

Strategien zur Entwicklung von Sojabohnen für den Lebensmittelbereich

Strategies for breeding of food-grade soybeans

Johann Vollmann^{1*}, Pia Euteneuer¹, Takashi Sato¹,
Viola Zahlner², Emmerich Berghofer² und Helmut Wagentristl³

Abstract

A steadily increasing acreage of soybean has been grown in Austria over the previous seasons. As most soybeans harvested at present are used for food rather than feed, there is a growing interest in food-grade soybeans with desirable quality features both for processing and consumer acceptance. Apart from yellow hilum, large seed size and high protein content, enhanced sucrose content has a positive effect on the taste of products. As plant breeding for early maturity soybean development has rarely focused on sucrose concentration of seed, a number of experiments has been evaluated for determining genetic and environmental variation in sucrose content in order to improve food-grade soybean germplasm. A near-infrared reflectance spectroscopy method was established for measuring sucrose content simultaneously to oil and protein content. In different single-row plot screening experiments grown over 4-5 seasons, significant genetic and environmental variation was found in sucrose content with an overall variation from 4-8.5 g 100 g⁻¹. In one particular population, heritability of sucrose content was low due to an obvious lack of genetic variation, whereas in two other populations heritability estimates for sucrose were much higher and on the same level as for oil and protein content. Sucrose was negatively correlated to seed protein content, whereas correlations to oil content and seed size were positive or not significant. The results suggest that sucrose content could be utilized as an additional quality feature in developing food-grade soybean genotypes.

Keywords

Glycine max, near-infrared reflectance spectroscopy, NIRS, seed protein content, sucrose content

Einleitung

Sojabohnen (*Glycine max* [L.] Merr.) werden weltweit primär als Ölpflanzen betrachtet und der globale Sojaanbau hat in der Periode 2009/2010 erstmals 100 Mio ha überschritten. In Europa hingegen wird die Sojabohne vor allem wegen ihres hohen Proteingehaltes von über 40% (bez. auf Tro-

ckenmasse) produziert und in Lebensmitteltechnologie und Fütterung breit eingesetzt. In Österreich hat der Sojaanbau in den vergangenen Jahren stetig zugenommen und 2010 mehr als 34000 ha eingenommen (AGRAR MARKT AUSTRIA 2010). Ein großer Teil der in Österreich geernteten Sojabohnen wird zu Lebensmitteln verarbeitet, v.a. zu Sojadrinks, Sojadeserts, Tofu, Aufstrichen, Snacks u.ä. Produkten. Dabei gelten spezifische Qualitätsanforderungen für das Erntegut, die sich von jenen für die Futtermittelherstellung unterscheiden, wodurch die einzelnen Sorten unterschiedlich gut für eine derartige Verarbeitung geeignet sind.

Speisesojabohnen zur Produktion von Sojadrinks und Tofu zeichnen sich durch eine helle Hilum- und Samenschalenfarbe, ein größeres Korn (TKG 180-220 g), höheren Proteingehalt (44%) und angenehmen Geschmack aus. Der Geschmack von Sojaprodukten wird durch den Zuckergehalt (Saccharose) der Sojabohne positiv beeinflusst, während unerwünschte Geschmackskomponenten durch Lipoxygenaseaktivität (*grassy-beany flavor*) oder Isoflavone/Saponine (adstringierender Geschmack) bedingt sind (CUI et al. 2004). Glycinin (11S, 320-380 kDa Molekulargewicht) und β -Conglycinin (7S, 180 kDa) sind die wesentlichen Speicherproteinfraktionen, die zusammen etwa 70-90% des Soja-Proteingehaltes ausmachen (NIELSEN 1996). Durch ein höheres 11S-7S-Verhältnis werden bessere Konsistenz der Sojadrinks bzw. Textur von Tofu erzielt (KIM und WICKER 2005), und einzelne Untereinheiten der beiden Proteinfraktionen wurden identifiziert, welche die Festigkeit des Tofus beeinflussen (POYSA et al. 2006). Für das in Österreich gelistete Soja-Sortiment hat MECHTLER (2010) eine Einteilung der 00- und 000-Sorten nach Hilumfarbe sowie nach den Ausprägungsstufen der Korngröße und des Proteingehaltes vorgenommen, um die Auswahl von Speisesojabohnen zu erleichtern.

Eine züchterische Selektion auf Hilumfarbe und Korngröße ist in entsprechenden Populationen vergleichsweise einfach zu bewältigen. Der Proteingehalt, dessen Genetik und Beeinflussbarkeit durch Umweltbedingungen und biologische Stickstofffixierung wurden bereits wiederholt beschrieben (siehe z.B. VOLLMANN et al. 2000; 2006). Für den Zuckergehalt der Sojabohnen, der den Geschmack von Produkten beeinflusst, liegen dagegen nur wenige pflanzenzüchterisch

¹ Universität für Bodenkultur Wien, Dept. f. Nutzpflanzenwissenschaften, Abt. Pflanzenzüchtung, Gregor Mendel Straße 33, A-1180 WIEN

² Universität für Bodenkultur Wien, Dept. f. Lebensmittelwissenschaften u. Lebensmitteltechnologie, Inst. f. Lebensmitteltechnologie, Muthgasse 18, A-1190 WIEN

³ Universität für Bodenkultur Wien, Dept. f. Nutzpflanzenwissenschaften, Versuchswirtschaft Groß-Enzersdorf, Schlosshofer Straße 31, A-2301 GROSS-ENZERSDORF

* Ansprechpartner: Johann VOLLMANN, johann.vollmann@boku.ac.at

verwertbare Befunde vor. HOU et al. (2009) untersuchten die Variabilität in den Gehalten löslicher Kohlenhydrate in einem Sortiment von 241 Genotypen der Reifegruppen III, IV und V. Während die Konzentrationen von Glukose, Fruktose und Raffinose im Mittelwert zumeist unter 1% lagen, erreichten Stachyose 3% und die geschmacksrelevante Saccharose je nach Reifegruppe etwa 4-5%. Einzelne der von HOU et al. (2009) untersuchten Genotypen wiesen Saccharosegehalte im Bereich von 0.2 bis 9.5% auf, was eine sehr breite genetische Variation darstellt, die für Selektionszwecke nutzbar erscheint.

Züchterisch relevante Informationen über den Saccharosegehalt von Sojasorten früher Reifegruppen mit einer Anbaueignung unter mitteleuropäischen Bedingungen liegen bislang kaum vor. In der vorliegenden Untersuchung wird daher zunächst die Entwicklung einer NIRS-Kalibration zur raschen Messung von Saccharose vorgestellt, und sodann diese Kalibration zur Analyse von Saccharose-Konzentrationen in verschiedenen Versuchsserien angewandt.

Material und Methoden

Von 135 Sojabproben aus den Anbaujahren 2006 bis 2010 wurden mittels einer enzymatisch-photometrischen Referenzmethode (Megazyme-Kit K-SUFRG; Megazyme Int., Wicklow, Irland) die Saccharosegehalte bestimmt. Vermahlene Referenzproben wurden mittels eines FT-NIR-Spektrometers (Bruker Matrix I; Bruker, Ettlingen, Deutschland) gescannt, einzelne Proben wurden darüber hinaus mit unterschiedlichen Mengen an Saccharose (Staubzucker; Agrana, Wien, Österreich) gemischt ('artificial reference samples') und ebenfalls gescannt, sodass insgesamt über 200 Referenzproben für die NIRS-Kalibrationsentwicklung mittels PLS-Regression (Software OPUS) zur Verfügung standen.

Vier verschiedene Feldversuchsserien an den Standorten Raasdorf bzw. Groß-Enzersdorf wurden über die Jahre 2006 bis 2010 in Einzelreihen-Parzellen zumeist als generalisierte Gitteranlagen in zwei Wiederholungen angelegt und das Erntegut mittels NIRS auf Qualitätsmerkmale analysiert:

- GG3X_epi (n=30 F_{2,7}-Linien der Kreuzung Ma. Belle/Proto; 4 Umwelten)
- LO (n=36 auf verringerten Ölgehalt vorselektierte Linien; 5 Umwelten)
- PS_2_screening (n=50 Linien, vorselektiert auf hohen Proteingehalt oder hohen Hülsenansatz; 5 Umwelten)
- GPX_screening (n=2030 F_{3,4}-Linien aus vier versch. high-protein-Kreuzungen in 1 Wh., augmented design)

Die Angabe des Öl, Protein- und Saccharosegehaltes erfolgte in allen Versuchen auf der rechnerischen Basis der Trockenmasse. Einzelversuche und Versuchsserien wurden mittels PLABSTAT (UTZ 2005) dem jeweiligen Versuchsdesign entsprechend statistisch analysiert.

Ergebnisse

Die Entwicklung von NIRS-Kalibrationen für die Saccharose-Bestimmung ist in *Tabelle 1* wiedergegeben. Nach Elimination von Ausreißern in den Kalibrations-Sets konnten v.a. mit dem kombinierten Set aus Referenzproben und 'artificial reference samples' stabile und für Selektionszwecke hinreichend genaue Kalibrationen erreicht werden, welche in den nachfolgend beschriebenen Experimenten zur NIRS-basierten Vorhersage des Zuckergehaltes Verwendung fanden.

Die Ergebnisse der Varianzanalysen der drei über jeweils mehrere Umwelten durchgeführten Versuchsserien in *Tabelle 2* zeigen, dass ähnlich wie Protein- und Ölgehalt auch

Tabelle 1: Kennzahlen von drei NIRS-Kalibrations-Sets zur Vorhersage des Saccharosegehaltes von Sojabproben

Table 1: Characteristics of different NIRS-calibrations for predicting sucrose in soybean samples

Kalibrationsparameter	Kalibrations-Sets		
	Set 2006-2010	artificial samples set	kombiniertes Set
Anzahl an Proben (n)	115	93	204
PLSR-Variablen	8	8	10
R ² der Kalibration	84.34	98.97	99.09
Fehler Kalibr. (RMSE-E)	0.41	0.40	0.27
R ² der Validierung	81.51	98.47	97.98
Fehler Valid. (RMSE-CV)	0.43	0.48	0.39

Tabelle 2: Signifikanzniveaus unterschiedlicher Varianzursachen in drei Versuchsserien für die Speisesoja-Qualitätsmerkmale Ölgehalt, Proteingehalt, Saccharosegehalt und TKG sowie die operative Heritabilität dieser Merkmale

Table 2: ANOVA significance levels and heritability estimates of oil content, protein content, saccharose content and 1000 grain weight in three different experimental series

Varianzanalyse	GG3X_epi				LO				PS_2_screening			
	Öl	Prot.	Sac.	TKG	Öl	Prot.	Sac.	TKG	Öl	Prot.	Sac.	TKG
Block (in U)	+	ns	ns	ns	ns	*	**	**	ns	*	**	ns
Umwelt (U)	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
Genotyp (G)	**	**	n.s.	**	**	**	**	**	**	**	**	**
GxU	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
Heritab. (op.)	77.5	72.2	9.4	91.4	89.9	89.9	87.9	83.1	90.2	85.2	85.8	83.1

ns, nicht signifikant; +, *, **, signifikant bei $p=0.1, 0.05, 0.01$

der Saccharosegehalt durch Genotyp, Umwelt sowie Genotyp x Umwelt-Interaktionen beeinflusst wurde. Lediglich in der Versuchsserie GG3X_epi, deren Linien allesamt aus einer einzigen Kreuzung stammten, war eine genetische Variabilität im Saccharosegehalt nicht nachweisbar und daher auch die operative Heritabilität des Merkmals sehr gering (9.4%), während diese in den anderen Serien jener von Öl- und Proteingehalt sowie der des TKGs vergleichbar war. *Abbildung 1* zeigt die Variation im Saccharosegehalt für einzelne Genotypen und deren Verlauf über verschiedene Umwelten. In der Serie GG3X_epi (keine statistisch signifikanten Genotyp-Unterschiede) lagen die Saccharosegehalte in der Regel zwischen 5 und 7 g 100 g⁻¹, in den beiden anderen Serien variierten sie über einen deutlich weiteren Bereich. Für alle drei in *Abbildung 1* dargestellten Versuchsserien zeigte der Saccharosegehalt über die Umwelten (i.e. Vegetationsperioden) einen ähnlichen Verlauf: In den Umwelten 3 und 4 (Jahre 2008 und 2009) wurden die höchsten, in den Umwelten 2 und 5 (2007 und 2010) die niedrigsten Gehalte festgestellt, was auf einen starken Einfluss von Witterungsbedingungen hinweist.

Das Ergebnis des einjährig (2009) durchgeführten Screenings GPX (*Abbildung 2*) zeigt deutlich die große Variation des Saccharosegehaltes innerhalb einzelner Kreuzungen, aber auch den Effekt bestimmter Eltern. Der Kreuzungselter GF4X-21-5-2 (high protein-Linie, jedoch keine Speisesoja-Qualität) führte in den Populationen GP2X und GP3X zu niedrigeren Saccharosewerten als der Elter Vinton 81 (Tofu-Sorte) in GP4X bzw. GP7X.

In allen vier Versuchsserien war der Saccharosegehalt signifikant negativ mit dem Proteingehalt korreliert (Korrelationskoeffizienten $r = -0.4$ bis -0.7 ; Details nicht wiedergegeben), die phänotypische Korrelation zum Ölgehalt hingegen war je nach Population und spezifischer Umwelt nicht signifikant oder positiv ausgeprägt.

Diskussion

Die präsentierten Ergebnisse zeigen zunächst, dass durch Kombination von Referenzproben und sog. 'artificial reference samples' brauchbare NIRS-Kalibrationen für die Bestimmung des Saccharosegehaltes der Sojabohne erhalten werden können, wodurch dieses Merkmal parallel zu den standardmäßig erfassten Öl- und Proteingehalten (vgl. z.B. POYSA et al. 2008) vorhergesagt werden kann. Dies ist im Hinblick auf die Selektion von Speisesojabohnen von besonderem Interesse, da hier die geschmacksbeeinflussenden Zuckergehalte eine wichtigere Rolle spielen als im Futtermittelbereich.

Der Zuckergehalt stellt ein quantitativ vererbtes Merkmal vergleichbar dem Ölgehalt dar, in QTL-Analysen wurden bislang vier bis sieben Regionen identifiziert, die für Zuckergehalt kodieren (MAUGHAN et al. 2000, KIM et al. 2005). Auch in den vorliegenden Ergebnissen ist daher die festgestellte Variation im Zuckergehalt sowohl von genetischen Einflüssen als auch von Umwelteffekten abhängig. In der Versuchsserie GG3X_epi (*Tabelle 2*, *Abbildung 1*) dürften die beiden Eltern sehr ähnliche Zu-

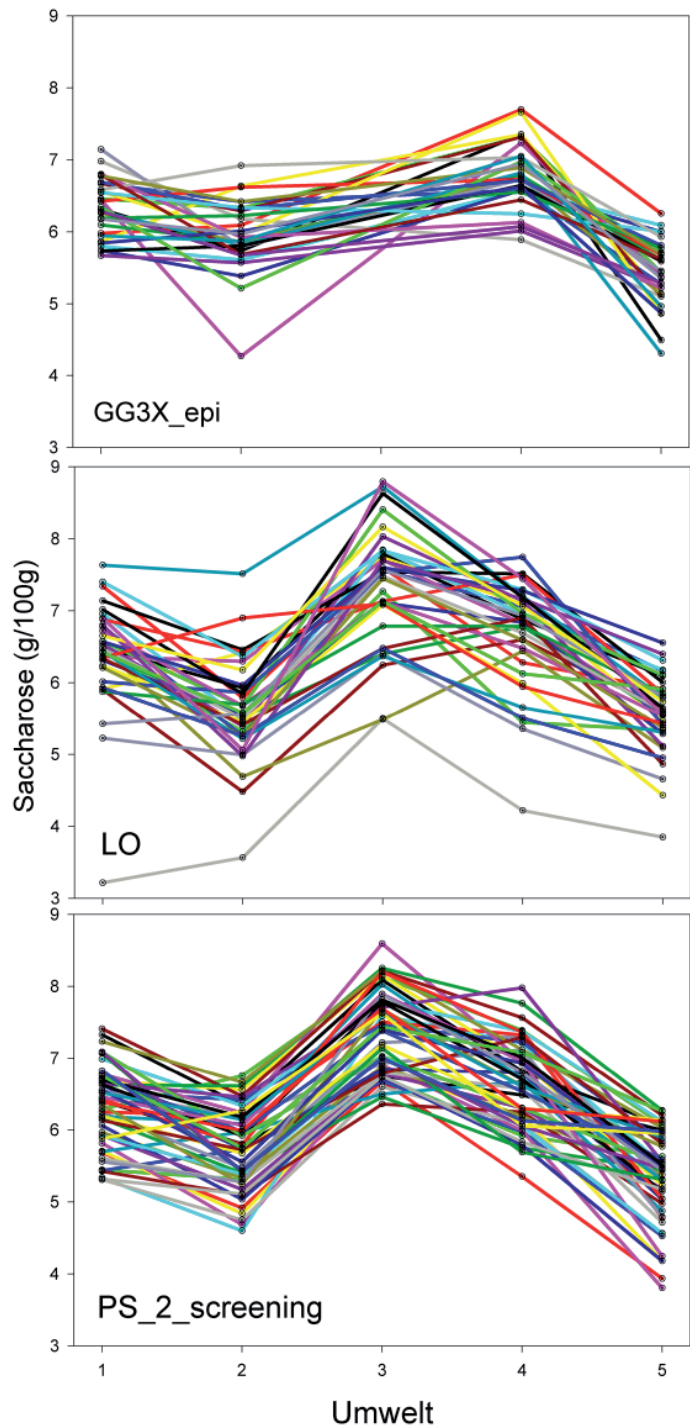


Abbildung 1: Verlauf der Saccharosegehalte einzelner Sojabohnen-Genotypen über verschiedene Umweltbedingungen (Anbaujahre 2006-2010) für drei unterschiedliche Versuchsserien

Figure 1: Sucrose content of individual soybean genotypes across environments in three different experimental series

ckergehalte aufweisen, sodass davon abgeleitete Linien keine genetische Variation erkennen ließen. In den anderen Versuchsserien war eine deutlich höhere genetische Variabilität feststellbar, die eine Selektion auf Zuckergehalt für Speisesojazwecke zulassen sollte. Kreuzungen mit etablierten Speisesojasorten wie Vinton 81

erscheinen ebenfalls angezeigt, da diese offenbar leichter zu Linien mit erhöhten Zuckergehalten führen (Abbildung 2). Auch wenn die negative Korrelation zwischen Protein- und Zuckergehalt die Selektion erschwert, erscheint das Auffinden brauchbarer Genotypen möglich, da für Speisesojazwecke zu meist Proteingehalte von 43-44% ausreichend sind. Ähnliche Korrelationen wie oben berichtet wurden auch von OPENSHAW und HADLEY (1981) gefunden, die auch nicht signifikante bzw. positive Korrelationen zwischen Zuckergehalt und Kornertrag feststellten; letzteres sollte die Selektion von Sortenkandidaten mit Speisesojaqualität und gleichzeitig akzeptablem Ertragsniveau ermöglichen.

Die meisten der in Österreich gegenwärtig produzierten Sojabohnen werden zu Lebensmitteln verarbeitet, wodurch ein erhöhter Bedarf an Sorten mit Speisesoja-Qualität entstanden ist. Neben heller Hilumfarbe, großem Korn und hohem Proteingehalt stellt der Zuckergehalt ein weiteres Qualitätsmerkmal dar, das - wie die vorliegenden Ergebnisse zeigen - in entsprechenden Populationen vergleichsweise leicht selektierbar erscheint. Wegen seiner geschmacksbildenden Eigenschaften und als Teil einer Gesamtstrategie zur Entwicklung qualitativ hochwertiger Speisesojabohnen mit besserer Akzeptanz der daraus hergestellten Lebensmittel sollte der Zuckergehalt daher züchterisch stärker Berücksichtigung finden.

Literatur

- AGRAR MARKT AUSTRIA, 2010: Getreide und Ölsaaten – Anbauflächen, Erträge, Marktleistung Österreich 1997 bis 2010 (Stand: November 2010). [Available online: <http://www.ama.at>; accessed 7 Dec 2010]
- CUI Z, JAMES AT, MIYAZAKI S, WILSON RF, CARTER Jr TE, 2004: Breeding specialty soybeans for traditional and new soyfoods. In: Liu K (Ed.), Soybeans as functional foods and ingredients, pp. 264-322. AOCS Press, Champaign, IL.
- HOU A, CHEN P, ALLOATTI J, LI D, MOZZONI L, ZHANG B, SHI A, 2009: Genetic variability of seed sugar content in worldwide soybean germplasm collections. *Crop Sci.* 49, 903-912.
- KIM Y, WICKER L, 2005: Soybean cultivars impact quality and function of soymilk and tofu. *J. Sci. Food Agric.* 85, 2514-2518.
- KIM HK, KANG ST, CHO JH, CHOUNG MG, SUH DY, 2005: Quantitative trait loci associated with oligosaccharide and sucrose contents in soybean (*Glycine max* L.). *J. Plant Biol.* 48, 106-112.
- MAUGHAN PJ, SAGHAI MAROOF MA, BUSS GR, 2000: Identification of quantitative trait loci controlling sucrose content in soybean (*Glycine max* L.). *Mol. Breed.* 6, 105-111.

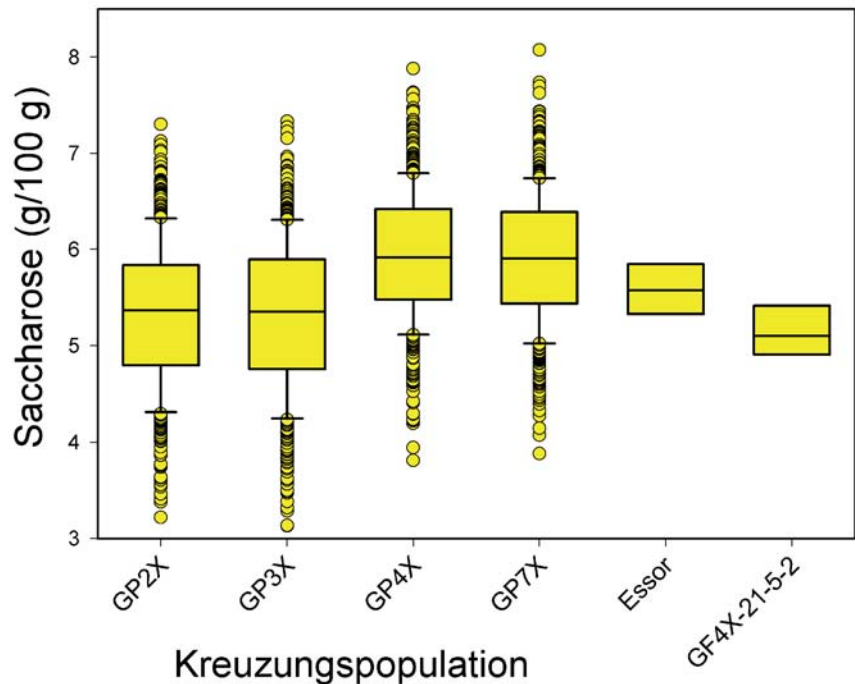


Abbildung 2: Verteilung des Saccharosegehaltes in $F_{3,4}$ -Linien der Kreuzungen GP2X (Gallec/GF4X-21-5-2, n=500), GP3X (Essor/GF4X-21-5-2, n=494), GP4X (Essor/Vinton 81, n=491) und GP7X (GL601/Vinton 81, n=520) sowie zweier Standardgenotypen an einer Umwelt (Groß Enzersdorf 2009)

Figure 2: Variation of sucrose content in $F_{3,4}$ -lines from four different segregating populations and two standard genotypes grown in a single environment

- MECHTLER K, 2010: Sorteneignung für die Speisesojaproduktion. Bericht ALVA-Jahrestagung 2010, Vom Lebensmittel zum Genussmittel - was essen wir morgen?, 31. Mai-1. Juni, Schloss Puchberg, Wels, pp. 141-142. Arbeitsgemeinschaft für Lebensmittel- Veterinär- und Agrarwesen, Wien.
- NIELSEN NC, 1996: Soybean seed composition. In: Verma DPS, Shoemaker RC (Eds.), Soybean: Genetics, molecular biology and biotechnology, pp. 127-163. CAB International, Wallingford, UK.
- OPENSHAW SJ, HADLEY HH, 1981: Selection to modify sugar content of soybean seeds. *Crop Sci.* 21, 805-808.
- POYSA V, WOODROW L, YU K, 2006: Effect of soy protein subunit composition on tofu quality. *Food Res. Int.* 39, 309-317.
- POYSA V, WOODROW J, YU K, 2008: Nature soybean. *Can. J. Plant Sci.* 88, 929-931.
- UTZ HF, 2005: PLABSTAT - Plant Breeding Statistical Program. Version 3A. Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik, Universität Hohenheim, Stuttgart.
- VOLLMANN J, FRITZ CN, WAGENTRISTL H, RUCKENBAUER P, 2000: Environmental and genetic variation of soybean seed protein content under Central European growing conditions. *J. Sci. Food Agric.* 80, 1300-1306.
- VOLLMANN J, WAGENTRISTL H, POKEPRASERT A, SCHALLY H, GRAUSGRUBER H, 2006: Anpassung der Sojabohne an besondere Qualitätsansprüche. Bericht 56. Tagung 2005 der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, pp. 47-51. HBLFA Raumberg-Gumpenstein, Irnding.