

# Selektion auf Qualitätsmerkmale

## Pflanzliche Ernte-Produkte

Spezifische Nutzung

Inhaltsstoffe in best. Konzentration

Qualitätskriterien

Selektion auf Qualität

## Kulturarten mit spezifischen Qualitätsanforderungen

Brotweizen

Durumweizen

Roggen

Braugerste

Hafer

Mais

Raps

Sonnenblume

Sojabohne

Mohn

Erbse, Ackerbohne

Kartoffel, Zuckerrübe

Faserlein

Hanf

u.v.a.

# Qualitätszüchtung: Hoher analytischer Bedarf in der Selektion

## Konsequenzen:

- Abwandlung von Untersuchungsmethoden  
(zB Mikro-Kjeldahl)
- Entwicklung von Schnellmethoden  
(zB Papierchromatographie)
- indirekte Methoden  
(zB chem. Mehluntersuchung, physikal. Teiguntersuchung zur Bestimmung der Backfähigkeit, Elektrophorese zur Selektion auf Backfähigkeits-Proteine etc.)

# Anforderungen an analytische Methoden für den Einsatz in der Pflanzenzüchtung

- **Analyse großer Probenzahlen in kurzer Zeit**

(zB Winterraps: Kurze Zeit zw. Ernte und Wieder-Anbau)

- **Kleine Probenmengen**

(zB Selektion an Einzelpflanzen in frühen Generationen: Sehr geringe Probenmengen, Einzelpflanzenfehler etc.)

- **Zerstörungsfreie Messung**

(Saatgut soll im Optimalfall nach einer Qualitätsbestimmung/Messung noch keimfähig bzw. wieder anbaubar sein, v.a. in frühen Züchtungsgenerationen wichtig)

- **Ausreichende Genauigkeit**

**Selektion auf Qualitätsmerkmale**

# **Analytische Methoden für den Einsatz in der Pflanzenzüchtung**

- Universelle Methoden**
- Spezielle Methoden**

## Universelle Methoden (Beispiele)

- **Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl**

(Bestimmung des N-Gehaltes, Umrechnung auf Proteingehalt, Faktoren artspezifisch, oft 6.3, bei Brassicaceae zB besser 5.8-6, da viel N in Nicht-Protein-Verbindungen)

- **Soxhlet-Extraktion** (Ölgehalt; i.e. Rohfettgehalt)

- **Elementaranalyse** (zB CN-Analyzer)

- **Gaschromatographie (GC), HPLC**

(zB Bestimmung des Fettsäuremusters u.a. Separationsmethoden)

- **DNA-basierte Methoden**

(zB Markeranwendungen f. best. Qualitätsmerkmale)

- **NIRS** (Nah-Infrarot-Reflexionsspektroskopie)

(Gleichzeitige Bestimmung der Gehalte verschiedenster organischer u.a. Inhaltsstoffe sowie diverser Qualitätsparameter )

## Selektion auf Qualitätsmerkmale

# Spezielle Methoden (Beispiele)

**Backqualität von Getreide:** Bestimmung von Klebermenge (Feuchtklebergehalt), Kleberqualität (Quellzahl, Sedimentationswert, Schrotgärmethode usw.), Teiguntersuchungsmethoden (Farinogramm, Extensogramm, Alveogramm), Amylogramm und Fallzahl bei Roggen.

**Bestimmung der Glasigkeit** und des **Carotinoidgehaltes** von Durumweizen.

**Mikromälzungen** u.ä. zur Bestimmung der Brauqualität von Gerste.

**Polarisation:** Zuckergehaltsbestimmung bei Zuckerrüben.

**Stärkewaage** (Unterwassergewicht): Stärkegehaltsbestimmung bei Kartoffel.

**NMR** (nuclear magnetic resonance): Kernresonanzspektroskopie zur Ölgehaltsbestimmung.

**Glukosinolatbestimmung bei Raps:** GC, HPLC, Glukosetest, Sulfattest etc.

**Jodzah-Bestimmung:** Test auf den Anteil ungesättigter FS eines Öls.

**Papierchromatographie:** Semi-quantitativer Nachweis bestimmter Fettsäuren oder anderer Komponenten (oft als Halbkornmethode); z.B. Tüpfeltest auf Gehalt an Erucasäure bei Raps, Thiobarbiturat-Test zum Nachweis von Linolensäure in Öllein, Raps, Sojabohne, Leindotter etc.

**Jod-Jodkalium-Tests** zum Alkaloidnachweis bei Lupinen (Selektion von Süßlupinengenotypen nach Samen- oder Blatttests).

**Bastbestimmung, Bildanalyse etc.:** Faserertragsbeurteilung bei Flachs, Hanf od. Baumwolle.

**Elektrophorese (SDS-PAGE)** für best. Proteinmuster

u.v.a.

Selektion auf Qualitätsmerkmale

## Spezielle Methoden (Beispiele)



Sedimentationstest

Selektion auf Qualitätsmerkmale

## Spezielle Methoden (Beispiele)



Feuchtkleber

Selektion auf Qualitätsmerkmale

## Spezielle Methoden (Beispiele)



Back-  
versuch

# Öl- und Eiweißpflanzen

**Öl- und Proteingehalt**

**Fettsäuremuster / Aminosäuremuster**

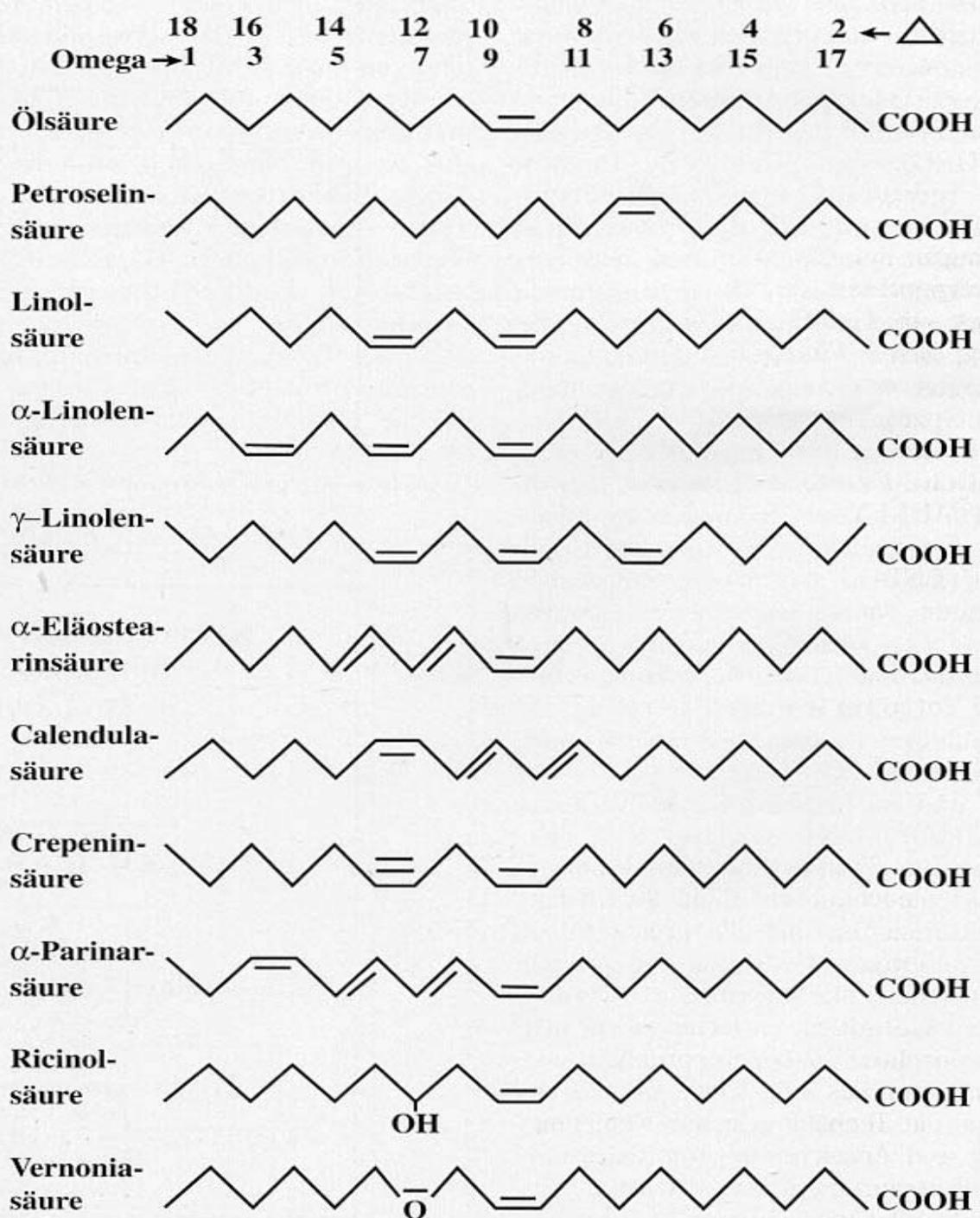
**Andere Inhaltsstoffe**

Öl- und Eiweißpflanzen

# Fettsäuremuster

Kettenlänge, Sättigung

zB C18, C16, C22-Fettsäuren



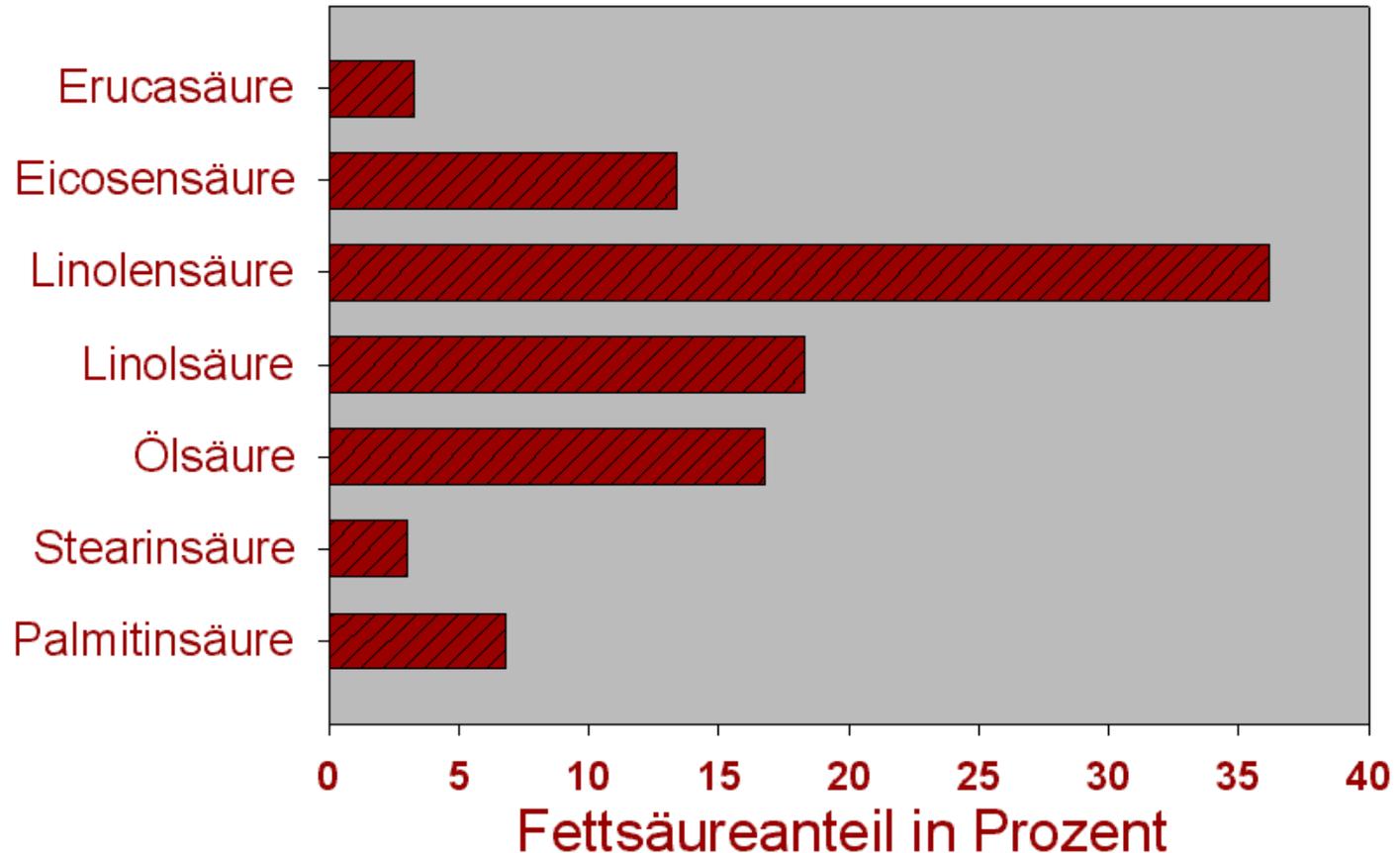
Beispiel:  
C18-Fettsäuren

(aus: Marquard 1992)

# Fettsäuremuster-Beispiele

Species‡	Fatty acid				
	Palmitic 16:0	Stearic 18:0	Oleic 18:1	Linoleic 18:2	Linolenic 18:3
	%				
Soybean ( <i>Glycine max</i> )	11	4	22	53	8
Palm ( <i>Elaeis guineensis</i> , <i>E. oleifera</i> )	40–69	4–5.5	20–44	4–12	<1
Canola ( <i>Brassica napus</i> )	4	2	56	26	10
Sunflower ( <i>Helianthus annuus</i> )	6	5	20	69	<1
Cottonseed ( <i>Gossypium</i> spp.)	27	2	18	51	Trace
Peanut ( <i>Arachis hypogaea</i> )	12.5	2.5	38	41	<1
Coconut ( <i>Cocos nucifera</i> )	7	2	4.5	1.5	
Olive ( <i>Olea europa</i> )	10–20	2–3	55–78	7–19	<1
Palm kernel	5–14	1–3	5–38	2–33	
Linseed ( <i>Linum usitatissimum</i> )	6	3	17	14	60
Corn ( <i>Zea mays</i> )	13	2.5	31	52	1

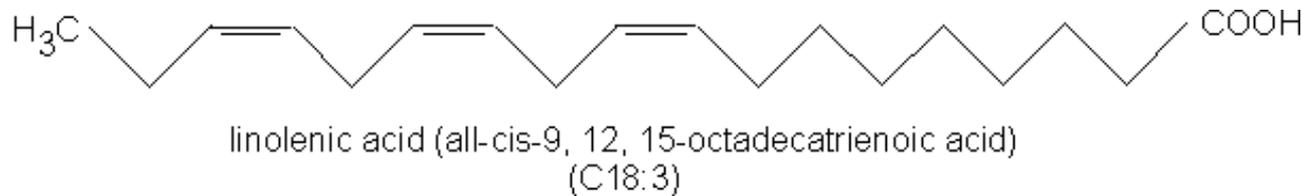
# Fettsäuremuster-Beispiele



## Fettsäuremuster von Leindotteröl

(Mittelwerte über versch. Genotypen der Anbaujahre 1997 u. 1998 in Gr.Enzersdorf)

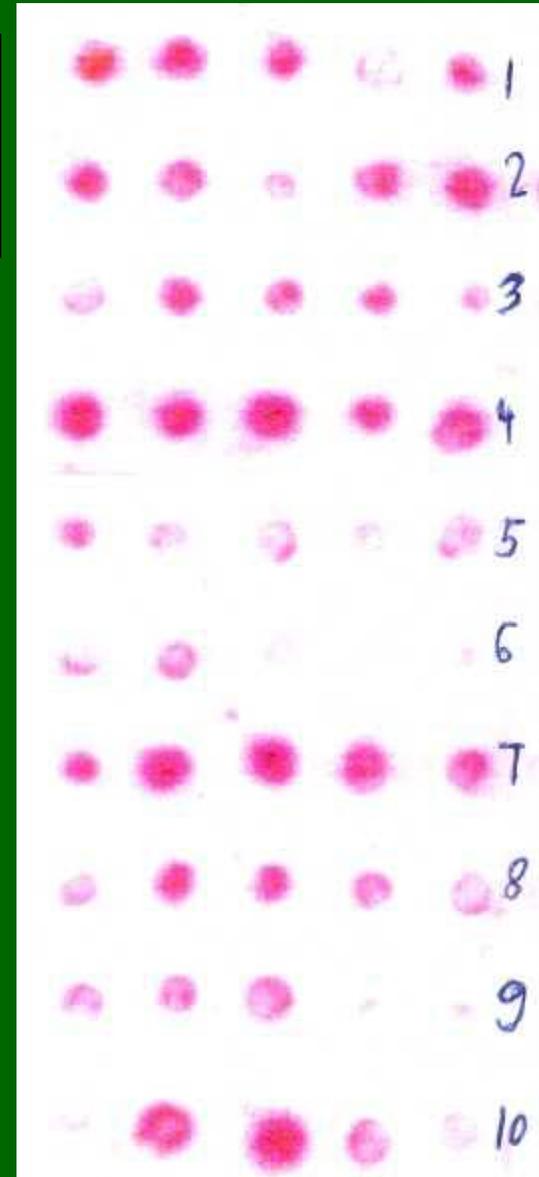
# Thiobarbitursäure-Test für Linolensäure

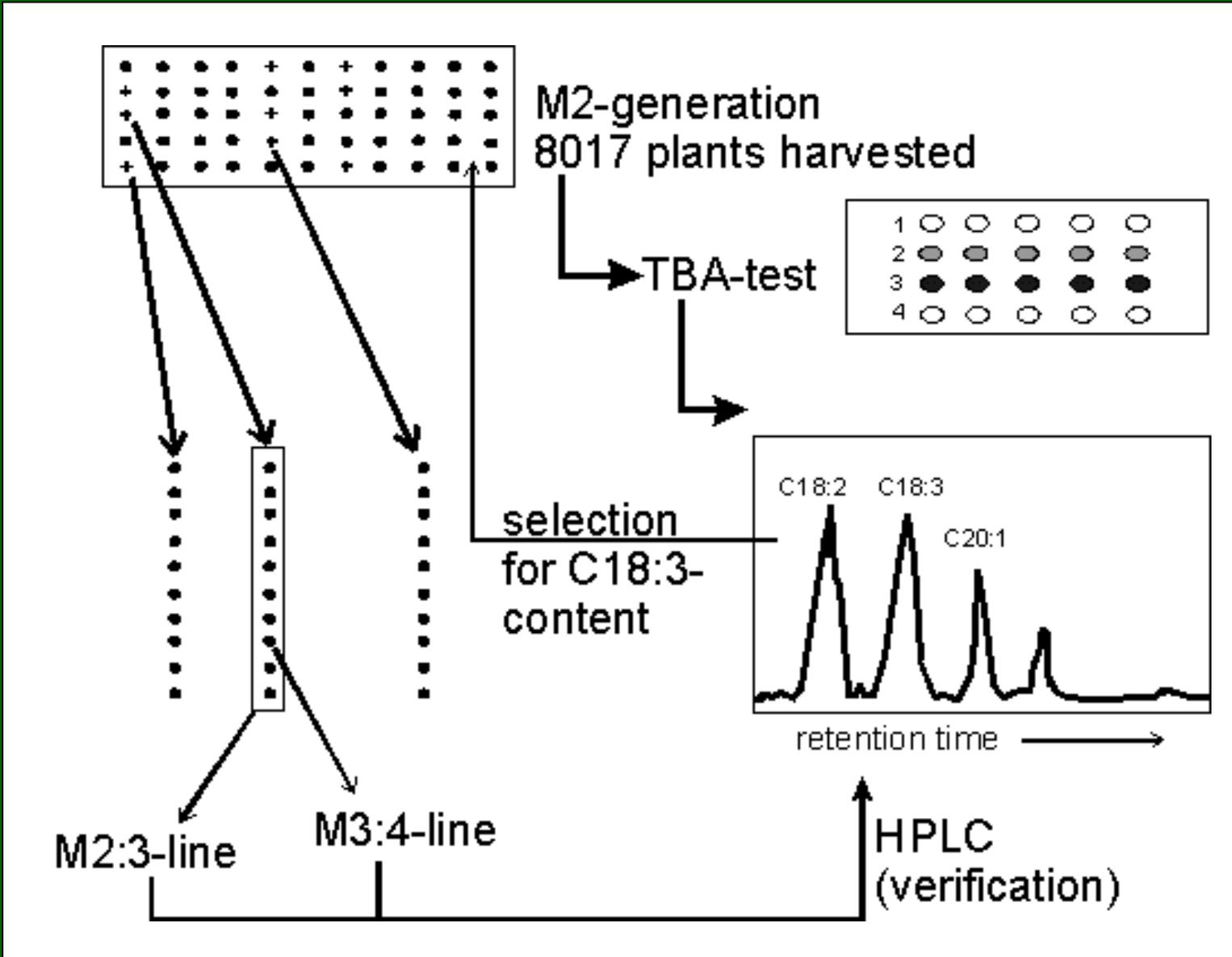


## Test-Prinzip:

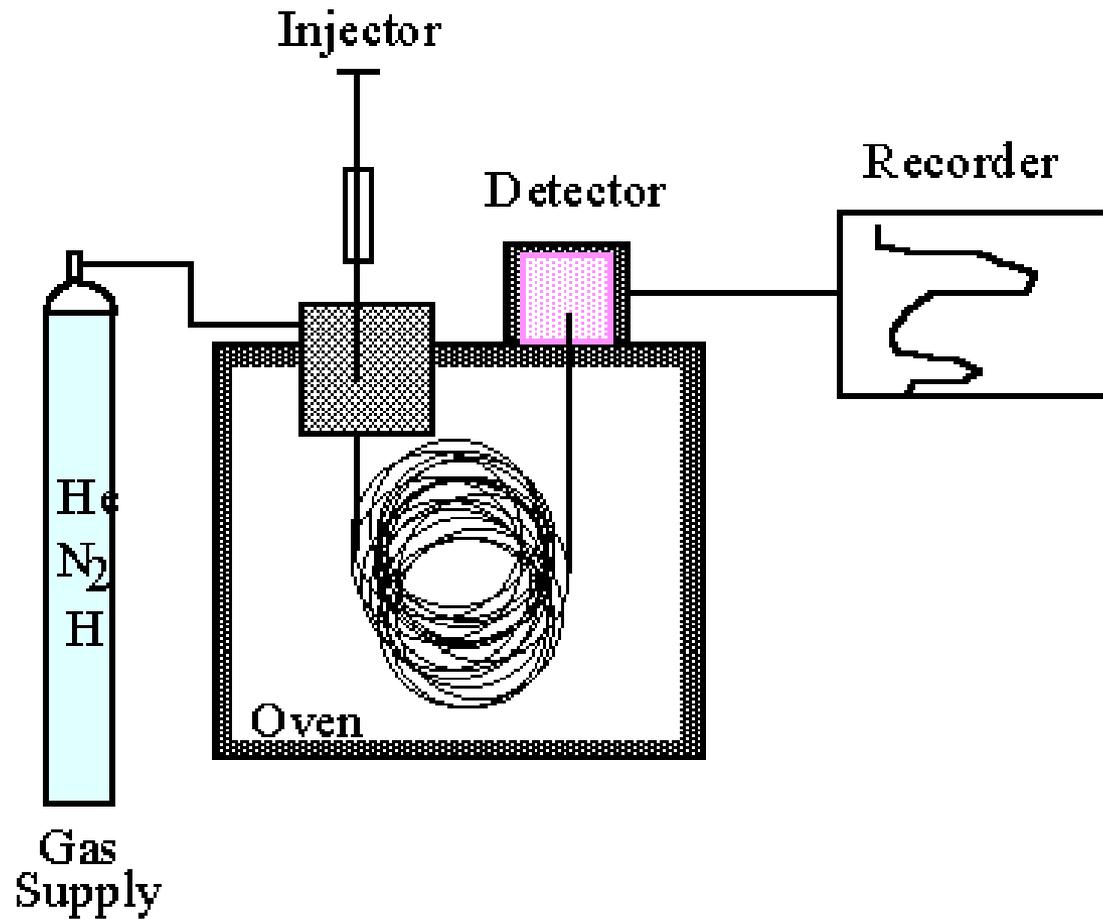
Linolensäure (C18:3) auf Filterpapier durch Säuren und UV-Bestrahlung oxidiert, Thiobarbitursäure (TBA) + oxidierte Linolensäure ergeben einen rot gefärbten Komplex.

**Anwendung:** Selektion auf niedrigen oder hohen Linolensäuregehalt





TBA-Test bei der Mutanten-Selektion auf Linolensäure



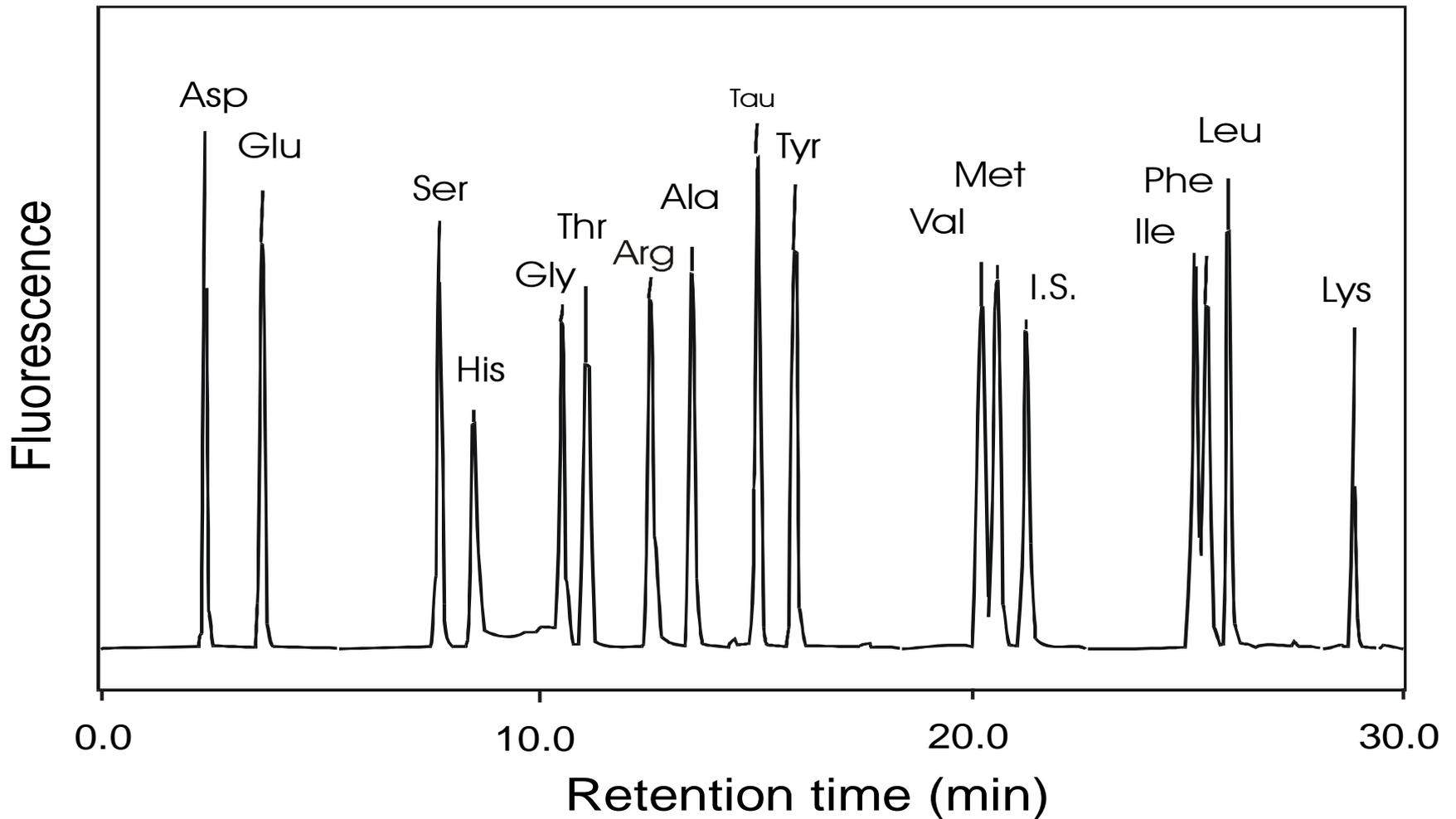
Grundprinzip  
Gaschromatographie

# Proteingehalt (%) versch. Arten

<b>Art</b>	<b>%</b>	<b>Bemerkung</b>
• Sojabohne	35-45	Trypsininhibitoren
• Erbse	22-26	hoher Stärkegehalt
• Fababohne	28-35	Tannine, Mycotoxine
• Lupine	30-50	Alkaloide, Ölgehalt
• Raps	19-26	Glucosinolate
• Sonnenbl.	15-20	
• Lein	18-25	Linamarin (Glycosid)

# Aminosäuren (AS)

- 20 versch. Aminosäuren (AS), genetisch als Basen-Triplets kodiert
- Essentielle Aminosäuren: vom Menschen nicht synthetisiert (Methionin, Lysin, Tryptophan, Leucin, Isoleucin, Phenylalanin, Threonin, Valin)
- Schwefel-hältige AS (Methionin, Cystein) sind wichtig für Backqualität
- AS-Muster: Kennzeichnend für spezifische Proteine (z.B. Getreide - Leguminosen: Methionin - Lysin)
- ...



**HPLC chromatogram:** analysis of amino acids from a hydrolyzed protein

**Retention time:** identification of individual amino acids (qualitative analysis)

**Peak area determination:** quantitative analysis of individual amino acids

# Aminosäurezusammensetzung

- meist wenig genetische Variabilität (Selektion schwierig)
- kein signifikanter Umwelteinfluß
- Getreide: hoch in Schwefel-hält. AS
- Sojabohne: Quelle für Lysin
- Genetische Manipulation des Aspartat-Syntheseweges erhöht Lysinkonzentration (Falco et al., 1995)

*(transparency)*

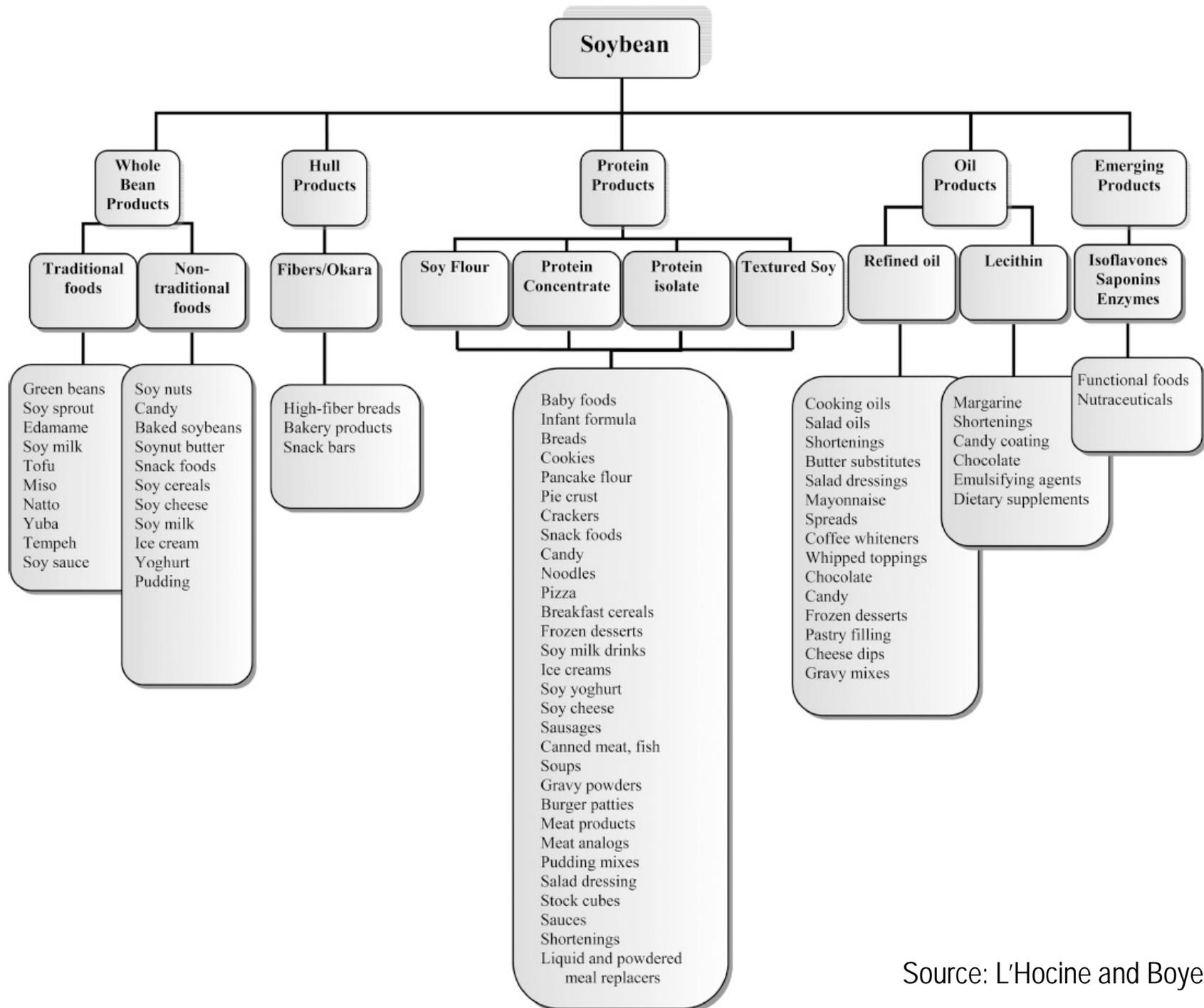
# Leguminosen und ihre ANFs (anti-nutritional factors)

- Tannine
- Proteaseinhibitoren (z.B. Kunitz-Trypsininhibitor)
- Alkaloide (z.B. in Lupinen)
- Oligosaccharide
- Phytate (Phosphorverbindungen)
- Lipxygenase
- Hämagglutinine (Lectin)
- u.v.a.

**Beispiel:**

# **Qualitätsmerkmale der Sojabohne**

- Ölgehalt
- Proteingehalt
- Methioningehalt
- Trypsininhibitoren (Kunitz, Bowman-Birk-TI)
- Nabelfarbe, Samenschalenfarbe
- Oligosaccharide (Raffinose, Stachyose)
- Lipoxygenase-Aktivität (Fettoxidation)
- Linolensäuregehalt u. gesättigte Fettsäuren
- Tocopherolgehalt
- Isoflavongehalt



high protein  
(tofu)



high sucrose  
(edamame, tofu)



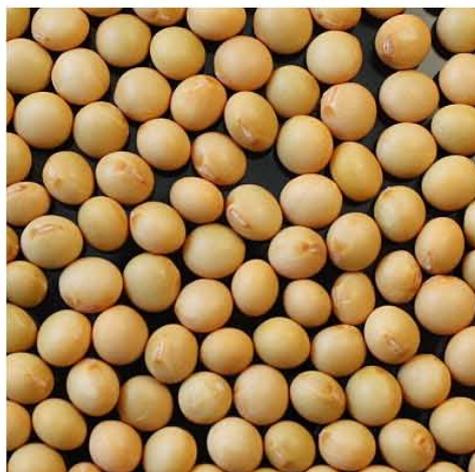
sucrose , flavonoids  
(edamame)



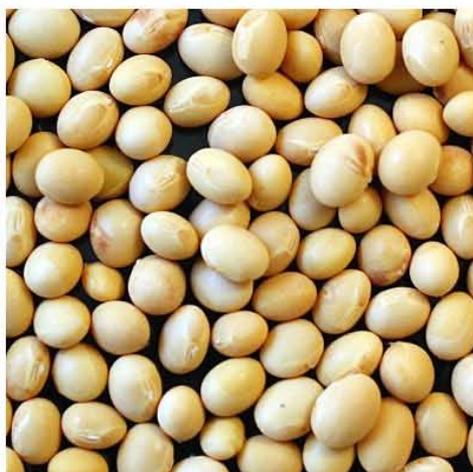
high protein,  
reduced TI  
(animal feedstuff)



high protein (tofu,  
soy drinks)



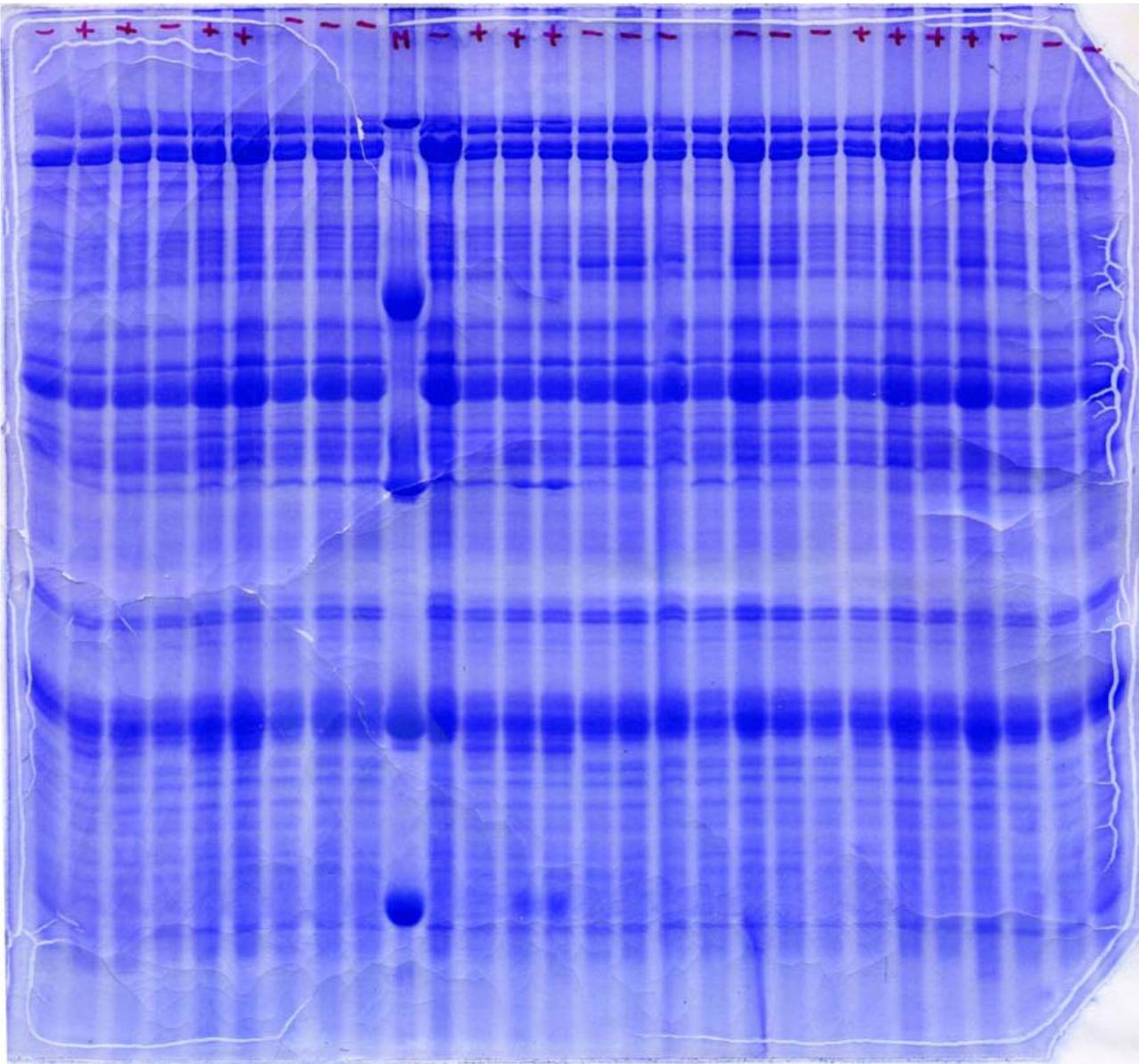
small seed (natto  
fermentation)



conventional (food  
grade)

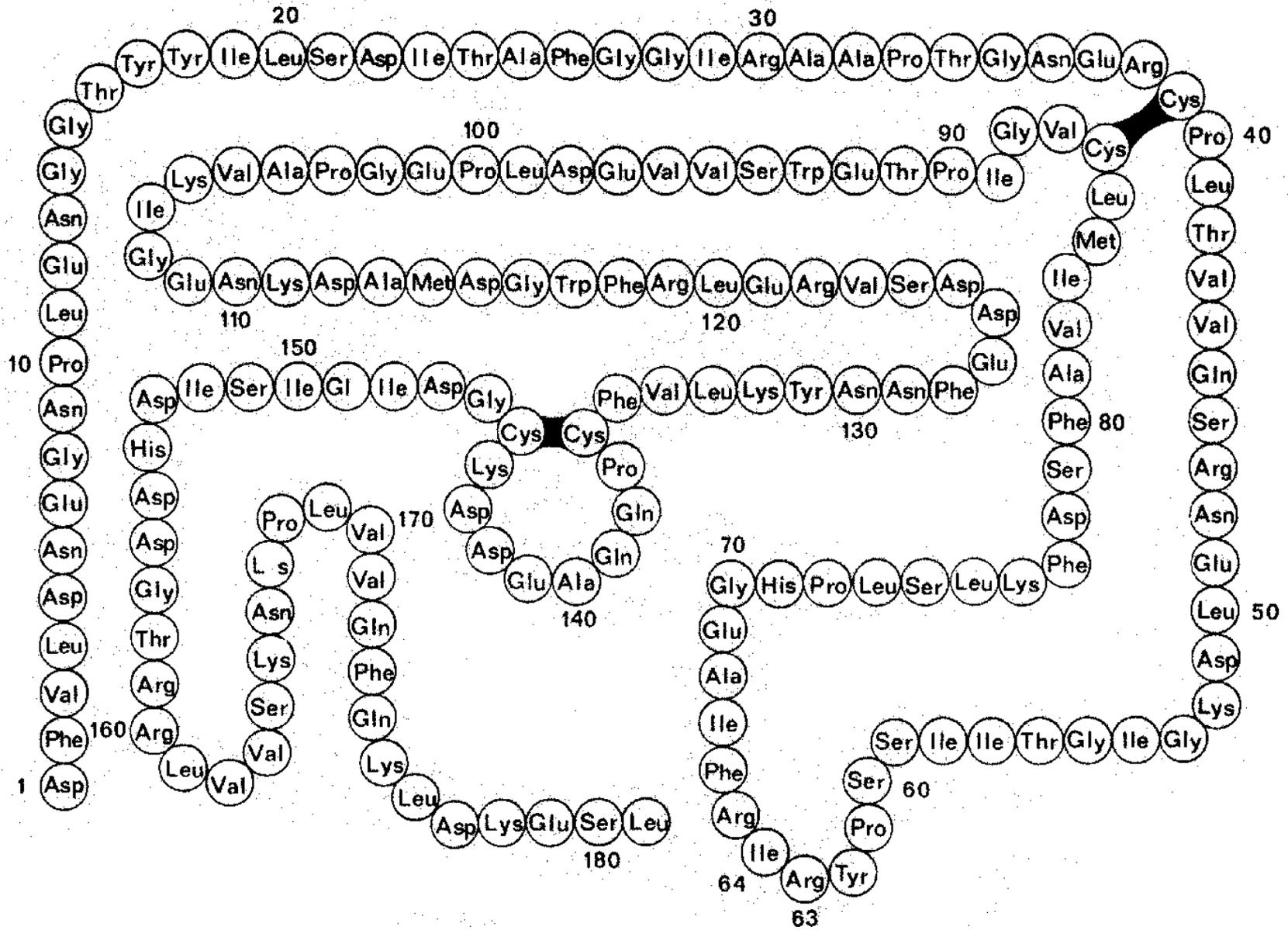


conventional (oil  
extraction, snacks)



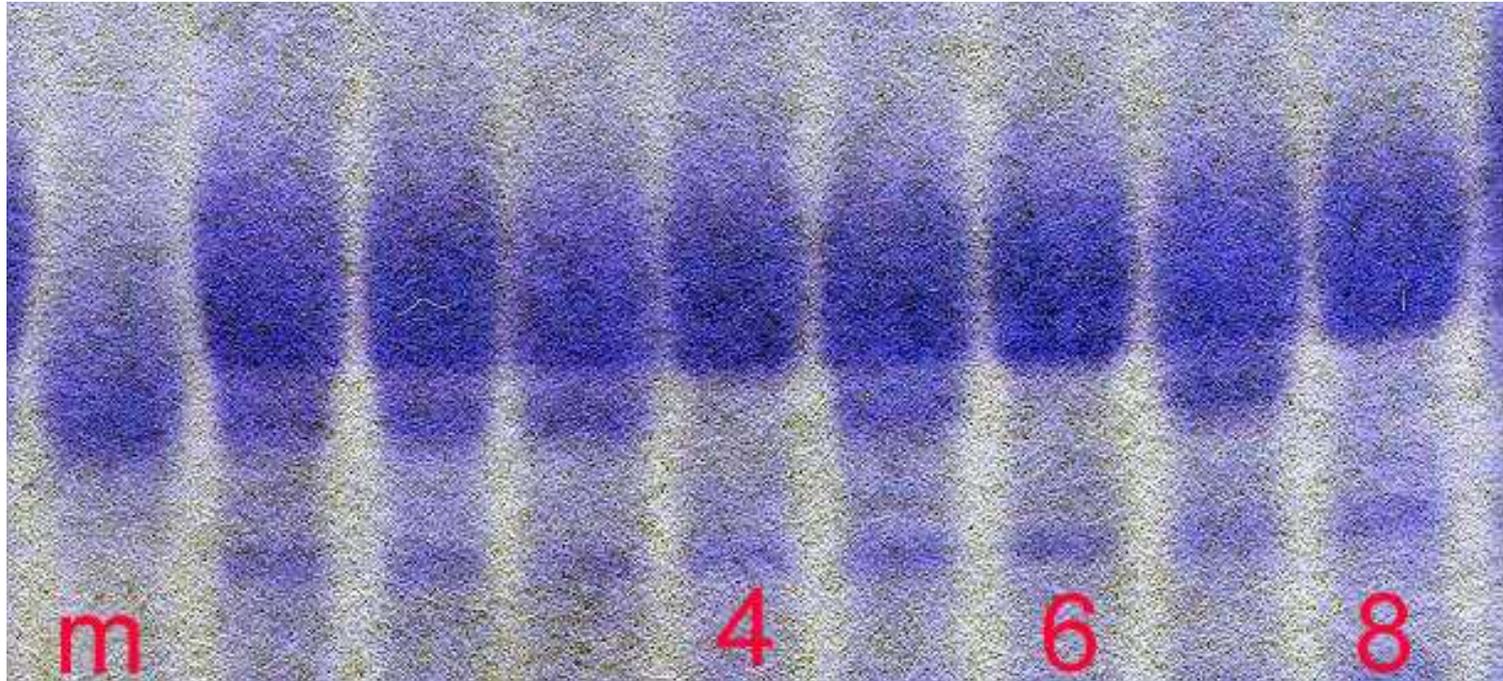
**Sojabohne**

(SDS-PAG – Elektrophorese)



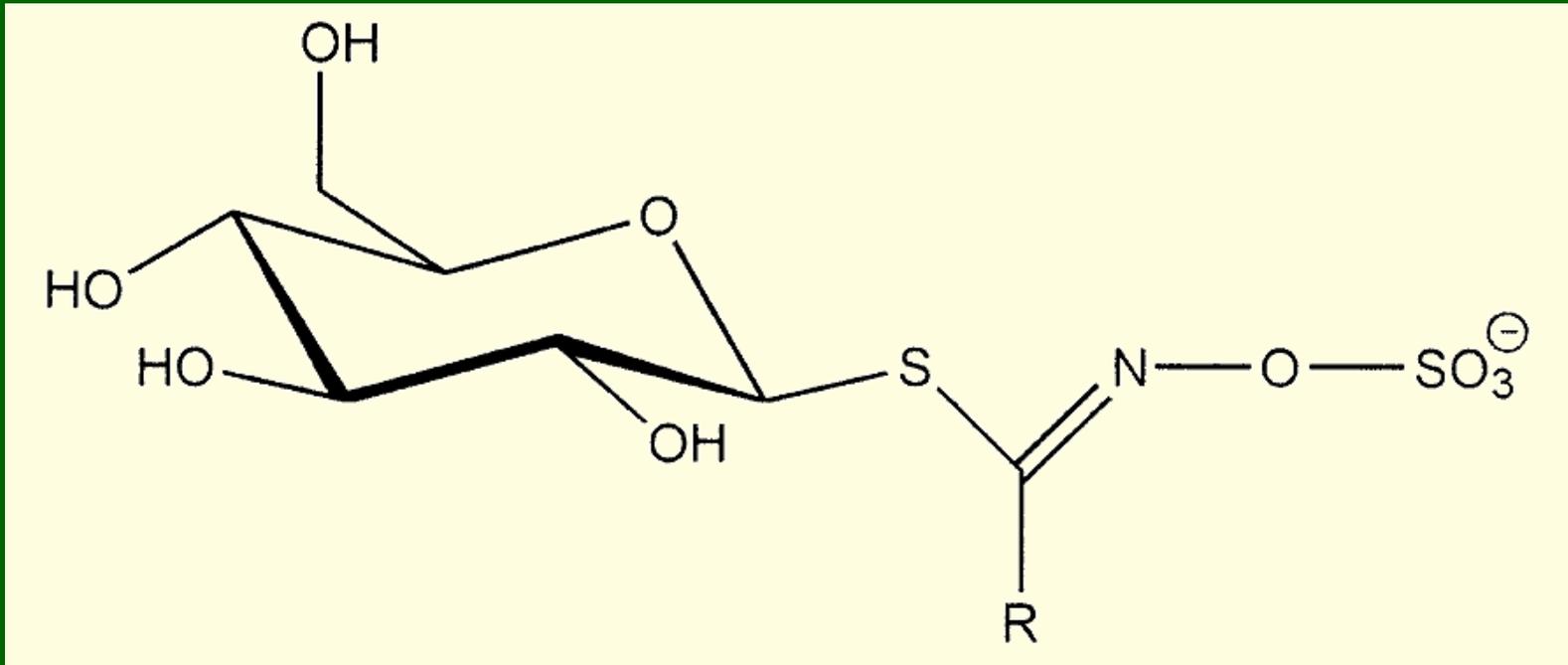
Kunitz-Trypsininhibitor der Sojabohne

# Kunitz-Trypsininhibitor der Sojabohne



Kunitz-Trypsininhibitor in SDS PAGE  
Elektrophorese (21.5 kDa-Protein fehlt in  
Proben 4, 6 und 8)

# Bestimmung des Glukosinolategehaltes



**Glukosinolate:** In allen *Brassicaceae* (“Senföle”)

S-D-Thioglucose, Sulfat-Ester, R = org. Seitenkette.  
116 versch. Glukosinolate aufgrund der Seitenkette.

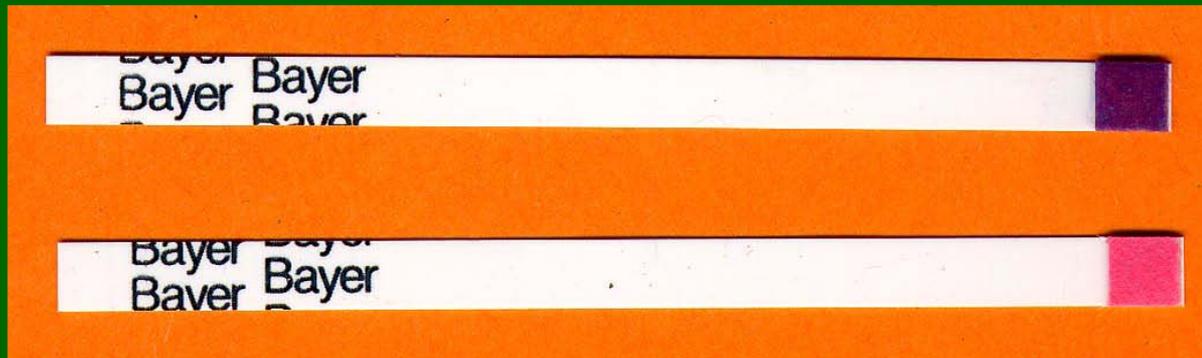
Einige Glukosinolate: toxisch, mutagen, Biozideigenschaften (Bodensterilisation)  
Andere Glukosinolate: gesund (Kohlgemüse).

# Bestimmung des Glukosinolategehaltes

## Methode 2: Bestimmung der Glukose

Glukosinolat durch **Myrosinase** hydrolysiert, **Glukose** mit o-Tolidine (Glukose-Teststreifen) bestimmt

1 Mol Glukose = 1 Mol Glukosinolat



hohe Konzentration

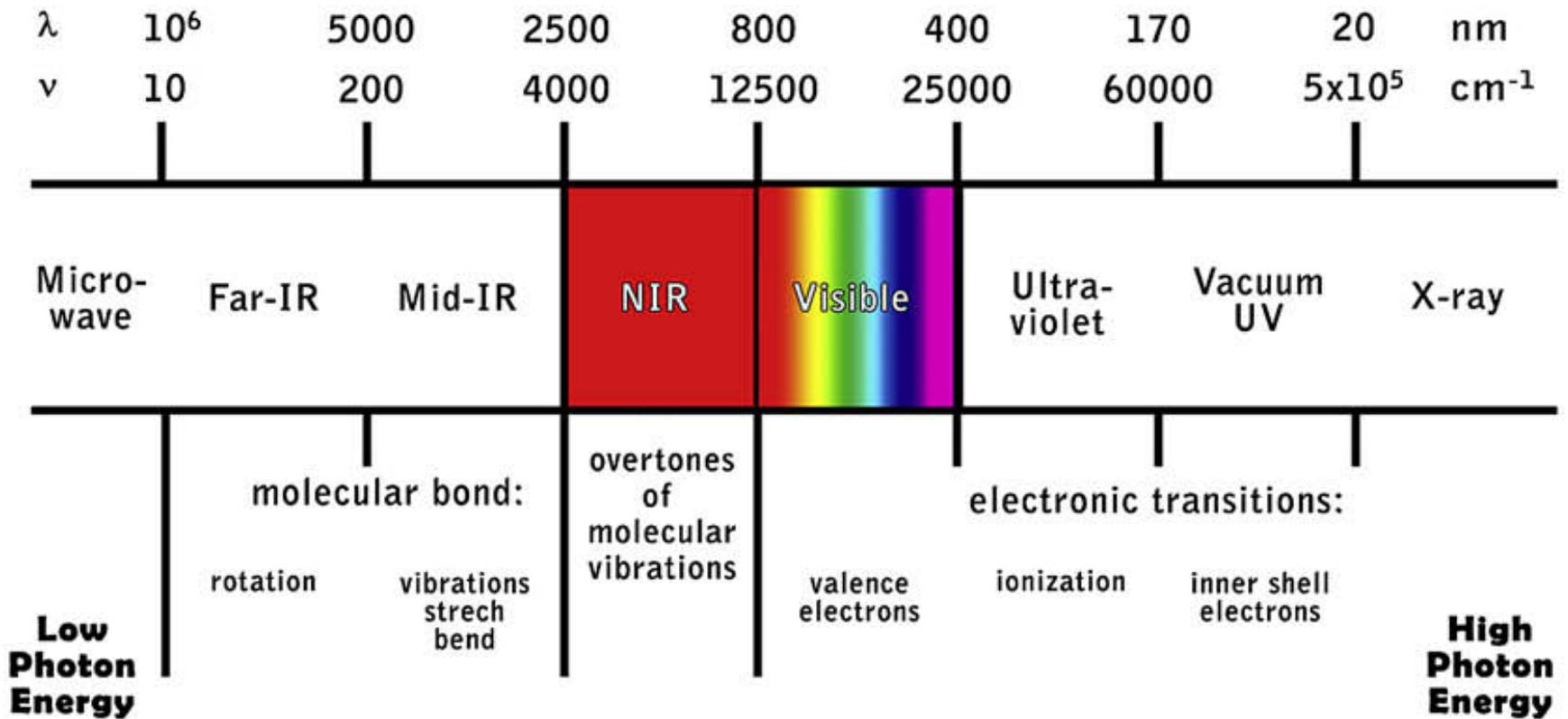
geringe Konz.

# NIRS: Beispiel für eine universelle analytische Methode

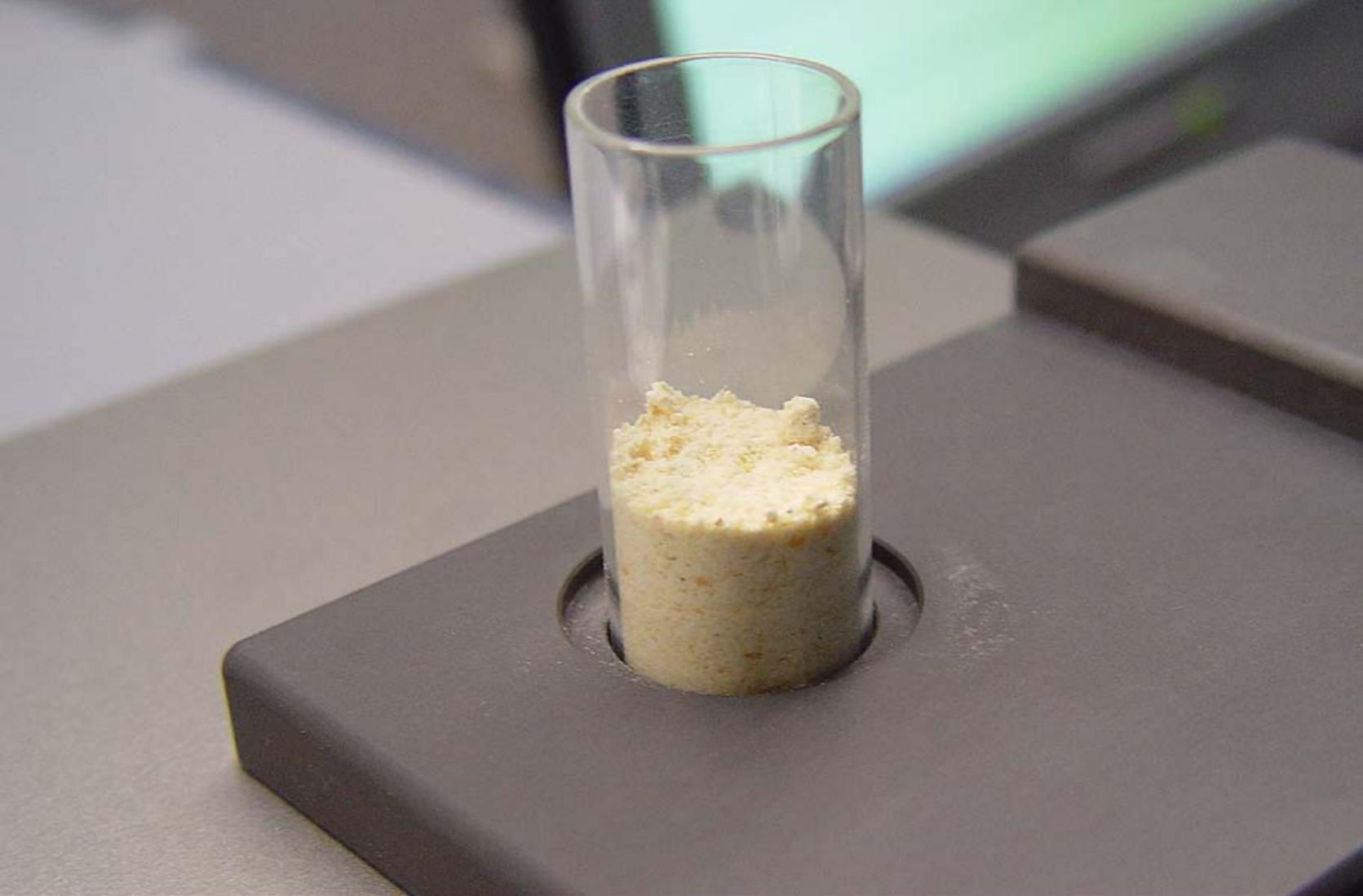
NIRS: Near infrared reflectance spectroscopy

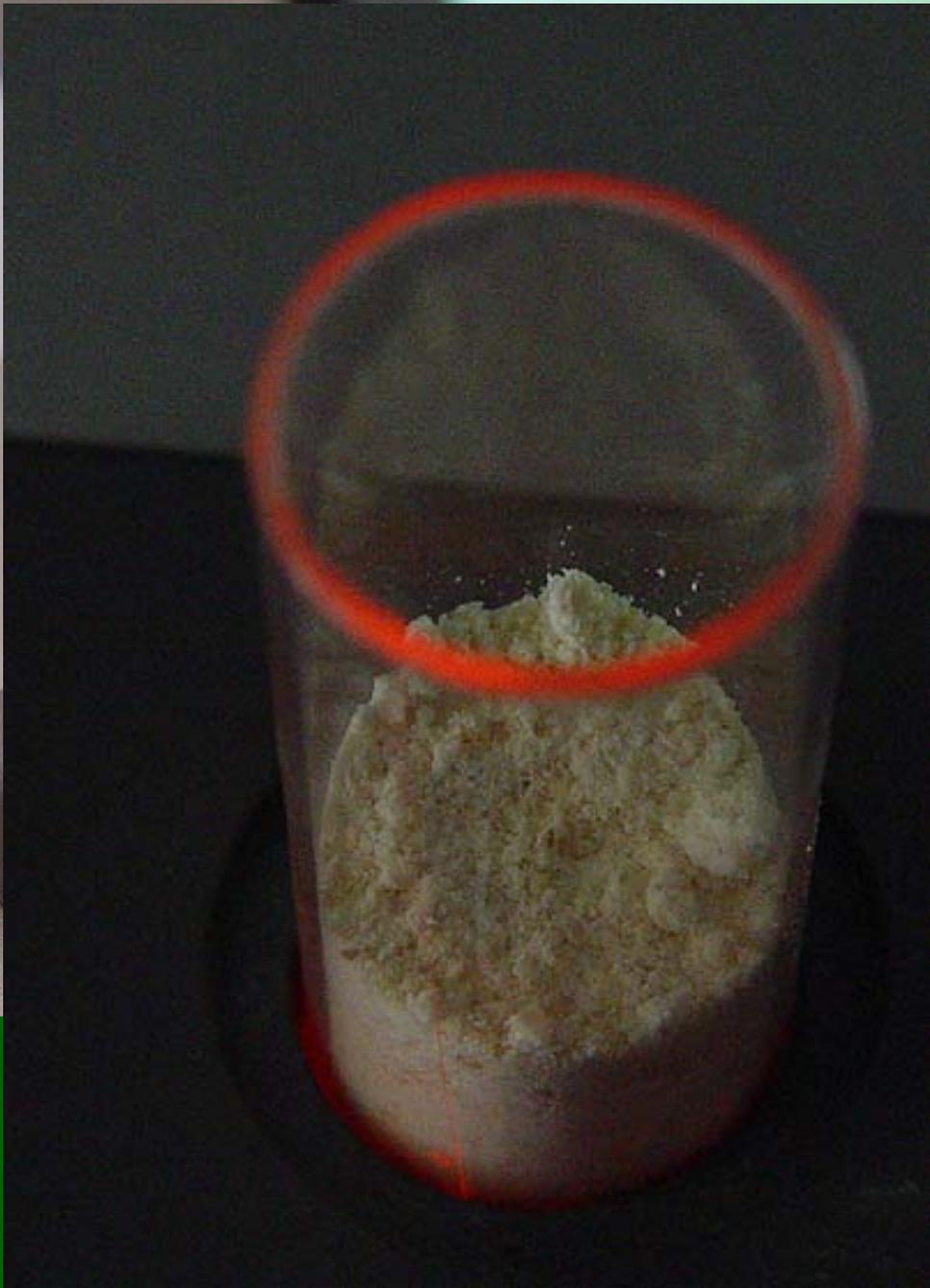
- Prinzip: Reflexion/Absorption im Bereich von 800-2500 nm Wellenlänge, um organische Gruppen einer Probe zu bestimmen
- Kalibration mit bekannten Proben, Validierung der Kalibration
- Messungen (scans) von Probenspektren
- Vorhersage von Inhaltsstoff-Gehalten

# The Electromagnetic Spectrum

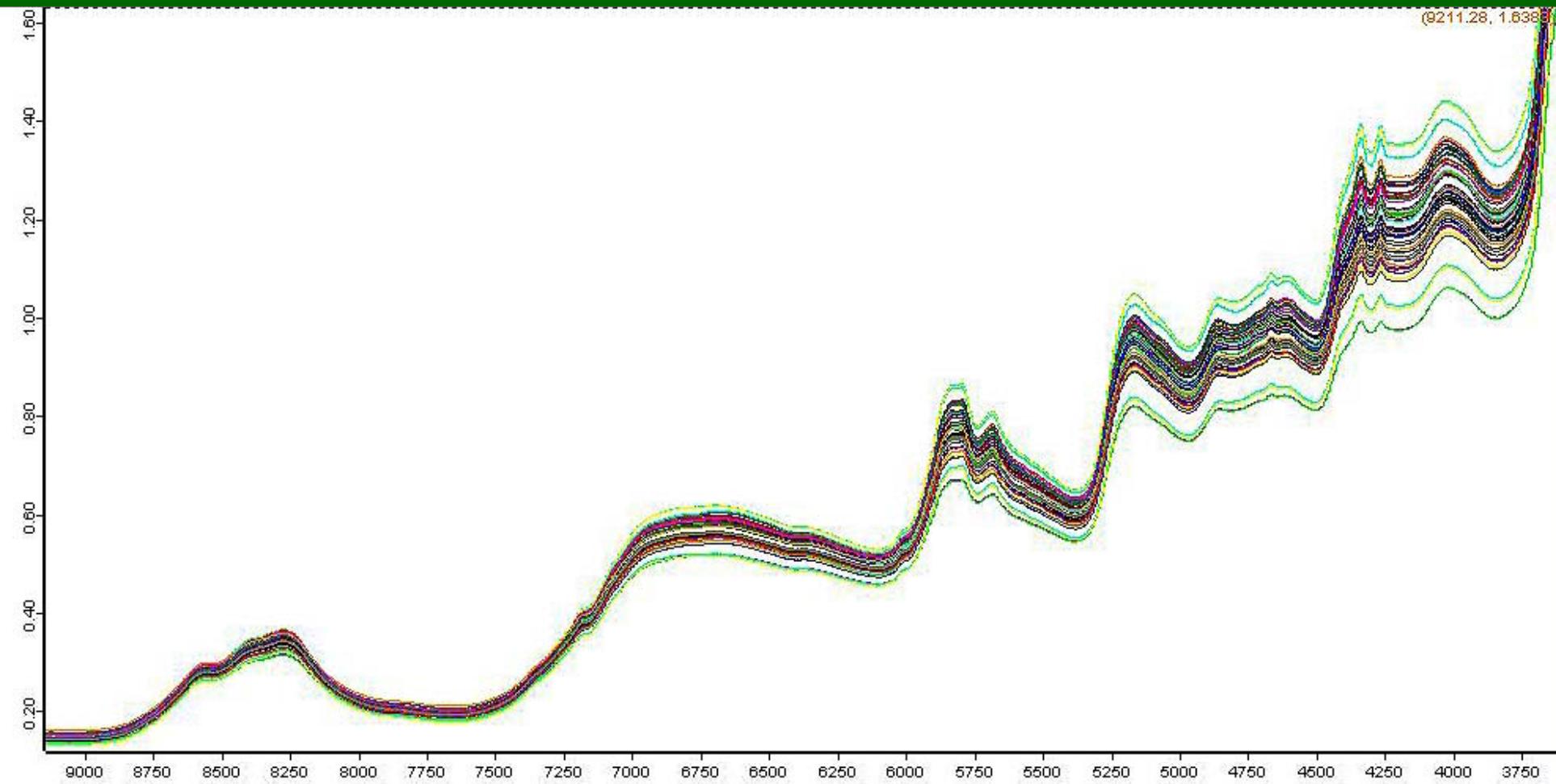


NIRS: 800-2500 nm  
 mid-infrared  
 far-infrared  
 micro-waves





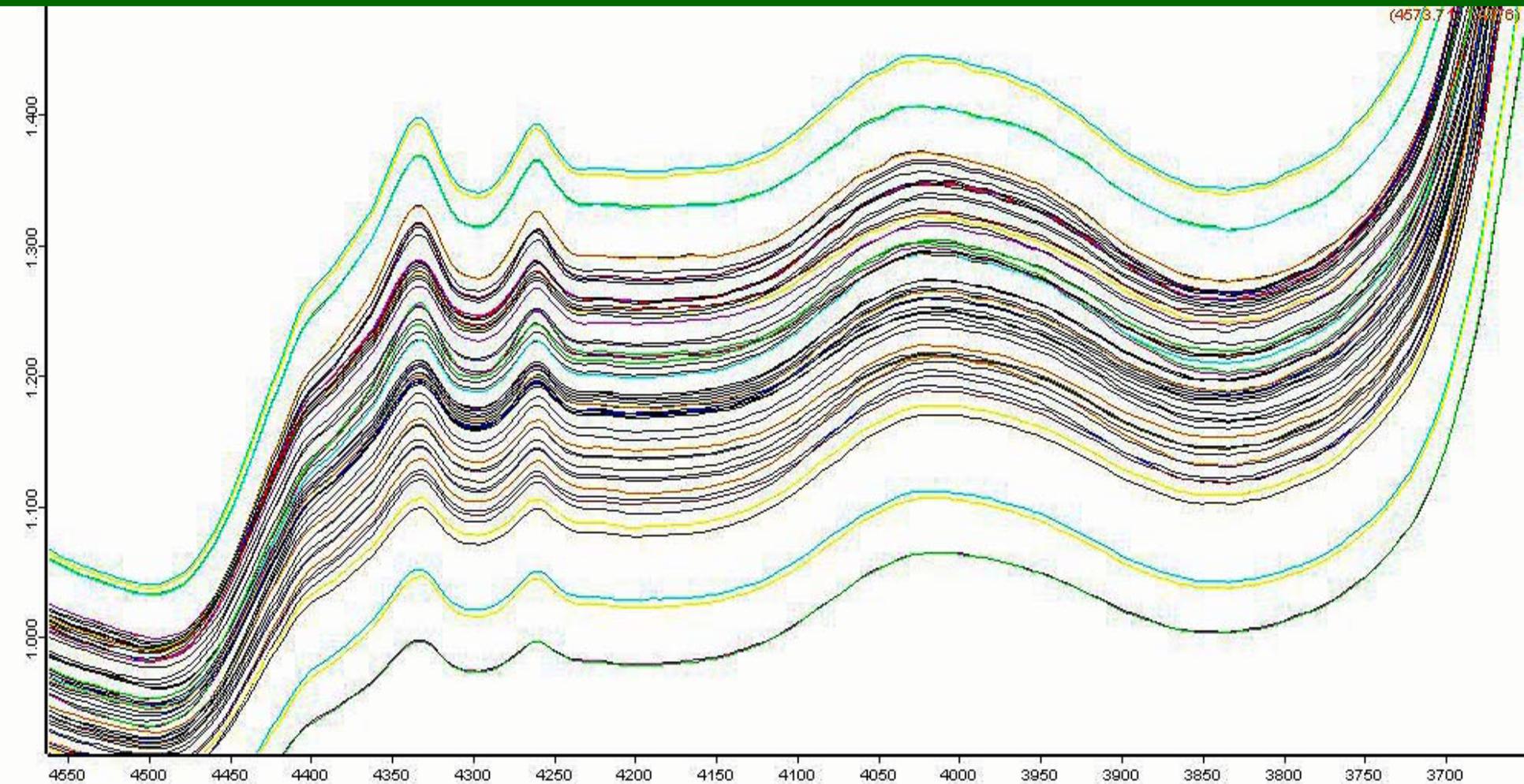
# Absorption



Wellenzahl ( $\text{cm}^{-1}$ )

**NIRS-Spektren**

# Absorption



Wellenzahl ( $\text{cm}^{-1}$ )

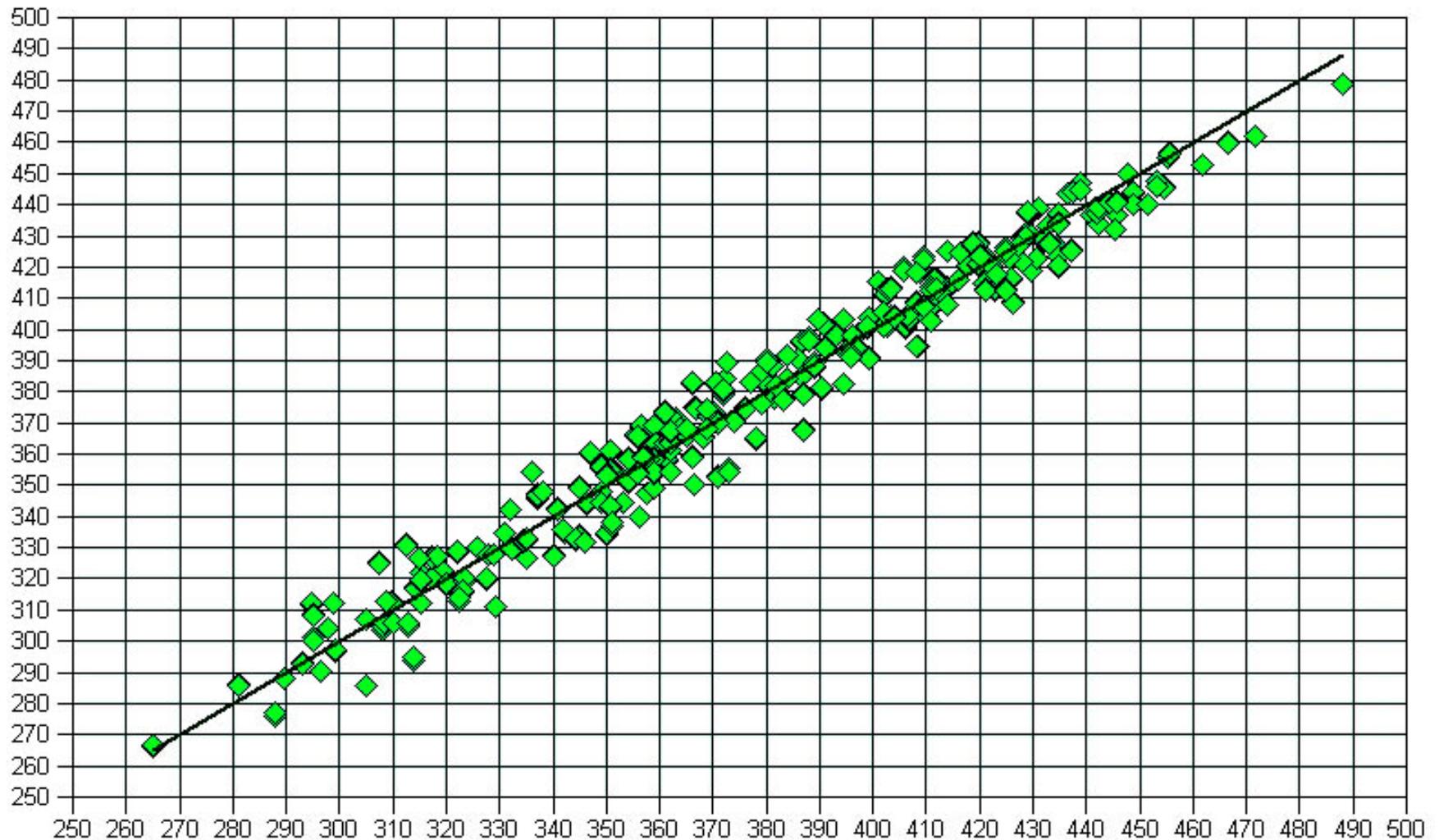
**NIRS-Spektren (Ausschnitte)**

# Beispiele für NIRS-Absorptionsbereiche

<u>Chemical</u>	<u>wavelength (nm)</u>
-CH <sub>3</sub>	1195
water	1450
C=O	1450
urea	1490
-NH	1500
protein	1520
starch	1540
cellulose	1780
water	1790
protein	2055
oil	2070
starch	2100
protein	2180
oil	2310



## Prediction vs True / protein [mg/g] / Cross Validation

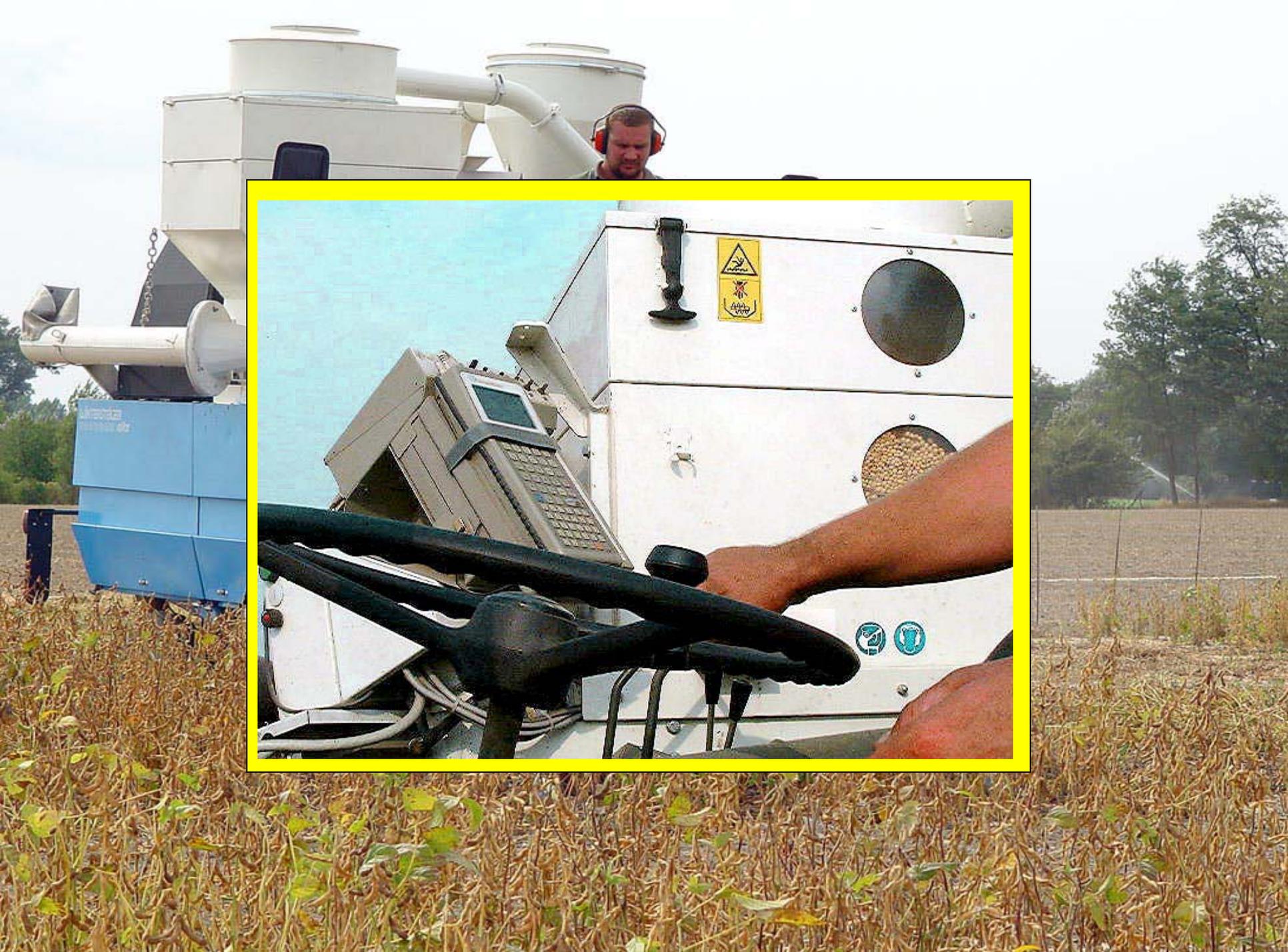


Rank: 9     $R^2 = 96.77$     RMSECV = 8

Sojabohne: Vorhersage des Samen-Proteingehaltes  
(Bruker Matrix I / OPUS Quant validation)



**NIRS auf dem Mähdrescher: Mobile Datenerfassung bei der Ernte**





ZEISS TURNSTEP

Auto 0 I II III

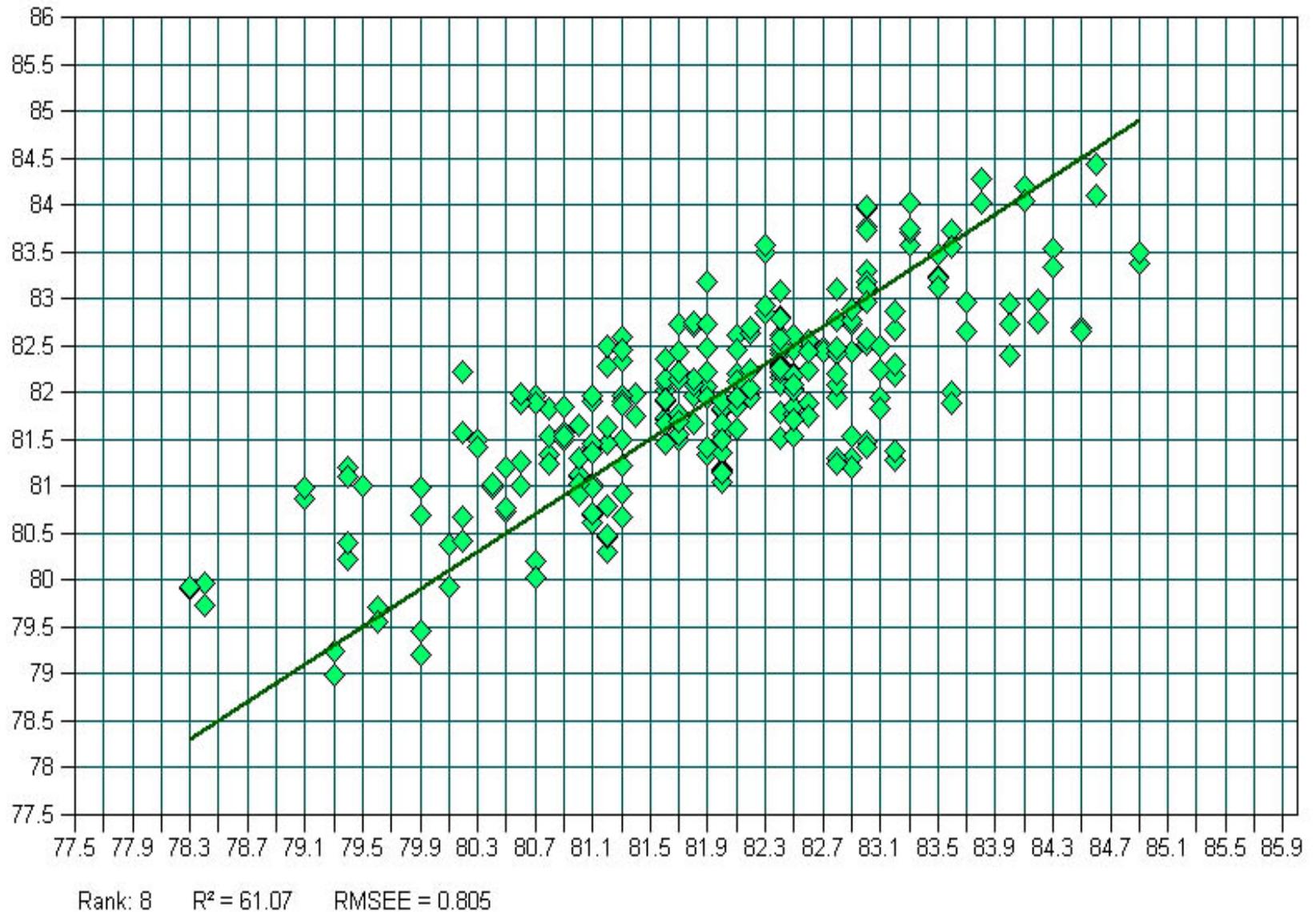
CORONA 45NIR

ZEISS

✓  
300g



Prediction vs True / extrakt [%] / Cross Validation



Vorhersage des Malz-Extraktgehaltes von Braugerste