times$ Marker - Interaktionen, die epistatische Effekte für das Merkmal Proteingehalt beschreiben (LG: Kopplungsgruppen von B2, D1a ... bis O, darunter bzw. daneben (SSR) die auf diesen Kopplungsgruppen befindlichen SSR-Markerloci)

LG		D1a	F	F	I	K	L	M	M	M	O	O	O	O	O	O	O	O
	SSR	Satt482	Satt149	Sat_171	Satt562	Satt196	Satt313	Satt250	Satt336	Satt567	Satt445	Satt473	Satt262	Satt173	Satt188	Satt345	Satt094	Sat_219
B2	Satt020							1,2										
D1a	Satt077	1,4																
D1a	Satt482		1,3															
D2	Satt413					1,3												
F	Satt193						3,1		2,2	1,6								
F	Satt149			1,4			1,4											
F	Sat_171													1,9				
I	Satt571				2,1		1,2						1,7			2		
I	Satt562										1,9						3,2	
K	Satt196						1,5											
L	Satt313											1,8			1,8			
M	Satt250															2,3		
M	Satt346																	4,1
M	Satt210														1,5			
M	Satt306																	1,7

und damit an spezifische Erfordernisse der Lebens- oder Futtermittelherstellung anzupassen.

Zusammenfassung

Verschiedene Sameninhaltsstoffe der Sojabohne haben je nach Art der Verwertung einen unterschiedlichen Stellenwert. In der europäischen Sojabohnenproduktion steht der hohe Proteingehalt im Mittelpunkt des Interesses, ist jedoch - abhängig von Sorte, Witterungsverlauf und den übrigen agronomischen Bedingungen - starken Schwankungen unterworfen. Für die Selektion von Sojabohnen mit hohem Proteingehalt ist eine reproduzierbare Rangreihung der Genotypen bei unterschiedlicher Stickstoff-Versorgung wichtig, was an einem Set von 60 frühreifenden Linien verifiziert werden konnte. In einer biparentalen QTL-Kartierungspopulation für das quantitative Merkmal Proteingehalt wurden neben additiv wirkenden Haupteffekten zahlreiche epistatische Wechselwirkungen gefunden, was bei der Wahl einer optimalen Selektionsstrategie berücksichtigt werden sollte.

Summary

The importance of particular seed constituents of soybean is strongly depending on the product utilisation intended. In Central European soybean production, most emphasis is put on high seed protein content, which may considerably be modified by genotype, weather conditions throughout the growing period and other agronomic characteristics. A reproducible ranking of genotypes under various nitrogen supply conditions is important for the efficiency of selection for high protein content, which has been verified experimentally in a set of 60 early maturing breeding lines. In a biparental QTL-mapping population, both additive QTL effects as well as a number of epistatic interactions have been identified, which should be considered in selection for high protein content.

Literatur

BHARDWAJ, H.L., A.S. BHAGSARI, J.M. JOSHI, M. RANGAPPA, V.T. SAPRA and M.S.S. RAO, 1999: Yield and quality of soymilk and tofu made from soybean genotypes grown at four locations. *Crop Sci.* 39:401-405.

BURGUEÑO, J., J. CROSSA and M. VARGAS, 2002: SAS programs for graphing GE and GGE biplots. Online Technical Bulletin, Biometrics and Statistics Unit, CIMMYT, Mexico DF, Mexico. URL: <http://www.cimmyt.cgiar.org/biometrics/biplots.exe> (verifiziert, 2. November 2005).

CARTER, T.E. Jr., R.L. NELSON, C.H. SNELLER and Z. CUI, 2004: Genetic diversity in soybean. In: BOERMA, H.R. and J.E. SPECHT (eds.), *Soybeans, improvement, production and uses*, Third Edition, No. 16 in Series Agronomy, Crop Science Society of America, Madison, WI, USA, pp. 303-416.

CSANÁDI, G., J. VOLLMANN, G. STIFT and T. LELLEY, 2001: Seed quality QTLs identified in a molecular map of early maturing soybean. *Theor. Appl. Genet.* 103:912-919.

FUSSENEGGER, D. und K. WIDHALM, 2003: Welches Fett das Kraut fett macht: Rapsöl und andere. *J. Ernährungsmed.* 5 (4/2003):31-35.

HOLLAND, J.B., V.A. PORTYANKO, D.L. HOFFMAN and M. LEE, 2002: Genomic regions controlling vernalization and photoperiod responses in oat. *Theor. Appl. Genet.* 105:113-126.

HYTEN, D.L., V.R. PANTALONE, C.E. SAMS, A.M. SAXTON, D. LANDAU-ELLIS, T.R. STEFANIAK and M.E. SCHMIDT, 2004: Seed quality QTL in a prominent soybean population. *Theor. Appl. Genet.* 109:552-561.

KIM, Y. and L. WICKER, 2005: Soybean cultivars impact quality and function of soymilk and tofu. *J. Sci. Food. Agric.* 85:2514-2518.

- MARQUARD, R., 1990: Untersuchungen über den Einfluss von Sorte und Standort auf den Tocopherolgehalt verschiedener Pflanzenöle. *Fat Sci. Technol.* 92:452-455.
- SAS INSTITUTE, 1988: SAS/STAT User's Guide. Release 6.03 ed. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- SCHORI, A., R. CHARLES und D. PETER, 2003: Sojabohne: Züchtung, Agronomie und Produktion in der Schweiz. *Agrarforschung* 10 (4):I-VIII.
- UJIE, A., T. YAMADA, K. FUJIMOTO, Y. ENDO and K. KITAMURA, 2005: Identification of soybean varieties with high alpha tocopherol content. *Breeding Sci.* 5:123-125.
- VOLLMANN, J., C.N. FRITZ, H. WAGENTRISTL and P. RUCKENBAUER, 2000: Environmental and genetic variation of soybean seed protein content under Central European growing conditions. *J. Sci. Food Agric.* 80:1300-1306.
- VOLLMANN, J., H. GRAUSGRUBER, H. WAGENTRISTL, H. WOHLER and P. MICHELE, 2003: Trypsin inhibitor activity of soybean as affected by genotype and fertilisation. *J. Sci. Food Agric.* 83:1581-1586.
- WAGENTRISTL, H., J. VOLLMANN und H.P. KAUL, 2005: Anbaueignung von Edamame-Sorten im pannonischen Klimaraum (Gemüse-sojabohne). *Mitt. Ges. Pflanzenbauwiss.* 17:245-246.
- WILCOX, J.R. and J.F. CAVINS, 1995: Backcrossing high seed protein to a soybean cultivar. *Crop Sci.* 35:1036-1041.
- WILSON, R.F., 2004: Seed composition. In: BOERMA, H.R. and J.E. SPECHT (eds.), Soybeans, improvement, production and uses, Third Edition, No. 16 in Series Agronomy, Crop Science Society of America, Madison, WI, USA, pp. 621-677.