

Proteinuntersuchungen in Einzelsamen von Lupinen zur züchterischen Erhöhung des Eiweißgehaltes

Protein investigations in single seeds of lupins with the breeding aim to increase the protein content

G. Jansen¹ und J. Kuhlmann²

Keywords: food quality, biodiversity, animal nutrition, protein content

Schlagwörter: Lebensmittelqualität, Biodiversität, Tierernährung, Proteingehalt

Abstract:

Besides other legumes lupins belong to the local protein crops usable as feeding stuff in ecologic farming. Therefore an important breeding aim is to provide lupins with high and stable protein content. A non-destructive analysis using near infrared transmittance spectroscopy was developed for determination of protein in single seeds of lupins. Calibration and validation equations were calculated on the basis of 300 single seeds of 3 blue lupins ('Azuro', 'Bolivio', 'Boregine') growing at 3 ecological locations. The estimation of protein content was possible in a range of 15-44% protein with a coefficient of determination (r^2) of 0,907 and a standard error of prediction (SEP) of 1,86%. The equation was applied to evaluate the protein content of single seeds in single plants of lupins. So the prediction of protein content is possible at early breeding stage and the investigated seeds can further used for the sowings.

Einleitung:

Im Rahmen eines vom Bundesprogramm Ökologischer Landbau finanziell geförderten Projektes „Züchterische Bearbeitung von Süßlupinen für den ökologischen Landbau – Qualitätsuntersuchungen im Hinblick auf Futtereignung“ wurde damit begonnen, Proteinuntersuchungen an Einzelsamen durchzuführen. Nach wie vor gehört die Süßlupine zu den wichtigsten im Ökolandbau einsetzbaren Eiweißträgern. Die Rohproteinuntersuchungen sollten dazu dienen, die Voraussetzungen für einen besseren und schnelleren Züchtungsfortschritt zur Erhöhung des Proteingehaltes in Lupinen zu schaffen. Die mit der Kjeldahl-Methode ermittelten Proteindaten von Lupinen-Einzelkörnern wurden zur Kalibrierung eines NIT-Spektrometers eingesetzt, um eine schnelle und zerstörungsfreie Methode zur Proteinbestimmung an Einzelkörnern in frühen Zuchtstadien zu entwickeln. Die analysierten Körner können anschließend wieder für weitere Züchtungsarbeiten eingesetzt werden.

Im folgenden Beitrag werden die Ergebnisse zur Erstellung der Kalibrierung von Rohprotein an Einzelsamen dargestellt. Die Qualität der Methode wurde an einem unabhängigen Probensatz kontrolliert. Nutzungsmöglichkeiten in der Pflanzenzüchtung zur Analyse von Einzelpflanzen wurden geprüft.

Weiterhin wird vorgestellt, ob Beziehungen zwischen dem Gewicht der Körner bzw. der Dichte der Körner und dem Rohproteingehalt bestehen, um eventuell Selektionsmöglichkeiten zu erleichtern.

¹Institut für abiotische Stresstoleranz, Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Rudolf-Schick-Platz 3, 18190 Groß Lüsewitz, Deutschland, g.jansen@bafz.de

²Saatzucht Steinach GmbH, Station Bornhof, Klockower Straße 11, 17219 Bocksee, Deutschland

Methoden:

Von Anbauversuchen der Ernte 2005 auf 3 ökologischen Standorten wurden 3 Sorten der Blauen Lupine ausgewählt: 'Azuro' (Standort Bogen in Niederbayern), 'Boregine' (Standort Gülzow in Mecklenburg Vorpommern) und 'Bolivio' (Standort Groß Lüsewitz in Mecklenburg Vorpommern).

Einzelpflanzen der Sorten 'Probor' und 'Vitabor' stellte die Saatzucht Steinach GmbH (Station Bornhof) zur Verfügung.

Für die Kalibrationsentwicklung wurden jeweils 99 Körner von 'Azuro', 'Boregine' und 'Bolivio' verwendet.

Die Bestimmung des Rohproteingehaltes in Einzelsamen erfolgte nach Kjeldahl, nach vorheriger Gewichtsbestimmung, Dichtebestimmung und Quetschung des Korns. Die Dichte einzelner Körner wurde mit einer Waage der Fa. Sartorius, die mit einem Dichtebestimmungs-Set zur Ermittlung des Korngewichtes und des Unterwassergewichtes ausgerüstet war, analysiert.

Die Transmissionsmessungen im Nahen Infrarot (NIT) wurden mittels Nah-Infrarot-Spektrometer Infracore 1255 der Firma FOSS durchgeführt.

Ergebnisse und Diskussion:

Der Rohproteingehalt in Blauen Lupinen aller 3 Standorte (Bogen, Gülzow und Groß Lüsewitz) schwankte im Anbaujahr 2004 zwischen 19,48 und 33,61% (JANSEN et al. 2005) und im Anbaujahr 2005 zwischen 17,61 und 33,64% (JANSEN et al. 2006). Dabei waren die Standortunterschiede im Proteingehalt wesentlich größer als die Sortenunterschiede. 3 Sorten mit niedrigem, mittlerem und hohem Proteingehalt unter Berücksichtigung der Standorte wurden ausgewählt und der Proteingehalt an jeweils 99 Einzelkörnern mittels Kjeldahlmethode bestimmt. In Abbildung 1 ist deutlich zu erkennen, dass die Variationsbreite in Einzelkörnern wesentlich höher ist als im gesamten angebauten Sortiment. Die Sorte 'Azuro' schwankte zwischen 8,83 und 26,17%, 'Boregine' zwischen 18,55 und 36,94% und 'Bolivio' zwischen 20,60 und 44,04%. Vor der nasschemischen Analyse wurden Transmissionspektren der einzelnen Körner aufgenommen.

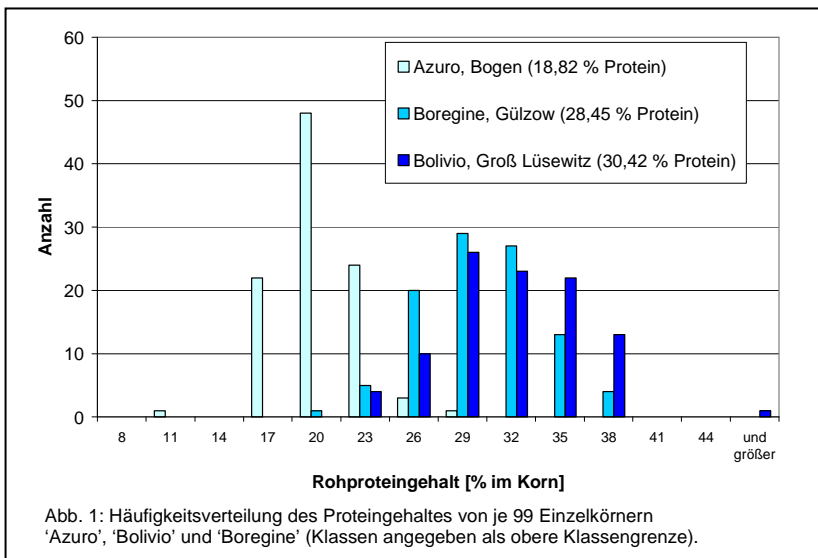


Abb. 1: Häufigkeitsverteilung des Proteingehaltes von je 99 Einzelkörnern 'Azuro', 'Bolivio' und 'Boregine' (Klassen angegeben als obere Klassengrenze).

Vom Ausgangsdatsatz, der alle 3 Sorten mit insgesamt 297 Körnern enthielt, wurden für den Kalibrierungssatz jedes 3. Korn (99 Körner) für die Methodenenwicklung zur Proteinbestimmung an Einzelkörnern mittels NIT verwendet. Innerhalb dieses Probensatzes wurde eine interne Validierung (Kreuzvalidierung) durchgeführt. Die Abschätzung der Vorhersagegenauigkeit erfolgte in einem separaten Probensatz (externe Methodvalidierung). Dafür wurden die restlichen Proben des Ausgangsdatsatzes (198 Körner) eingesetzt. Die Kalibrations- und Validationsdaten sind in Tab. 1 dargestellt.

Tab. 1: Ergebnisse der Kalibration und Validation von Rohprotein an Einzelsamen von Lupinen.

Mittelwert	Bereich	Kalibrierung		Kreuzvalidierung		Mittelwert	Bereich	externe Validierung	
		SEC	r ²	SECV	r ²			SEP	r ²
25,75	8,83-36,94	1,83	0,917	1,94	0,91	26,01	15,27-44,04	1,86	0,907

SEC Analysenfehler der Kalibrierung
 SECV Analysenfehler der Kreuzvalidierung
 SEP Analysenfehler der externen Validierung
 r² Bestimmtheitsmaß

Im Datensatz wurden keine Proben entfernt und die statistische Berechnung erfolgte über eine PLS (Partial Least Square)-Regression mit 5 Faktoren. Von den Originalspektren wurde die erste Ableitung gebildet ohne vorherige Streulichtkorrektur.

Mit den erzielten Ergebnissen liegt eine zuverlässige Kalibrierung für einen Einsatz in der Züchtung vor, bei der die nasschemisch bestimmten Werte gut mit den vorhergesagten Werten übereinstimmen, was durch ein hohes Bestimmtheitsmaß von r² = 0,907 und einen akzeptablen Fehler SEP = 1,86 bei einer externen Validierung ausgedrückt wird. Eine weitere Kontrolle der Kalibrierung wird mit neuen Sorten aus den Anbaujahren 2005 und 2006 erfolgen.

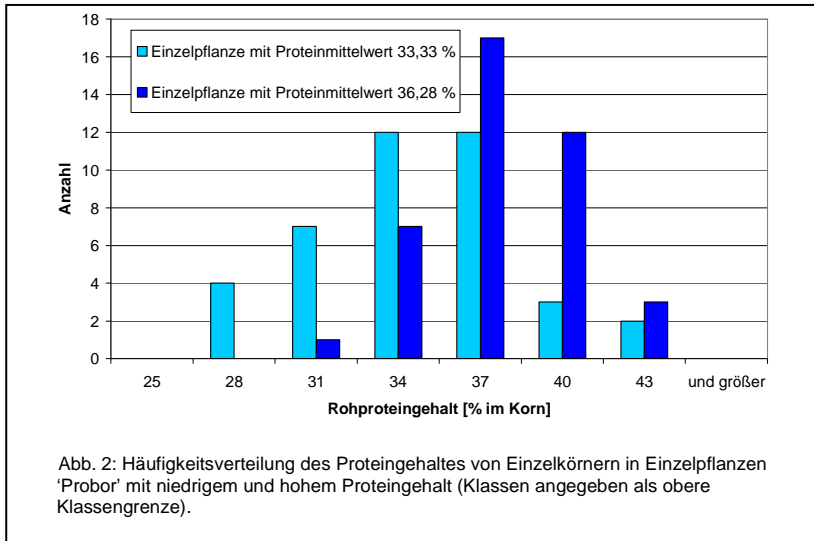
Vergleichbare Werte bei einer Proteinanalyse in Einzelkörnern von Sojabohnen mittels NIT wurden von TAJUDDIN et al. (2002) erreicht. Durch eine vorherige Siebung der Körner in 6 mm und größer sowie <6 mm konnten Korngrößeneffekte reduziert werden und führten zu folgenden Ergebnissen: 6 mm (r = 0,88, SEP = 1,32%) und <6 mm (r = 0,87, SEP = 1,57%).

Die von der BAZ erstellte Kalibrierung wurde genutzt, um in Lupinen-Einzelpflanzen einer Sorte mit hohem Proteingehalt ('Probor') und einer Sorte mit niedrigem Proteingehalt ('Vitabor') die Variation im Proteingehalt der Einzelkörner zu ermitteln. Die Sorte 'Probor' hatte bei einem mittleren Proteingehalt von 34,90% in 400 Einzelkörnern eine Schwankungsbreite von 25,40 – 42,99% und die Sorte 'Vitabor' einen Mittelwert von 30,89% mit einer Variation von 21,57 – 41,90%. Die Verteilung der Proteinwerte in einer Einzelpflanze von 'Probor' mit einem mittleren Proteingehalt von 36,28% und einer Einzelpflanze von 'Probor' mit einem mittleren Proteingehalt von 33,33% sind in Abbildung 2 dargestellt. Die Abbildung zeigt, dass sowohl zwischen den Einzelpflanzen als auch innerhalb einer Einzelpflanze eine erhebliche Streuung der Proteinwerte einzelner Körner vorhanden ist. Ob es signifikante Unterschiede in den Hülsen einer Einzelpflanze gibt und diese dann züchterisch nutzbar gemacht werden kann, wird demnächst überprüft.

Ideal wäre eine Differenzierung in hohe und niedrige Proteingehalte mittels einfacher morphologischer und physikalischer Merkmale, wie das Korngewicht oder die Korndichte.

Zwischen dem Proteingehalt und dem Korngewicht sowie der Korndichte zeichnete sich weder eine signifikante Korrelation, noch eine einheitliche Tendenz für eine Beziehung zwischen beiden Parametern innerhalb einer Sorte ab.

Eine zerstörungsfreie und kostengünstige Bestimmung des Proteingehaltes in frühen Zuchtgenerationen ist bei Lupinen notwendig. Bisher konnten wegen eines geringen Vermehrungskoeffizienten in den jungen Generationen keine Proteingehalte bestimmt werden. Die systematische Analyse von Umwelt- und Positionseffekten auf den Proteingehalt erlaubt die Ableitung von konstant zu haltenden Parametern, um die genetische Komponente identifizieren und züchterisch nutzen zu können.



Danksagung:

Gefördert mit Mitteln des BMELV, BÖL-Projekt, FKZ: 03OE355.

Für die sorgfältige Durchführung der Laboruntersuchungen danken wir Frau Margrit Jugert.

Literatur:

Jansen G., Jürgens H.-U., Flamme W. (2005): Einfluss von Standort und Sorte auf ausgewählte Qualitätsparameter ökologisch erzeugter Lupinen für die Nutztierfütterung. *Landbauforsch Völkenrode* SH 290:1-9.

Jansen G., Jürgens H.-U., Flamme W. (2006): Züchterische Bearbeitung von Süßlupinen für den ökologischen Landbau – Qualitätsuntersuchungen im Hinblick auf Futtereignung. Abschlussbericht BAZ-3358, Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen Groß Lüsewitz.

Tajuddin T., Watanabe S., Masuda R., Harada K., Kawano S. (2002): Application of near infrared transmittance spectroscopy to the estimation of protein and lipid contents in single seeds of soybean recombinant inbred lines for quantitative trait loci analysis. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 10:315-325.