

Ursachen der Samenschalen- verfärbungen bei Sojabohnen

Masterarbeit

Eingereicht von

Ivan GRGIĆ, Bachelor of Science

Abteilung Pflanzenzüchtung
Department für Nutzpflanzenwissenschaften
Universität für Bodenkultur
Wien

Betreuer
Dr. Johann VOLLMANN

2015

Danksagung

Für das Gelingen bedanke ich mich vor allem bei Dr. Johann Vollmann, Professor an der Universität für Bodenkultur Wien, für die kompetente und fachliche Betreuung.

Ein weiteres Dankeschön spreche ich Herrn DI Andreas Ratzenböck und Herrn Manfred Weinhappel, sowie allen anderen Mitarbeitern vom Institut für Saat- und Pflanzgut der Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit aus, welche mich bei meinen Untersuchungen unterstützt haben.

Ich bedanke mich bei meinen Eltern welche mich während meines gesamten Studiums unterstützt haben und mir dieses Studium ermöglicht haben.

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	3
TABELLENVERZEICHNIS	4
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	4
ABSTRACT (ENGLISH)	6
ABSTRACT (DEUTSCH)	7
1. EINLEITUNG	8
1.1 ALLGEMEINES ZUR SOJABOHN	8
1.2 SOJA ALS LEBENSMITTEL	10
1.3 SAMENSCHALENVERFÄRBUNGEN BEI SOJABOHNEN	12
2. FRAGESTELLUNG	14
2.1 EXPERIMENTE UND FORSCHUNGSFRAGEN	14
3. MATERIAL UND METHODEN	15
3.1 EXPERIMENT 1 (GPX - SATO)	15
3.2 EXPERIMENT 2 (AGES - RÜCKSTELLMUSTER)	18
3.3 EXPERIMENT 3 (PROTEINSCREENING2)	19
3.4 STATISTIK	20
4. ERGEBNISSE	20
4.1 EXPERIMENT 1 (GPX - SATO)	20
4.2 EXPERIMENT 2 (AGES - RÜCKSTELLMUSTER)	23
4.2.1 TAUSENDKORNGEWICHT.....	25
4.2.2 KEIMFÄHIGKEIT.....	26
4.3 EXPERIMENT 3 (PROTEINSCREENING 2)	27
5. DISKUSSION	33
5.1 EXPERIMENT 1 (GPX - SATO)	33
5.2 EXPERIMENT 2 (AGES - RÜCKSTELLMUSTER)	34
5.3 EXPERIMENT 3 (PROTEINSCREENING2)	35
6. SCHLUSSFOLGERUNG	36
ZUSAMMENFASSUNG	37
7. LITERATURÜBERSICHT	38

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: SOJABOHNENPRODUKTION IN EUROPA (FAOSTAT, 2014)	9
TABELLE 2:ÜBERSICHT ÜBER DIE KREUZUNGSSELTERN, DEREN REIFEGRUPPE UND HERKUNFT, DES EXPERIMENTS GPX-SATO; VERÄNDERT NACH VAN SCHOOTE 2012	15
TABELLE 3: ÜBERSICHT ÜBER DIE ELTERN DER EINZELNEN KREUZUNGEN DES GPX-SATO EXPERIMENTS	16
TABELLE 4: GENOTYPEN DES EXPERIMENTS 3 (PROTEINSCREENING2)	19
TABELLE 5: ERGEBNISSE DER MEHRFAKTORIELLEN VARIANZANALYSE	21
TABELLE 6: DURCHSCHNITTLICHE BONITURWERTE ÜBER DIE EINZELNEN JAHRE UND KREUZUNGEN(LSMEANS)	21
TABELLE 7: 25 HÖCHST UND NIEDRIGST BEWERTETE GENOTYPEN	22
TABELLE 8: ERGEBNISSE DER VARIANZANALYSE	23
TABELLE 9: DARSTELLUNG DER DURCHSCHNITTLICHEN BONITUR DER UNTERSUCHTEN 35 SORTEN	24
TABELLE 10: TAUSENDKORNGEWICHT VON VERFÄRBTEN UND NICHT VERFÄRBTEN KÖRNERN	25
TABELLE 11: KEIMFÄHIGKEITSERGEBNISSE IN % VON VERFÄRBTEN BZW. NICHT VERFÄRBTEN SAMEN INNERHALB EINZELNER PROBEN	26
TABELLE 12: ERGEBNISSE DER VARIANZANALYSE	28
TABELLE 13: DURCHSCHNITTLICHE BONITURWERTE DER SAMENSCHALENVERFÄRBUNG IN DEN EINZELNEN JAHREN	28
TABELLE 14: KORRELATION DES MONATSMITTELS (MAI-SEPTEMBER) MIT DER SAMENSCHALENVERFÄRBUNG	30
TABELLE 15: DURCHSCHNITTLICHE BONITURWERTE DER SAMENSCHALENVERFÄRBUNG DER 50 GENOTYPEN ÜBER 8 JAHRE	31

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: VERWENDUNGSMÖGLICHKEITEN VON SOJABOHNEN IN DER HUMANERNÄHRUNG, ÜBERNOMMEN AUS L'HOCINE UND BOYE, 2007	11
ABBILDUNG 2: AUFSCHLÜSSELUNG DES BONITURSCHEMAS	17
ABBILDUNG 3: BOXPLOTDARSTELLUNG DER BONITUREN ÜBER DIE 4 KREUZUNGEN	22
ABBILDUNG 4: HÄUFIGKEIT DER BONITURKLASSEN	23

<u>ABBILDUNG 5: HÄUFIGKEIT DER BONITURKLASSEN.....</u>	<u>25</u>
<u>ABBILDUNG 6: KEIMFÄHIGKEITSERGEBNISSE ZWISCHEN VERFÄRBTEN UND NICHT VERFÄRBTEN SAMEN EINER PROBE</u>	<u>26</u>
<u>ABBILDUNG 7: VERGLEICH DER KEIMFÄHIGKEITEN DER EINZELNEN PROBEN AUS 2012 UND 2014.....</u>	<u>27</u>
<u>ABBILDUNG 8: EINFLUSS DES JULIMITTELS AUF DIE SAMENVERFÄRBUNG IN 8 VERSUCHSJAHREN.....</u>	<u>29</u>
<u>ABBILDUNG 9: KORRELATION DER GLEITENDEN MITTELWERTE (TAG 0 = 15. JUNI).....</u>	<u>31</u>

Abstract (english)

Seed coat pigmentation in soybean is promoted by low temperatures during the flowering time in the begin of July. These seed coat pigmentations are not favoured in processing of food grade soybeans, because the brown layers in the seed coat turns the colour of tofu and other products from white to yellow-brown. The aim of the study was to find seed coat pigmentation tolerant genotypes for breeding cold tolerant soybean cultivars, adapted to Central European climate. A set of soybean genotypes from three independent experiments was rated on seed coat coloration. A germination test was done to identify potential variations of soybeans with and without pigmentation. 1 corresponds for no pigmentation, 9 for pigmentation covers more than 90% of the seed. The rating for experiment 1 (200 genotypes from 4 crosses) generate these results. The mean rating varied in a range from 2.2 (cross 4) - 3.61 (cross 2) and was significantly affected by seasonal and genetic effects. Experiment 2 (35 varieties grown in Austria) brought significant difference between the varieties (mean rates 1-8) and a significant higher germination rate (+1-9%) of discoloured seeds. Differences in the thousand-seed weight of discoloured and non-discoloured seeds are not found. In experiment 3 (50 genotypes) a correlation between temperature in July and September and seed coat discoloration was proved. In July there was a negative correlation ($r = -0,91$) and in September a positive correlation ($r = 0,656$) appeared. The influence of temperature on seed coat pigmentation was significant. Seed coat pigmentation is not a difficult issue for soybean breeders because enough genotypes exist who are not sensitive for this phenomena. These genotypes can be used for breeding new cold tolerant varieties for Central Europe.

Abstract (deutsch)

Samenschalenverfärbungen bei Sojabohnen werden durch niedrige Temperaturen während der Blüte Anfang Juli gefördert. Diese Samenschalenverfärbungen werden von den Verarbeitern von Speisesojabohnen nicht gewünscht, da sie den Farbton von Tofu und anderen Sojaprodukten von weiß zu gelbbraun verändern. Das Ziel dieser Studie war es, Samenschalenverfärbungstolerante Genotypen für die Züchtung von kältetoleranten Sojabohnensorten, die an das mitteleuropäische Klima angepasst sind, zu finden. Eine Reihe von Soja-Genotypen aus drei unabhängigen Experimenten wurde auf Samenschalenverfärbungen untersucht und mit einer Bonitur von 1-9 beurteilt. 1 entspricht keiner Verfärbung und 9 steht für Verfärbungen umfassen mehr als 90% des Samens. Ein Keimfähigkeitstest wurde durchgeführt, um mögliche Unterschiede in der Keimfähigkeit von Sojabohnen mit und ohne Verfärbungen der Samenschale festzustellen. Die Bonitur für Experiment 1 (200 Genotypen von 4 Kreuzungen) brachte diese Ergebnisse. Die durchschnittliche Bonitur liegt in einem Bereich von 2,2 (Kreuzung 4) - 3,61 (Kreuzung 2) und wurde von Jahr und Genotyp beeinflusst. Experiment 2 (35 Sorten angebaut in Österreich) brachte signifikante Unterschiede zwischen den Sorten (mittlere Bonituren 1-8) und eine signifikant höhere Keimrate (+ 9.1%) der verfärbten Samen. Unterschiede im Tausendkorngewicht von verfärbten und nicht verfärbt Samen wurden nicht gefunden. In Experiment 3 (50 Genotypen) konnte eine Korrelation zwischen Temperatur im Juli und September und der Samenschalenverfärbung nachgewiesen werden. Im Juli gab es eine negative Korrelation ($r = -0,91$) und im September eine positive Korrelation ($r = 0.656$) Der Einfluss der Temperatur auf die Samenschalenverfärbungen war signifikant. Samenschalenverfärbungen sind aber keine große Herausforderung für Sojabohnenzüchter, da genug Genotypen vorhanden sind, die nicht empfindlich für diese Phänomen sind. Diese Genotypen können für die Züchtung neuer kältetoleranter Sorten für Mitteleuropa verwendet werde

1. Einleitung

1.1 Allgemeines zur Sojabohne

Die Sojabohne [*Glycine max* (L.) Merrill] ist eine wichtige Kulturpflanze aus der Familie der Leguminosen (Hülsenfrüchtler) und steht mit den Bakterienstämmen *Rhizobium* und *Bradyrhizobium* in Symbiose, über die sich die Pflanze mit Stickstoff versorgt (vgl. Burton et al., 2006). Soja ist eine einjährige, borstig behaarte, strauchige Pflanze und besitzt dreifiedrige Blätter mit eiförmigen Blättchen. Aus den Achseln der Blätter entspringen Büschel von kleinen, unauffälligen, lilafarbenen oder weißen Schmetterlingsblüten. Nach Selbstbestäubung wachsen kurze, in reifem Zustand braungelb behaarte Hülsen mit 3-4 rundlich-ovalen, weißen, gelben oder braunen Samen heran (Lieberei und Reisdorff, 2007). Soja stammt aus China und wurde um 1500 vor Christus domestiziert. Nach Europa kam die Sojabohne erst im 19. Jahrhundert, hier bildeten die Anbauversuche von Professor Haberlandt im Jahr 1875 an mehreren Orten in Österreich-Ungarn die Grundlage des europäischen Sojabohnenanbaus (Ruckenbauer, 2008). Von da an entwickelte sich die Sojabohne zu einer weltweit bedeutenden Nutzpflanze, welche 2013 auf 111 Millionen Hektar angebaut wurde und eine Gesamtproduktion von 276 Millionen Tonnen erreichte (FAOSTAT, 2014). Zu den weltweit größten Anbauländern gehören die USA, Brasilien und Argentinien. Der Grund für die große Beliebtheit der Sojabohne liegt in ihren Inhaltsstoffen, da Soja 20% Öl und bis zu 40% sehr hochwertiges, dem tierischen im Aminosäurenmuster sehr ähnliches Protein, enthält (Vollmann, 2006). Daher wird die Sojabohne zu einer Vielzahl an Produkten (Speiseöl, Tofu, Futtermittel etc.), welche in Human- und Tierernährung und in der Industrie Verwendung finden, verarbeitet. Auch in Europa gewinnt diese wertvolle Frucht immer mehr an Bedeutung, wie aus den Daten in Tabelle 1 hervorgeht.

Tabelle 1: Sojabohnenproduktion in Europa (FAOSTAT, 2014)

Sojabohnenproduktion (FAOSTAT 2014)		Anbaufläche in Hektar							
Land	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Albanien	400	200	200	300	300	300	324	300	100
Österreich	21429	25013	20183	18419	25321	34378	38123	37126	42027
Bosnien-Herzegowina	5510	6355	5416	4187	3802	4037	3884	5325	4474
Bulgarien	271,6	88	113	134	414	725	588	248	300
Kroatien	48211	62810	46506	35789	44292	56456	58896	54000	47156
Tschechien	9261	9640	7523	4339	6046	9500	7584	5742	6507
Frankreich	57385	45263	32551	21771	42824	49736	41571	37367	42999
Deutschland		1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Griechenland	2000	2000	2000	2000	2000	1900	2000	2000	2000
Ungarn	33636	35911	32900	28259	31508	37688	41009	40912	43200
Italien	152331	177909	130335	107795	134700	159500	165955	153000	134700
Polen	296	294	332	67	127	181	208	855	
Moldawien	36222	55710	50471	30470	44016	58229	57662	56893	39396
Rumänien	130752	177481	109314	46135	48249	63424	71861	77927	67409
Russland	655840	810130	709900	712460	794200	1036300	1187400	1375200	1202900
Serbien	130936	156680	146988	143684	144386	170359	165253	162714	159724
Slowakei	10663	12036	7795	5408	9286	13976	19667	21889	29218
Slowenien	172	226	126	49	66	109	107	140	278
Spanien	1123	630	344	251	1247	766	700	500	500
Schweiz	1518	1153	998	997	1108	1087	1123	1085	1409
FYROM – Mazedonien	200	600	300	100	118	306	528	332	97
Ukraine	421700	714800	583100	537900	622500	1036700	1110300	1412400	1351030
Europa: Gesamtanbaufläche (ha)	1719860	2295930	1888400	1701510	1957510	2736660	2975740	3446960	3176420
Europa: durchschnittsertrag (kg/ha)	1782	1572	1368	1611	1714	1749	1947	1601	1871
Europa: Gesamtproduktion (Tonnen)	3064910	3610010	2583790	2742540	3357020	4788550	5796720	5518630	5943210

In Europa wurden im Jahr 2013 3.176.420 ha Sojabohnen angebaut. Die führenden Anbauländer sind die Ukraine (1.351.030ha), Russland (1.202.900ha), Serbien (159.724ha), Italien (134.700ha) und Rumänien (67.409ha). In der FAOSTAT Tabelle (Tab. 1) sind die 10 größten europäischen Anbauländer fett hervorgehoben. Innerhalb der EU sind Italien, Rumänien, Kroatien (47.156ha), Ungarn (43.200ha) und Frankreich (42.999ha) die Staaten mit den größten Anbauflächen. Österreich ist mit 42.027ha in Europa an neunter Stelle und innerhalb der Europäischen Union auf Platz sechs. Wie weiter aus der Tabelle 1 hervorgeht, steigen die Flächen unter Sojabohnen europaweit gesehen, sodass die Gesamtproduktion im Zeitraum 2005 bis 2013 beinahe verdoppelt werden konnte. Dies ist jedoch nur auf die gestiegenen Anbauflächen zurückzuführen, da sich der europaweite Durchschnittsertrag im besagten Zeitraum auf einem niedrigen Niveau von 1368 bis 1947kg/ha bewegte.

In Österreich sind 50 Sorten aus den Reifegruppen 00 und 000 in der beschreibenden Sortenliste eingetragen (*Bundesamt für Ernährungssicherheit, 2014*). International werden Sojasorten in 13 Reifegruppen von 000 (sehr frühreif) bis X (tropisch) eingeteilt. Da Soja eine Kurztagpflanze ist, steht ihre Reife stark unter dem Einfluss des Photoperiodismus. Sorten der Reifegruppen VIII, IX, X werden nur im tropischen Südamerika kultiviert. In Europa werden die Reifegruppen 000, 00, 0, I und II angebaut (*Vrataric & Sudaric, 2008*). Im Jahr 2013 wurden in Österreich 42.027 ha Sojabohnen angebaut, hauptsächlich in den Bundesländern Burgenland, Ober- und Niederösterreich (*STATISTIK AUSTRIA, 2014*).

1.2 Soja als Lebensmittel

Die meisten europäischen Sojabohnen werden zu Lebensmitteln verarbeitet und auch die Nachfrage nach Speisesojabohnen steigt von Jahr zu Jahr an.

Für Speisesojabohnen gibt es drei Hauptnutzungsrichtungen: Gemüsesojabohnen, Sojaöl und Sojaprotein. Speisesojabohnen werden nach ihrer Korngröße in zwei Gruppen geteilt: Sojaprodukte aus grobkörnigen Sojabohnen (>200g/1000 Körner): Tofu, Edamame (grüne Sojabohnen), Miso (fermentierte Sojabohnenpaste) und Sojamilch. Aus feinkörnigen Sojabohnen (<120g/1000 Körner) werden Natto (fermentierte ganze Sojabohnen), Sojasoßen, Tempeh (Teig aus ganzen fermentierten Sojabohnen) und Bohnensprossen hergestellt (vgl. *Zhang et al., 2010*).

Für Gemüsesojabohnen (Edamame) wird neben einem großen Korn ein hoher Zuckergehalt (Saccharose) benötigt, welcher den Geschmack in den grünen Bohnen positiv beeinflusst. Neben dem hohen Zuckergehalt ist auch ein niedriger Gehalt an blähenden Kohlenhydraten, wie Raffinose und Stachyose für grün geerntete Sojabohnen wichtig (*Vollmann, 2006*).

Das Sojaöl ist das wichtigste Qualitätskriterium im weltweiten Sojaanbau und Bestandteil vieler Lebensmittel, wie Margarinen, Süßwaren, Mayonnaisen, Bäckereifetten, Saucen etc. Sojabohnenöl besitzt einen hohen Gehalt an Linolsäure (> 50%), alpha-Linolensäure (8%) und an gesättigten Fettsäuren (15%), weshalb es aus ernährungsmedizinischer Sicht viele negative Eigenschaften aufweist (Oxidationsanfälligkeit, negative Effekte auf LDL/HDL-Cholesterinverhältnis, Bildung von Transfettsäuren bei Fetthärtung für Margarineherstellung) und dem Raps- oder Olivenöl in ernährungsphysiologischer Wertigkeit unterlegen ist. Dem entgegen steht der Gehalt an antioxidant wirkenden Tocopherolen, welche die Haltbarkeit des Sojaöls stark erhöhen. In Europa spielt das Sojaöl in der Humanernährung jedoch eine untergeordnete Rolle, einerseits liegt das am verhältnismäßig geringen Ölgehalt und weiters sind traditionelle Öle anderer Ölpflanzen mit besserer Speiseölqualität und höheren Ölausbeuten (Raps, Oliven, Sonnenblumen) üblich (*Vollmann, 2006*).

In Europa wird dem aus Sojabohnen gewonnene Protein im Gegensatz zum Öl eine sehr große Bedeutung zugemessen. Für die Tierernährung spielen nur Proteingehalt, gewisse Aminosäurenkonzentrationen und Gehalt an Trypsininhibitoren eine wertbestimmende Rolle. Für Speisesojabohnen kommen je nach Verwendungszweck noch weitere Qualitätsparameter hinzu. Hellsamige und grobkörnige Sojabohnen ohne Verfärbungen des Hilums und der Samenschale werden von den Verarbeitern gewünscht. Für die Produktion von Sojamilch und Tofu werden hohe Proteingehalte über 42% erwartet. Weiters sind auch Eigenschaften wie Anteil wasserlöslicher Proteine und spezifische Proteingelierungseigenschaften für die Tofu-Herstellung wichtig. Im Proteingehalt und anderen genannten Merkmalen gibt es beträchtliche Genotypunterschiede,

weswegen bestimmte Sorten von den Verarbeitern bevorzugt werden (vgl. Vollmann, 2006). In Österreich entsprechen diesen Anforderungen vor allem die Sorten Lotus (000) und Primus (00), weshalb diese auch von vielen Erzeugern im Vertragsanbau bevorzugt werden (vgl. Mechtler, 2010).

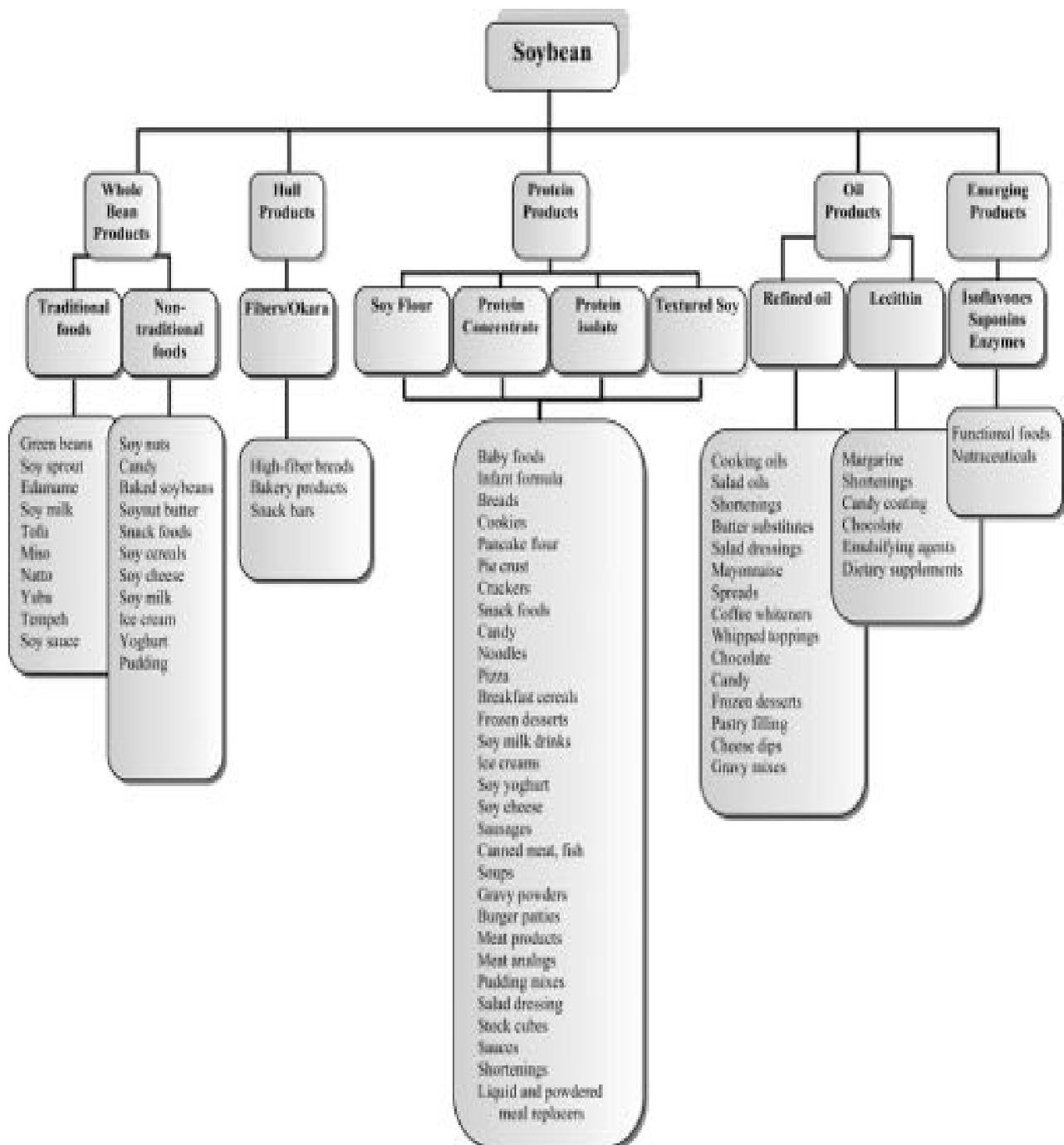


Abbildung 1: Verwendungsmöglichkeiten von Sojabohnen in der Humanernährung, übernommen aus L'Hocine und Boye, 2007

Aus der Abbildung von *L'Hocine und Boye* ist ersichtlich, wie vielseitig Sojabohnen für die Humanernährung eingesetzt werden. Von der ganzen Bohne werden einerseits traditionelle ostasiatische Produkte wie Tofu, Sojamilch, Miso, Tempeh usw. hergestellt, andererseits kommen immer mehr neue Produktkreationen aus Sojabohnen, wie Sojknabberkerne, Sojabutter, Sojajoghurt, Eis aus Soja und vieles anderes mehr, auf den Markt.

Auch die Samenschalen finden Verwendung als Zusatzstoff in der Backindustrie. Sojaprotein findet sich in zahlreichen Back- und Fleischprodukten (Brot, Kekse, Fleischersatz, Kindernahrung) als Proteinlieferant wieder. Das Öl der Sojabohne wird einerseits als raffiniertes Öl zu Speisezwecken (Speiseöl, Dressings, Mayonnaise) und andererseits wird das als Nebenprodukt bei der Raffination entstehende Sojalecithin in der Margarine- und Schokoladenproduktion als Emulgator verwendet. Auch werden Isoflavone, Saponine und Enzyme aus Sojabohnen extrahiert, welche als Lebensmittelzusatzstoff in functional food eingesetzt werden. Aus dieser breiten Übersicht geht hervor wie stark Sojabohnen im Lebensmittelbereich vertreten sind, oft auch ohne dass dem Konsumenten bewusst ist, dass ein Großteil der verarbeiteten Lebensmittel in irgendeiner Weise Sojabohnen enthält.

1.3 Samenschalenverfärbungen bei Sojabohnen

Die Samenschalenverfärbungen der Sojabohne sind das Resultat von größerer Akkumulation von phenolischen Bestandteilen in der Samenschale. Der sekundäre Pflanzeninhaltsstoff Catechin Melanin (Polymer des Polyphenols) ist verantwortlich für die Samenschalenverfärbungen (*Morrison et al., 1998*). Verfärbungen degradieren das äußere Aussehen der Sojabohnensamen und senken ihren Marktwert (*Takahashi und Abe, 1999*), denn das visuelle Aussehen ist der Hauptaugenmerk der meisten Speisesojabohnenaufkäufer; die Samen müssen runder Form, einheitlich, mit hellem Hilum und weiß-gelber Samenschale ohne physikalische Mängel wie Marmorierung, Risse, Rötungen und Insektenstiche sein (*Graef und Specht, 1989*). Verfärbte Sojabohnen sind bei den Aufkäufern unerwünscht (*Bachman, 2001*).

Im Jahr 1987 zeigten 28% aller Sojabohnen in Hokkaido eine Samenschalenverfärbung (*Srinivasan und Arihara, 1994*). Von Samenschalenverfärbungen wird nicht nur in Hokkaido sondern auch aus Österreich und Kroatien berichtet (vgl. *Takahashi u. Abe, 1999*).

Drei von einander unabhängige genetische Loci (I, R T) kontrollieren die Farbe und deren Verteilung in der Samenschale (*Bernard und Weiss, 1973*). Der I Locus hat vier Allele welche die Verteilung der Pigmentierung der Samenschalen bestimmen. Das dominante I Allel kodiert Anthocyan Pigmente, welche eine gelbe Samenschale hervorrufen. Die Farbe der Pigmente wird durch den R-Locus gesteuert. Ein dominantes R-Allel resultiert in einer schwarzen Pigmentierung,

während ein rezessives R-Allel eine braune Pigmentierung erzeugt. Generell ist zu sagen, dass sowohl das dominante als auch das rezessive T-Allel entweder gelben, braunen oder grauen Flaum/Härchen auf den Blättern, Halmen oder Hülsen produzieren (*Morrison et al. 1998*).

Werden Sojabohnen während der Blüte kühlen Temperaturen von ca. 12-15°C ausgesetzt, entwickelt sich eine vom Hilum ausgehende braune Verfärbung auf der Samenschale. Diese Verfärbungen schaden der Optik der Bohnen und führen dadurch zu starkem Wertverlust. Die braune Pigmentierung wird durch Oxidation phenolischer Verbindungen ausgelöst (*Takahashi u. Abe, 1999*).

Die Schäden, verursacht durch niedrige Temperaturen, sind am deutlichsten auf Pflanzen welche für 2-3 Wochen Temperaturen unter 15°C ausgesetzt waren zu sehen. Die Verfärbungen an den Sojabohnen werden sichtbar, sobald diese 70-80% ihrer endgültigen Größe erreicht haben.

Ein übermäßig feuchter Boden hat keine Auswirkung auf physikalische Qualitäten während normaler Temperaturen, jedoch verbessert sich dadurch der Grad der Verfärbungen während niedriger Temperaturen. Im Gegensatz dazu hat Nitrat keinen Einfluss auf den Grad der Verfärbungen, jedoch wirkt es sich negativ auf die physikalischen Eigenschaften des Kornes aus.

Werden die Samen mit NaOH behandelt, steigt der Grad der Braunfärbung was durch eine verstärkte Oxidation des Phenols verursacht wird (*Srinivasan u. Arihara, 1994*).

In frühreifen Linien mit grauem Flaum waren die Reduktionsraten für Samenertrag und Anzahl der Hülsen groß. Braun beflaumte Linien sind kältetoleranter und bringen höhere Erträge als grau beflaumte. Der Unterschied in der Wuchskraft zwischen den verschiedenen Flaumfarben könnte an den Flavonoiden liegen, welche eine antioxidative Wirkung haben und so den Schaden durch niedrige Temperaturen in braun geflaumten Sojabohnen senken. Kühle Temperaturen beeinflussen den Ertrag negativ. Kältetoleranz von braungeflaumten Sojabohnen ist beeinflusst von Gen T.

Toleranz gegenüber Samenschalenverfärbungen ist an späte Reife gekoppelt. Spät blühende Sorten sind kältetoleranter, daher erscheint es notwendig spätblühende, aber frühreifende Linien mit schneller Kornfüllung für den Anbau in nördlichen Gebieten zu selektieren (*vgl. Kurosaki, 2004*). Dies ist von großer Bedeutung, da sich der Anbau der wärmebedürftigen Sojabohnen immer weiter Richtung Norden (Kanada, Mitteleuropa, Hokkaido) ausbreitet (*Funatsuki u. Ohnishi, 2008*).

Anders wird dieses Problem in der Schweiz betrachtet: So ist bei *Schori et al. (2003)* zu lesen: „Marmorierung ist nur ein ästhetischer Nachteil, falls die Samen für die Lebensmittelproduktion verwendet werden. Obwohl es als ungünstig eingestuft wird, ist dieses Merkmal kein Ausschlussfaktor“. Samenschalenverfärbungen werden auch vom Sojabohnenmosaikvirus (SMV) hervorgerufen. SMV führt zu auch braunroten Verfärbungen auf der Samenschale, so dass die Verfärbung allein ohne weitere für Viren typische Symptome kein sicheres Indiz für einen Virusbefall ist (*vgl. Hobbs et al., 2003*).

2. Fragestellung

Ziel dieser Untersuchungen ist die Eruierung der Ursachen der Samenschalenverfärbungen und die Möglichkeiten, wie mittels den Methoden herkömmlicher Pflanzenzüchtung diesem Phänomen begegnet werden kann.

Die Untersuchung untergliedert sich/ besteht aus/in drei voneinander unabhängigen Experimenten.

Das Experiment 1 (GPX - Sato) besteht aus der Bonitur von 200 Genotypen aus 4 Kreuzungen aus einem Zuchtprogramm für proteinreiche Speisesojabohnen. Dieses Material stammt aus drei verschiedenen Jahren (2010, 2011, 2012).

Experiment 2 (AGES) war eine Untersuchung von an der Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit eingelagerten Rückstellmuster der amtlichen Saatgutenerkennung aus dem Jahr 2012.

Experiment 3 (ProteinScreening) besteht aus 50 Genotypen eines Zuchtprogramms mit dem Ziel sehr proteinreiche Genotypen zu selektieren. Dieses Material stand aus den Jahren 2005, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012 und 2013 zur Verfügung.

2.1 Experimente und Forschungsfragen

Experiment 1: GPX – Sato

Forschungsfrage 1: Gibt es Unterschiede in der Anfälligkeit auf Samenschalenverfärbungen zwischen den Genotypen?

Forschungsfrage 2: Gibt es jahresbedingte Unterschiede im Auftreten der Samenschalenverfärbung?

Experiment 2: AGES - Rückstellmuster

Forschungsfrage 3: Hat die Samenschalenverfärbung einen Einfluss auf die Keimfähigkeit?

Forschungsfrage 4: Gibt es Unterschiede in der Anfälligkeit für Samenschalenverfärbungen zwischen den untersuchten Sorten?

Forschungsfrage 5: Gibt es Unterschiede im Tausendkorngewicht zwischen verfärbten und nicht verfärbten Körnern?

Experiment 3: ProteinScreening

Forschungsfrage 6: Wie wirkt sich die Temperatur zur Blüte auf die Samenschalenverfärbungen aus?

Forschungsfrage 7: Gibt es Unterschiede zwischen den Genotypen in Anfälligkeit für Samenschalenverfärbungen?

Forschungsfrage 8: Gibt es Jahresunterschiede im Auftreten der Samenschalenverfärbung, spielt dabei der genetische Hintergrund der Sojabohnen eine Rolle?

3. Material und Methoden

Diese Arbeit besteht aus drei voneinander unabhängigen Experimenten welche den Ursachen der Samenschalenverfärbungen bei Sojabohnen auf den Grund gehen.

3.1 Experiment 1 (GPX - Sato)

Im Experiment 1 wurden 200 Genotypen aus 4 Kreuzungen (Gallec/GF4X-21-5-2, Eссор/GF4X-21-5-2, Eссор/Vinton 81, GL601/Vinton 81) angebaut in den Jahren 2010-2012 in einer Gitteranlage mit 2 Wiederholungen (vgl. *Sato et al., 2014*) verwendet. Aus dem Jahr 2010 war nur eine Wiederholung vorhanden, sodass aus diesem Jahr statt 400 nur 200 Proben zur Verfügung standen.

Tabelle 2: Übersicht über die Kreuzungseltern, deren Reifegruppe und Herkunft, des Experiments GPX-Sato; Verändert nach Van Schoote 2012

	Reifegruppe	Herkunft
Gallec	000	Schweiz/Österreich
Eссор	00	Canada/Österreich
GL601	00	BOKU
GF4X-21-5-2	0	BOKU
Vinton 81	I	USA

Tabelle 3: Übersicht über die Eltern der einzelnen Kreuzungen des GPX-Sato Experiments

	Mutter	Vater
Kreuzung 1	Gallec	GF4X-21-5-2
Kreuzung 2	Essor	GF4X-21-5-1
Kreuzung 3	Essor	Vinton 81
Kreuzung 4	GL601	Vinton 81

Verändert nach Van Schoote 2012

An den insgesamt 993 Proben aus drei Jahren (2010, 2011, 2012) wurde eine visuelle Analyse der Verfärbungen durchgeführt. Dies erfolgte anhand eines Boniturschlüssels von 1 bis 9, wobei 1 keinerlei Verfärbung bedeutete und 9 für starke Verfärbung stand. Eine genaue Aufschlüsselung des Boniturschemas befindet sich in Abbildung 2. Die praktische Durchführung der Bonitur wurde wie folgt durchgeführt, die Proben wurden in Sammelschalen geleert, optisch beurteilt und mit einer entsprechenden Bonitur versehen.

	Boniturnote
	1 keine Verfärbung, helles Hilum Anteil verfärbter Körner in Probe: 0%
	2 leichte Verfärbung in Hilumnähe, dunkles Hilum Anteil verfärbte Körner in Probe: 10%
	3 streifenförmige Verfärbungen gehen von Hilum Richtung Kornmitte Anteil verfärbter Körner in Probe: 15%

	<p>4 fleckenartige, sattelförmige Verfärbungen umschließen bis zu 25-30% des Korns Anteil verfärbter Körner in Probe: 30%</p>
	<p>5 Verfärbungen bedecken 40-50% des Korns Anteil verfärbter Körner in Probe: 50%</p>
	<p>6 Verfärbungen bedecken ca. 60% des Korns Anteil verfärbter Körner in Probe: 60%</p>
	<p>7 Verfärbungen bedecken ca. 70% des Korns Anteil verfärbter Körner in Probe: 70%</p>
	<p>8 Verfärbungen bedecken ca. 80% des Korns Anteil verfärbter Körner in Probe: 80%</p>
	<p>9 Verfärbungen bedecken beinahe das gesamte Korn Anteil verfärbter Körner in Probe: 90%</p>

Abbildung 2: Aufschlüsselung des Boniturschemas

Anschließend wurden die generierten Daten mittels einer zweifaktoriellen Varianzanalyse statistisch ausgewertet und der Einfluss des Jahres und des Genotyps auf die Verfärbung der Samenschalen ermittelt. Weiters wurde ein Histogramm erstellt, welches die Verteilung der einzelnen Boniturklassen über die gesamte Zahl der Proben zeigt. Ein Kruskal-Wallis Test wurde durchgeführt, um die Verteilung anhand von Rängen sichtbar zu machen.

Auch ein Boxplot-Diagramm wurde erstellt, in dem die Streuung der Boniturnwerte der einzelnen Kreuzungen veranschaulicht wird.

3.2 Experiment 2 (AGES - Rückstellmuster)

Das Experiment 2 besteht aus der Bonitur, nach dem selben Schlüssel wie in Experiment 1, von 204 Proben der Rückstellmuster aus der Saatguterkennung der Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit aus dem Jahr 2012. Diese 204 Proben bestanden aus insgesamt 35 Sorten.

Aus diesen 204 Proben wurden 15 stark verfärbte Proben ausgewählt, aus welchen jeweils 200 verfärbte und 200 nicht verfärbte Körner entnommen wurden. An diesen aufgetrennten Proben wurden mit einem Contador Pfeuffer Kornzählgerät das Tausendkorngewicht (g) der verfärbten und nicht verfärbten Körner bestimmt. Danach wurde bei den Proben die Keimfähigkeit nach ISTA-Norm bestimmt. Dazu wurden die Körner in Quarzsand in Plastikschaalen angesetzt und bei 25° C für 8 Tage im Klimaraum zur Keimung gebracht. Danach erfolgte die Auswertung nach den ISTA-Kriterien für *Phaseolus vulgaris*. Die Samen wurden in 4 Klassen eingeteilt: normale Keimlinge, abnorme Keimlinge, tote und harte Samen.

Ein normaler Keimling musste folgende Kriterien erfüllen: ein intaktes Wurzelsystem mit langer Primärwurzel und mehreren Sekundärwurzeln, ein langes und intaktes Hypo- und Epicotyl mit durchgehendem Markkanal, zwei entwickelte Primärblätter, die nicht kleiner sein dürfen als 50% eines normal entwickelten Primärblatts, zwei Cotyledonen, die zu mindestens 50% vorhanden sein müssen (vgl. Don, 2013). Neben unseren Ergebnissen zur Keimfähigkeit wurden uns auch die Ergebnisse dieser Proben aus der amtlichen Keimfähigkeitsprüfung des Instituts für Saatgut aus dem Jahre 2012 zur Verfügung gestellt.

Die generierten Daten wurden mittels mehrerer statistischer Methoden ausgewertet. Mit einem zweiseitigen t-test wurden Unterschiede in der Tausendkornmasse und den Keimfähigkeitsergebnissen untersucht. Ein Histogramm wurde zur grafischen Darstellung der Verteilung der einzelnen Boniturklassen verwendet. Mittels einer zweifaktoriellen Varianzanalyse wurden die durchschnittlichen Boniturnwerte (LSMEANS) für die einzelnen Sorten errechnet.

3.3 Experiment 3 (ProteinScreening2)

Das Experiment 3 besteht aus der Bonitur von einem Sojabohnen-Set von 50 Genotypen aus einem mehrjährigen Versuch, angebaut auf der Versuchswirtschaft der Universität für Bodenkultur in Groß-Enzersdorf. Für die Auswertung stand Material aus 2005, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012 und 2013 zur Verfügung. Die Sojabohnen dieser 8 Jahre wurden nach dem gleichen Schlüssel wie in Experiment 1 und 2 auf Samenschalenverfärbungen bonitiert. Um einen Zusammenhang der Verfärbung mit der Temperatur festzustellen, wurden die ZAMG Wetterdaten des Versuchsstandorts Groß-Enzersdorf für die vegetationsrelevanten Monate (Mai-September) herangezogen und verschiedene gleitende Mittelwerte (5-, 10-, 15-tägiges und tägliches Mittel) sowie die Minimaltemperaturen (5-, 10-, 15-tägiges und tägliches Mittel) für die Analyse berechnet. Aus diesen Temperaturdaten wurden Temperaturverlaufskurven errechnet und es wurde geprüft ob eine Korrelation zwischen der Temperatur während der Vegetation und der Verfärbung besteht. Dazu wurden die durchschnittlichen Boniturwerte der einzelnen Jahre herangezogen, die durch eine mehrfaktorielle Varianzanalyse errechnet wurden.

Tabelle 4: Genotypen des Experiments 3 (ProteinScreening2)

Nr.	Genotyp	Nr.	Genotyp
1	GE26X-915-2-4	26	GG2X-166-4
2	GF2X-24-4-4	27	GH3X-15
3	GF2X-9-2-2	28	GG2X-242-1
4	GF2X-9-2-3	29	GH12X-891-2
5	GF4X-21-5-2	30	Sundance
6	GF2X-24-5-2	31	GLS2 Toliman
7	GF2X-9-1-3	32	GLS3 20274
8	GF2X-9-1-4	33	GLS4 KuxCer kfrei
9	GF2X-9-1-7	34	GLS7 KuxCer kfrei
10	GF4X-21-1-1	35	GLS8 GH3X-15-4-5
11	GF4X-21-1-2	36	GLS9 7545/87xLabr
12	GF4X-21-1-3	37	GLS10 Aveline
13	GF4X-21-5-3	38	GL8 Gallec
14	GF4X-21-5-4	39	GL9 Idefix

15	GH28X-27	40	GL10 Vanessa
16	GH13X-1-4	41	GL11 Estel
17	GH17X-23-1	42	GL12 GL201 M.BellaxProgress
18	GH17X-23-3	43	GL13 GL506 Josefina
19	GH17X-23-4	44	GL14 GL601 M6x102xBalesto
20	GG2X-45-2	45	Gallec
21	GF11X-2-4	46	OAC Erin
22	GG2X-30-2	47	Essor
23	GH12X-928-3	48	Apache
24	GH12X-906-3	49	Cardiff
25	GG2X-276-2	50	Lambton

3.4 Statistik

Die Daten wurden mit einem Open Office Tabellenkalkulationprogramm aufgearbeitet und die statistischen Analysen mit Hilfe von SAS 9.2 durchgeführt (SAS, 2009)

Die Versuchsergebnisse aus Experiment 1 und 2 entsprechen nicht der geforderten Normalverteilung. Deshalb wurden für die Bestimmung von mittleren Rängen nicht parametrische Tests verwendet (Kruskal-Wallis Test).

4. Ergebnisse

4.1 Experiment 1 (GPX – Sato)

Die Bonitur der Verfärbungen von 200 Genotypen aus 4 Kreuzungen ergab folgende Ergebnisse. Die Jahre (2010-2012) unterscheiden sich signifikant voneinander ($p=0.0002$) in der Samenschalenverfärbung. Die Kreuzungen unterscheiden sich höchst signifikant ($p<.0001$). Das Jahr 2012 hat mit einem Mittelwert von 2,59 die niedrigste Bonitur und liegt in der Reihenfolge auf Platz 1, gefolgt von 2011<2010. Innerhalb der 4 Kreuzungen war die Kreuzung 4 (GL601/Vinton 81) mit einem Mittelwert von 2,2, die mit der niedrigsten Bonitur. Die Kreuzungen lassen sich folgend reihen 4<1<3<2. Der Mittelwert aller untersuchten Genotypen über alle Jahre und Kreuzungen betrug 3,00.

Tabelle 5: Ergebnisse der mehrfaktoriellen Varianzanalyse

R-Square	Coeff Var	Root MSE	flecken Mean
0.106375	57.56829	1.728786	3.003018

Faktor	DF	Type III SS	Mean Square	F Wert	Pr > F
Jahr (env)	2	50.1762001	25.0881000	8.39	0.0002
Kreuzung (cross)	4	301.8479271	75.4619818	25.25	<.0001

Tabelle 6: durchschnittliche Boniturwerte über die einzelnen Jahre und Kreuzungen(LSMEANS)

Jahr	Bonitur	Kreuzung	Bonitur
2010	3.08	(1)Gallec/GF4X-21-5-2	3.06
2011	3.04	(2)Essor/GF4X-21-5-2	3.61
2012	2.59	(3)Essor/Vinton 81	3.39
		(4)GL601/Vinton 81	2.20
		Standard	2.26

Die Tabelle 7 enthält die Genotypen gereiht nach ihrer Bonitur. Es werden nur je die 25 mit der höchsten und niedrigsten Bonitur dargestellt. Die höchste Bonitur mit 8,00 haben die Genotypen GP3X-100 und GP3X-98 aus Kreuzung 2 (Essor/GF4X-21-5-2). Von den 25 höchsten Bonituren sind 7 Genotypen aus Kreuzung 1, 15 Genotypen aus Kreuzung 2, 3 Genotypen aus Kreuzung 3 und kein Genotyp aus Kreuzung 4. Den Platz der niedrigsten Bonitur von 1,00 besetzen insgesamt 13 Genotypen aus allen 4 Kreuzungen: Kreuzung 1 – GP2X-450, GP2X-1844, GP2X-1859; Kreuzung 2 – GP3X-107, GP3X-844, GP3X-1410, GP3X-1520, GP3X-1814, GP3X-1999; Kreuzung 3 – GP3X-939; Kreuzung 4 – GP7X-224, GP7X-1082 , GP7X-1341. Von den 25 niedrigsten Bonituren sind 4 Genotypen aus Kreuzung 1, 8 Genotypen aus Kreuzung 2, 2 Genotypen aus Kreuzung 3 und 11 Genotypen aus Kreuzung 4.

Tabelle 7: 25 höchst und niedrigst bewertete Genotypen

Kreuzung	Name	2010	2011	2012	Mittelwert	Kreuzung	Name	2010	2011	2012	Mittelwert
2	GP3X-100	9,00	8,50	6,50	8,00	4	GP2X-860	2,00	1,00	1,00	1,33
2	GP3X-98	8,00	8,50	7,50	8,00	4	GP7X-385	1,00	1,00	2,00	1,33
1	GP2X-1666	9,00	8,00	6,00	7,67	4	GP7X-516	1,00	1,50	1,00	1,17
2	GP3X-1198	8,00	8,50	6,50	7,67	1	GP2X-90	1,00	1,00	1,50	1,17
1	GP2X-235	9,00	8,00	5,50	7,50	2	GP3X-1727	1,00	1,00	1,50	1,17
1	GP2X-216	9,00	7,00	6,50	7,50	2	GP3X-1872	1,00	1,00	1,50	1,17
2	GP3X-657	8,00	7,50	6,00	7,17	3	GP4X-1981	1,00	1,00	1,50	1,17
2	GP3X-655	7,00	8,00	6,00	7,00	4	GP7X-104	1,00	1,00	1,50	1,17
2	GP3X-1238	8,00	7,00	5,50	6,83	4	GP7X-1305	1,00	1,00	1,50	1,17
1	GP2X-970	8,00	5,00	7,00	6,67	4	GP7X-1840	1,00	1,00	1,50	1,17
1	GP2X-128	7,00	7,00	5,50	6,50	4	GP7X-1866	1,00	1,00	1,50	1,17
2	GP3X-591	7,00	6,00	6,50	6,50	4	GP7X-1871	1,00	1,00	1,50	1,17
2	GP3X-83	8,00	6,00	5,00	6,33	1	GP2X-450	1,00	1,00	1,00	1,00
2	GP3X-1812	6,00	6,50	6,00	6,17	1	GP2X-1844	1,00	1,00	1,00	1,00
2	GP3X-1167	5,00	7,00	6,50	6,17	1	GP2X-1859	1,00	1,00	1,00	1,00
2	GP3X-1298	6,00	5,50	6,50	6,00	2	GP3X-107	1,00	1,00	1,00	1,00
2	GP3X-1657	8,00	5,00	4,50	5,83	2	GP3X-844	1,00	1,00	1,00	1,00
3	GP4X-1490	7,00	6,00	4,50	5,83	2	GP3X-1410	1,00	1,00	1,00	1,00
2	GP3X-507	4,00	7,50	5,50	5,67	2	GP3X-1520	1,00	1,00	1,00	1,00
1	GP2X-105	8,00	5,00	3,00	5,33	2	GP3X-1814	1,00	1,00	1,00	1,00
3	GP4X-95	6,00	5,50	4,50	5,33	2	GP3X-1999	1,00	1,00	1,00	1,00
1	GP2X-250	8,00	4,00	3,50	5,17	3	GP3X-939	1,00	1,00	1,00	1,00
2	GP3X-1370	8,00	4,00	3,50	5,17	4	GP7X-224	1,00	1,00	1,00	1,00
3	GP4X-1845	6,00	4,50	4,50	5,00	4	GP7X-1082	1,00	1,00	1,00	1,00
2	GP3X-735	5,00	4,50	5,50	5,00	4	GP7X-1341	1,00	1,00	1,00	1,00

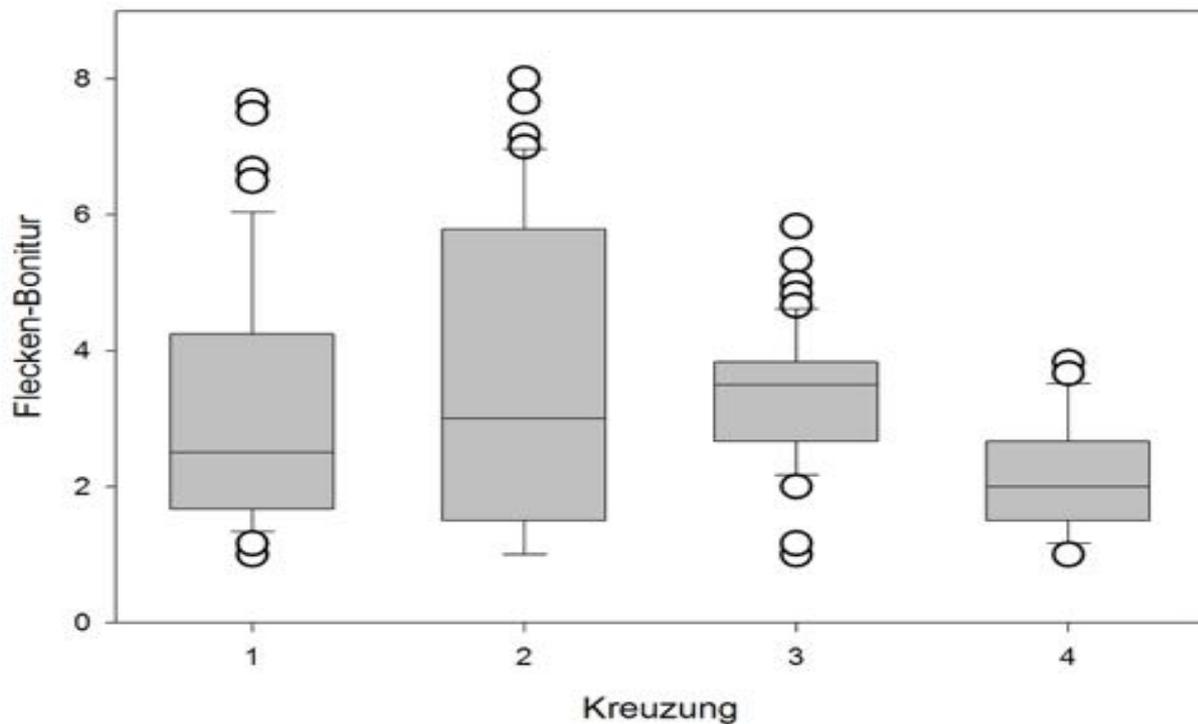


Abbildung 3: Boxplotdarstellung der Bonituren über die 4 Kreuzungen

In Abbildung 3 sind die Streuungen der einzelnen Kreuzungen in einem Box Plot Diagramm dargestellt. Kreuzung 1 und 2 haben die größte Streuung und auch starke Ausreißer nach oben. In Kreuzung 3 und 4 sind die Interquartilsabstände und die Spannweite geringer. Kreuzung 4 hat im Vergleich die geringste Spannweite und ist damit die homogenste Kreuzung.

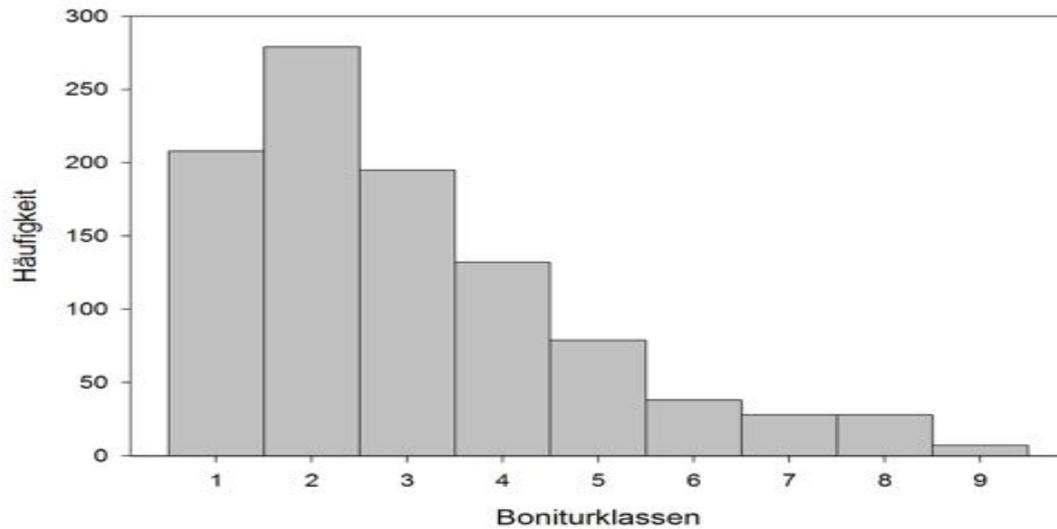


Abbildung 4: Häufigkeit der Boniturklassen

In Abb. 4 ist die Verteilung der 9 Boniturklassen dargestellt. Von den insgesamt 996 beurteilten Proben fallen ca. 70% in die Klassen 1-3, dies/was verdeutlicht, dass der Großteil der Proben kaum bis gar nicht von Verfärbungen betroffen ist. Starke Verfärbungen (Bonitur 8 und 9) zeigen nur 3% aller Proben.

4.2 Experiment 2 (AGES - Rückstellmuster)

Das Experiment AGES mit 204 Proben aus insgesamt 35 Sorten ergab hoch signifikante ($p < 0.0001$) genotypische Unterschiede bezüglich der Anfälligkeit für Samenschalenverfärbungen. Der Boniturmittelwert (LSMEANS) beträgt 2.07.

Tabelle 8: Ergebnisse der Varianzanalyse

GLM					
Dependent Variable Samenflecken					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Model	34	504.6546561	14.8427840	50.94	<.0001
Error	169	49.2424027	0.2913752		
Corrected Total	203	553.8970588			
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	Flecken Mean	
	0.911098	26.03251	0.539792	2.073529	
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr>F
Sorte (geno)	34	504.6546561	14.8427840	50.94	<.0001

Tabelle 9 zeigt die durchschnittliche Boniturnote der 35 untersuchten Sorten. Die Sortennamen dürfen aus Datenschutzgründen nur verschlüsselt als Nummer publiziert werden. Die höchste Bonitur (8) hat die Sorte 20 erhalten. Die niedrigste Bonitur (1) haben die Sorten 2, 4, 6, 17 und 30 bekommen. Auch der Kruskal-Wallis-Test zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Sorten und der Samenschalenverfärbung.

Tabelle 9: Darstellung der durchschnittlichen Bonitur der untersuchten 35 Sorten

Sorte	Boniturmittelwert	Sorte	Boniturmittelwert
1	1,52	19	1,6
2	1	20	8
3	2	21	1,91
4	1	22	2
5	6,83	23	2
6	1	24	1,5
7	5	25	2
8	1,157	26	7
9	1,4	27	3
10	1,5	28	4
11	1,72	29	7
12	1,35	30	1
13	4	31	2
14	4	32	7,5
15	2	33	2
16	3,33	34	1,6
17	1	35	4
18	2,25		

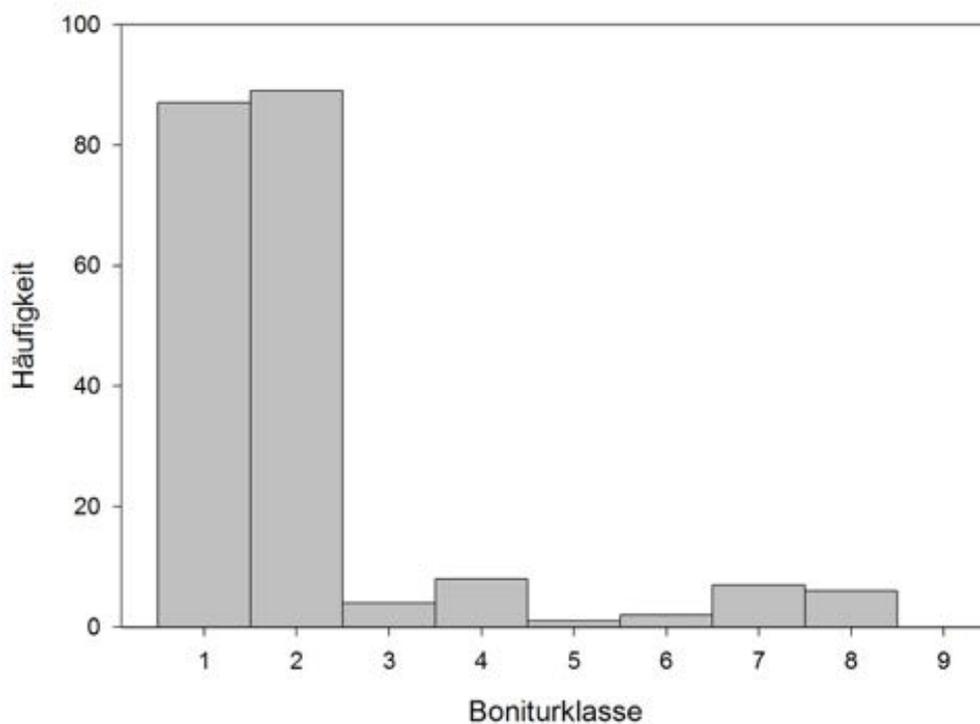


Abbildung 5: Häufigkeit der Boniturklassen

Die Häufigkeitsverteilung der beurteilten Proben über die 9 Boniturklassen im Experiment AGES zeigt folgendes Ergebnis. Von den insgesamt 204 Proben sind 87 Proben mit 1 und 89 Proben mit 2 benotet, jedoch nur 6 Proben hatten die Note 8, die höchste Note 9 erhielt keine der untersuchten Proben. Prozentuell gesehen sind 89,2% der 204 Proben mit den Noten 1 oder 2 benotet.

4.2.1 Tausendkorngewicht

Auf Tausendkorngewicht und Keimfähigkeit wurden die am höchsten bonitierten Proben (15) untersucht.

Tabelle 10: Tausendkorngewicht von verfärbten und nicht verfärbten Körnern

Sorte	TKG verfärbt (g)	TKG nicht verfärbt (g)
32	140,4	143,6
20	145,5	148,8
29	155,3	155,9
5	197,55	198,0

Im Tausendkorngewicht konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen gefleckten und nicht gefleckten Proben gefunden werden (paarweiser t-Test: $t=0.774$, $FG=14$, $P=0.452$, zweiseitiger Test).

4.2.2 Keimfähigkeit

Tabelle 11: Keimfähigkeitsergebnisse in % von verfärbten bzw. nicht verfärbten Samen innerhalb einzelner Proben

Sorten	N	Nicht verfärbt (%)	Verfärbt (%)	Differenz (%)
32	3	78,5	83	+4,5
20	3	91	92	+1
29	3	60,3	69	+8,7
5	6	67	76	+9

Die verfärbten Körner einer Probe haben in allen vier Sorten eine höhere Keimfähigkeit (+1 bis 9) als die nicht Verfärbten.

Die stark befallenen Proben, welche einem Keimfähigkeitstest unterzogen wurden, ergaben signifikante Unterschiede zwischen gefleckten und nicht gefleckten Proben (paarweiser t-Test: $t=4,014$, $FG=14$, $P=0,001$, zweiseitiger Test) in der Keimfähigkeit.

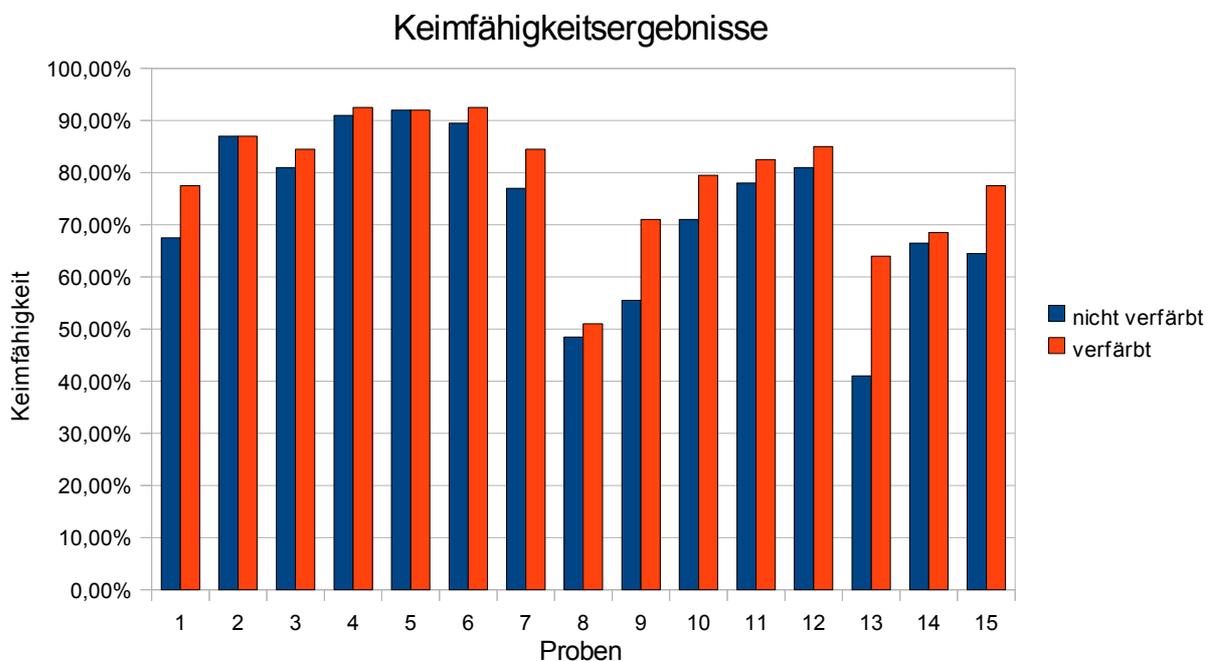


Abbildung 6: Keimfähigkeitsergebnisse zwischen verfärbten und nicht verfärbten Samen einer Probe

Das Balkendiagramm (Abb. 6) zeigt die detaillierten Ergebnisse der Keimfähigkeitsuntersuchungen für jede einzelne Probe. Auch hier ist sichtbar, dass die gefleckten Bohnen einer Probe in allen Fällen bis auf Probe 5, eine höhere Keimfähigkeit erbrachten, als die nicht gefleckten Bohnen der jeweiligen Probe. In Proben 5 hatten die gefleckten und nicht gefleckten Bohnen eine exakt gleich hohe Keimfähigkeit.

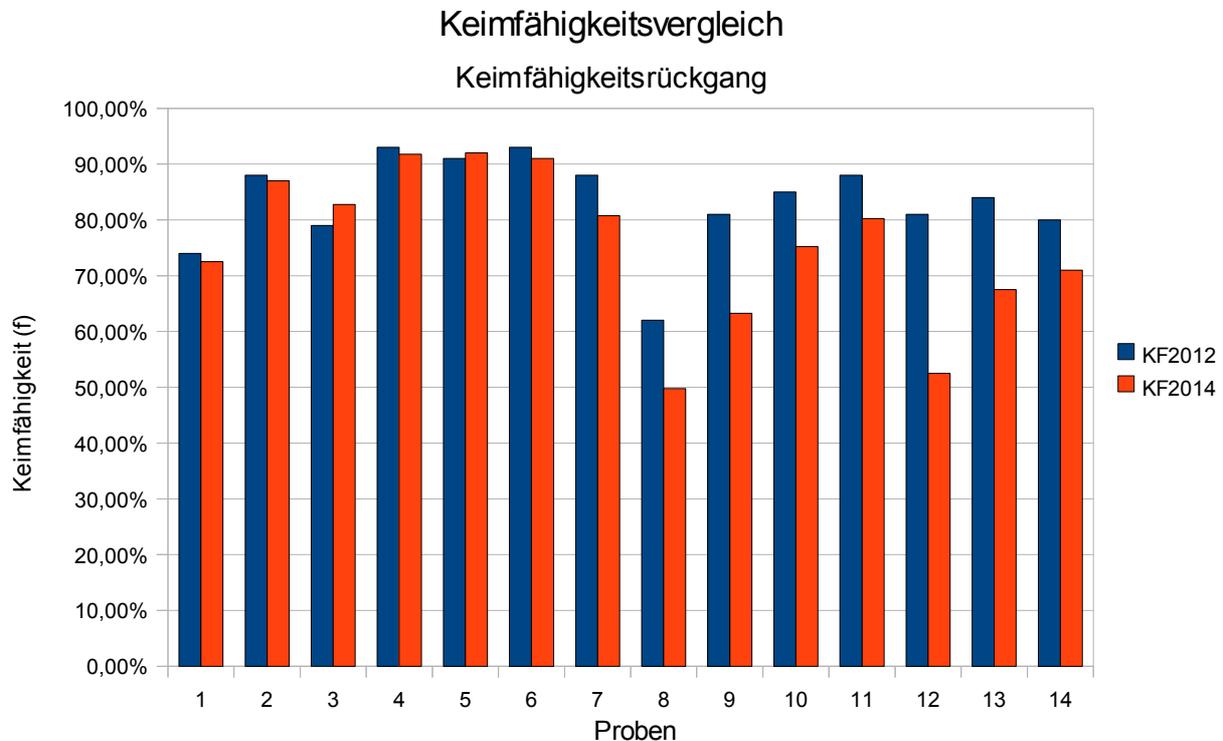


Abbildung 7: Vergleich der Keimfähigkeiten der einzelnen Proben aus 2012 und 2014

Weiters wurden die Ergebnisse unserer Keimfähigkeitstests mit den amtlichen Ergebnissen der Keimfähigkeitsprüfung für die Saatgutenerkennung für die untersuchten Proben verglichen. Auch hier ist sichtbar, dass die gefleckten Sojabohnen über längere Zeit eine hohe Keimfähigkeit beibehalten.

4.3 Experiment 3 (ProteinScreening 2)

Die Bonitur von 800 Proben von je 50 Genotypen in zweifacher Wiederholung aus 8 verschiedenen Jahren ergab hoch signifikante Unterschiede zwischen den Jahren und Genotypen ($p < .0001$) und auch die Wechselwirkungen zwischen Faktoren Jahr und Genotyp waren in der Anfälligkeit auf Samenschalenverfärbungen hoch signifikant ($p < .0001$). Der Mittelwert der Samenschalenverfärbungen aller untersuchten Proben von Experiment 3 beträgt 2.75.

Tabelle 12: Ergebnisse der Varianzanalyse

Dependent Variable	Samenflecken bonitur				
Source	DF	Sum of Squares	Mean	Square	Pr>F
Model	407	1445.361014	3.551256	7.82	<.0001
Error	391	177.572653	0.454150		
Corrected Total	798	1622.933667			
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	Sfbon Mean	
	0.890585	24.48619	0.673907	2.752190	

source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr>F
rep (jahr)	8	7.427469	0.9284184	2.04	0.0404
jahr	7	181.6755675	25.9536525	57.15	<.0001
geno	49	875.9912132	17.8773717	39.36	<.0001
jahr*geno	343	376.4953810	1.0976542	2.42	<.0001

In Tabelle 13 sind die Boniturmittelwerte der untersuchten 8 Jahre aufgelistet. Die höchste Bonitur hat das Jahr 2011 (3,57), die niedrigste das Jahr 2013 (2,15). Eine aufsteigende Reihung ergibt folgende Reihenfolge: 2013<2007<2010<2009<2012<2008<2005<2011.

Tabelle 13: durchschnittliche Boniturwerte der Samenschalenverfärbung in den einzelnen Jahren

Jahr	Durchschnittlicher Boniturwert
2005	3,19
2007	2,18
2008	3,02
2009	2,59
2010	2,39
2011	3,57
2012	2,95
2013	2,15

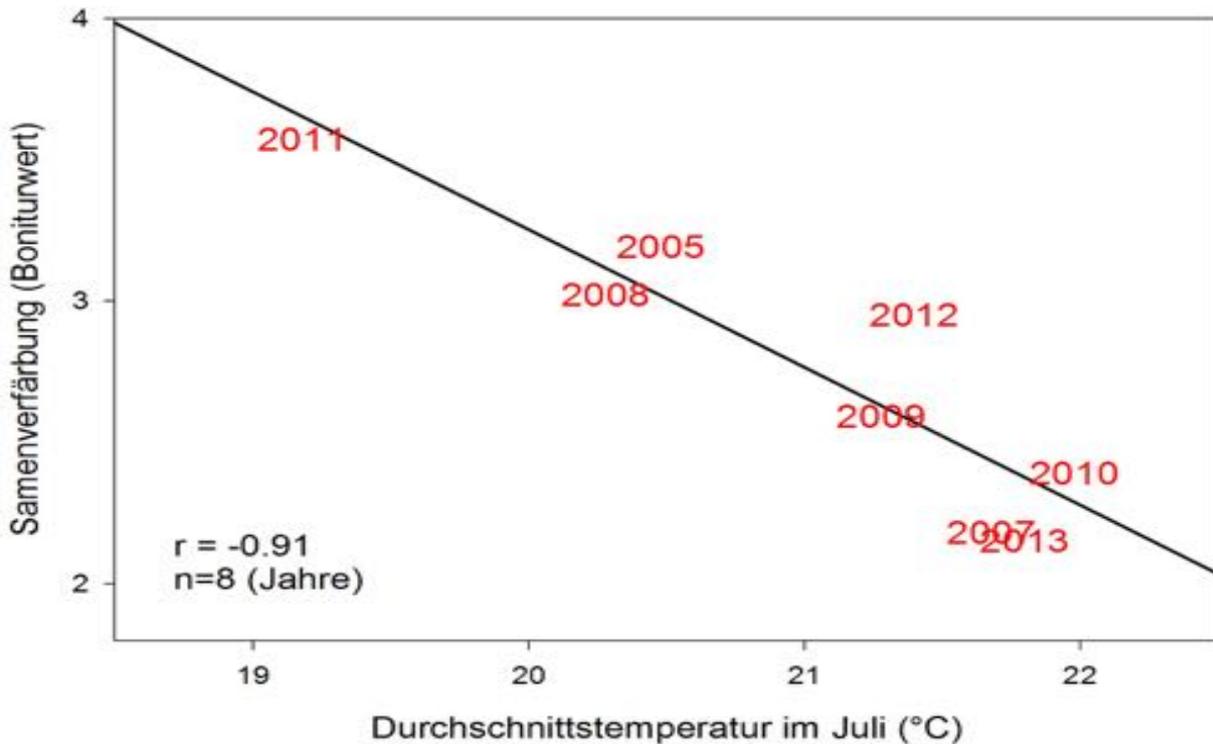


Abbildung 8: Einfluss des Julimittels auf die Samenverfärbung in 8 Versuchsjahren

Aus Abbildung 8 ist sichtbar, wie stark die mittleren Julitemperaturen zur Blüte die Samenschalenverfärbung beeinflussen, so fällt besonders das Jahr 2011 auf, in welchem der Juli kühl war und dadurch der Anteil verfärbter Sojabohnen sehr hoch ist. Dem entgegen stehen die Jahre 2007, 2010 und 2013, mit sehr hohen Temperaturen im Juli, welche im Schnitt um 1,5 Boniturstufen besser benotet wurden als das Jahr 2011.

Es ergab sich eine negative signifikante Korrelation ($r = -0,910$) zwischen den Monatsmitteln der Temperatur im Juli und der Samenschalenverfärbungen. Im September liegt eine positive Korrelation vor ($r = 0,656$) zwischen Temperatur und Samenschalenverfärbungen. Die übrigen Monate (Mai, Juni und August) zeigten keine signifikante Korrelation zur Samenschalenverfärbung.

Tabelle 14: Korrelation des Monatsmittels (Mai-September) mit der Samenschalenverfärbung

Jahr	Mai	Juni	Juli	August	September	Boniturwert
2005	15,7	18,6	20,5	18,7	16,2	3,19
2007	16,3	20,6	21,7	20,5	13,7	2,18
2008	15,5	19,7	20,3	20,2	14,4	3,02
2009	15,7	17,5	21,3	21,3	17,5	2,59
2010	14,3	18,4	22	19,5	14,3	2,39
2011	15,2	19,4	19,2	20,9	17,8	3,57
2012		20,2	21,4	21,6	16,7	2,95
2013		18	21,8	20,4	14,8	2,15
	-0,109	0,185	-0,910	-0,008	0,656	Korrelation von Boniturwerten und Temperaturen
	n.s	n.s	<0.0001	n.s	0,04	Signifikanz-Beschreibung

Abbildung 9 zeigt den Verlauf der Korrelationskoeffizienten zwischen den gleitenden Mittelwerte über 15, 10 und 5 Tage. Auch hier wird klar die signifikant negative Korrelation im Juli/August sichtbar und im September eine signifikant positive Korrelation. Beim 15-tägigen Mittelwert liegt eine negative Korrelation von 10. bis 19.Juli und von 2. bis 4.August. Eine positive Korrelation liegt von 18.August bis 5.September vor. Beim 10-tägigen gleitenden Mittelwert liegt eine negative Korrelation von 14. bis 21. Juli und von 4. bis 9. August vor. Eine positive Korrelation liegt von 22.August bis 7.September vor. Beim 5-tägigen gleitenden Mittelwert liegt von 17. bis 23. Juli und von 7. bis 9. August eine negative Korrelation vor. Positiv korrelieren die Werte von 26. August bis 11.September.

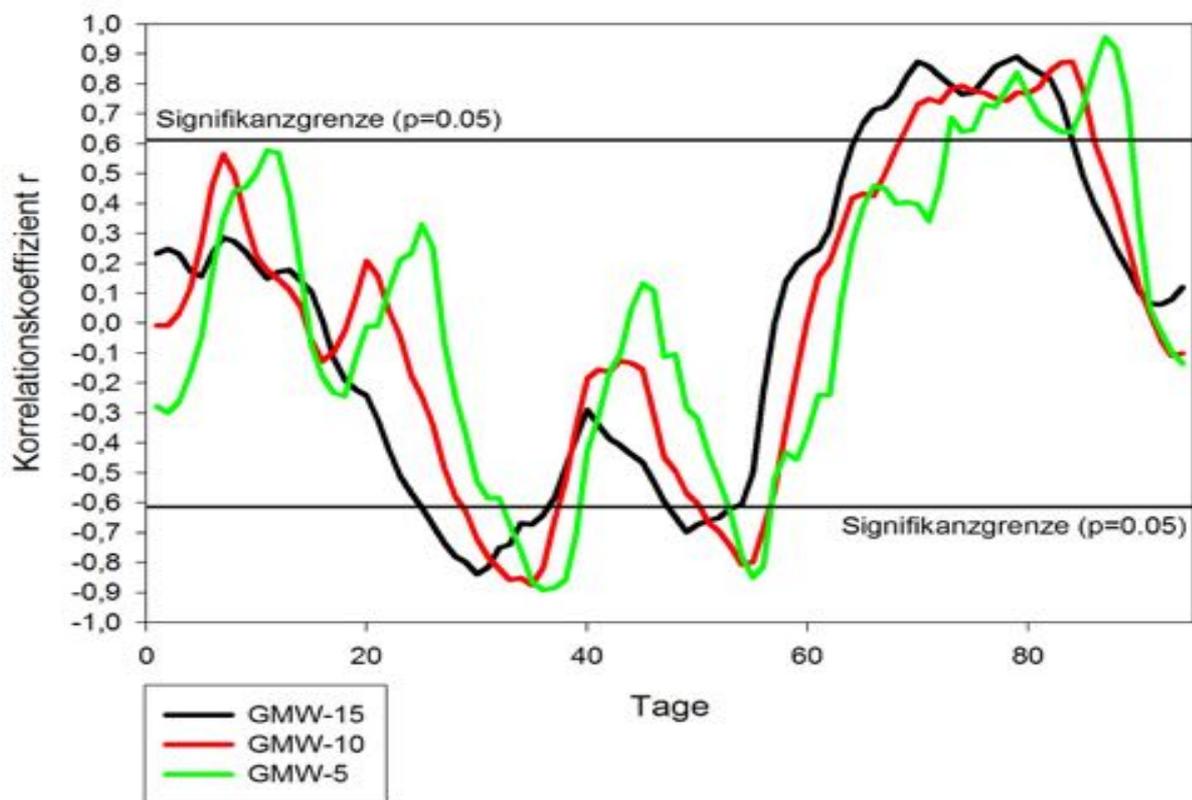


Abbildung 9: Korrelation der gleitenden Mittelwerte (Tag 0 = 15. Juni)

In Tabelle 15 sind die Boniturmittelwerte aller 50 Genotypen des Experiments „Proteinscreening 2“ aufgelistet. Die niedrigsten Bonituren erreichten folgende Genotypen: GLS10 Aveline (1,37) und GF4X-21-1-1, GF4X-21-1-2, GF2X-24-4-4 (1,43), die höchste Bonitur erhielten GL11 Estel (6,06), Cardiff (5,75) und Lambton (5,18).

Tabelle 15: Durchschnittliche Boniturwerte der Samenschalenverfärbung der 50 Genotypen über 8 Jahre

Nr.	Genotyp	Boniturwert
1	GE26X-915-2-4	2.62
2	GF2X-24-4-4	1.43
3	GF2X-9-2-2	4.81
4	GF2X-9-2-3	1.93
5	GF4X-21-5-2	1.56
6	GF2X-24-5-2	2.81
7	GF2X-9-1-3	1.87

8	GF2X-9-1-4	2.31
9	GF2X-9-1-7	2.56
10	GF4X-21-1-1	1.43
11	GF4X-21-1-2	1.43
12	GF4X-21-1-3	2.00
13	GF4X-21-5-3	2.31
14	GF4X-21-5-4	2.50
15	GH28X-27	2.43
16	GH13X-1-4	3.31
17	GH17X-23-1	2.00
18	GH17X-23-3	1.93
19	GH17X-23-4	2.56
20	GG2X-45-2	2.56
21	GF11X-2-4	2.81
22	GG2X-30-2	2.50
23	GH12X-928-3	2.06
24	GH12X-906-3	2.68
25	GG2X-276-2	2.56
26	GG2X-166-4	2.56
27	GH3X-15	3.00
28	GG2X-242-1	2.68
29	GH12X-891-2	1.43
30	Sundance	2.62
31	GLS2 Toliman	3.87
32	GLS3 20274	2.31
33	GLS4 KuxCer kfrei	3.06
34	GLS7 KuxCer kfrei	2.68
35	GLS8 GH3X-15-4-5	2.81
36	GLS9 7545/87xLabr	2.18
37	GLS10 Aveline	1.37
38	GL8 Gallec	3.68
39	GL9 Idefix	3.81

40	GL10 Vanessa	3.00
41	GL11 Estel	6.06
42	GL12 GL201 M.BellaxProgress	2.06
43	GL13 GL506 Josefine	2.50
44	GL14 GL601 M6x102xBalesto	2.18
45	Gallec	3.50
46	OAC Erin	2.43
47	Essor	4.86
48	Apache	3.00
49	Cardiff	5.75
50	Lambton	5.18

5. Diskussion

5.1 Experiment 1 (GPX - Sato)

Die Ergebnisse des Experiments GPX-Sato zeigen, dass es eine starke genetische Variabilität, bezüglich der Anfälligkeit gegenüber Samenschalenverfärbungen gibt. So gab es insgesamt 13 Genotypen, welche in allen 3 Jahren keinerlei Verfärbungen aufwiesen und mit der niedrigsten Note 1 bonitiert wurden. Jedoch stammen diese 13 aus allen 4 Kreuzungsvarianten. Es fällt auf dass die Kreuzung 4 (GL601/Vinton 81) als einzige nicht unter den 25 höchst bonitierten Genotypen vertreten war, aber unter den 25 am niedrigsten bonitierten mit 11 Genotypen vertreten war. Bei Betrachtung der Kreuzungseltern von Kreuzung 4 wird sichtbar dass auf Vaterseite die späte amerikanische Sorte Vinton 81 (I) und auf Mutterseite die BOKU-Linie GL601 (00) steht (siehe Tabelle 2). Im spätreifen Vater könnte ein Grund für geringe Anfälligkeit auf Samenschalenverfärbungen liegen, da nach *Kurosaki et al. (2004)* spätblühende Sorten kältetoleranter sind, da sie erst nach dieser kritischen Phase Anfang/Mitte Juli blühen. Die Genotypen aus Kreuzung 4 reifen aber dennoch unter mitteleuropäischen Klimabedingungen aus, da sie auf der Mutterseite die mittelfrühe Linie GL601 haben. Kreuzung 4 ist auch die homogenste Kreuzung, in der die Streuung der Bonitur am geringsten ist. Ganz anders ist dies bei Kreuzung 2, welche als Mutter die mittelreife Eссор (00) hat, welche aber sehr anfällig ist. Dies geht aus den Ergebnissen von Experiment 3 (ProteinScreening2) hervor, wo Eссор mit 4,86 bonitiert ist. Auf der Vaterseite steht die Linie GF4X-21-5-2, ein Genotyp aus dem Genotypenset ProteinScreening2. Auch ist Kreuzung 2 die inhomogenste der 4 Kreuzungen, mit einer breiten Streuung der

Genotypen. Aus Kreuzung 2 gibt es sowohl 6 Genotypen mit Bonitur 1, aber auch die zwei höchst bonitierten Genotypen (Bonitur 8) stammen aus derselben Kreuzung. Ähnlich wie Kreuzung 2 hat auch Kreuzung 3 Eссор als Mutter, als Vater aber gleich wie Kreuzung 4 Vinton 81. Die mittleren Bonituren von Kreuzung 2 (3,61) und Kreuzung 3 (3,39) sind zwar recht ähnlich, jedoch ist die Streuung der Werte innerhalb der Kreuzung 3 viel geringer als in Kreuzung 2. Diese homogenere Nachkommenschaft ist sicher auf Vinton81 zurückzuführen da auch Kreuzung 4 im Vergleich sehr homogen ist. Kreuzung 1 hat als Mutter die mittelanfällige Gallec (000) und als Vater GF4X-21-5-2. Diese Kreuzung ist sehr inhomogen in der Samenschalenverfärbung, hat aber nach Kreuzung 4 (2,2) die zweit niedrigste mittlere Bonitur 3,06. Aus dieser Übersicht wird sichtbar dass die genetische Variabilität sehr groß ist und es genug Linien gibt aus denen kältetolerante, auf Samenschalenverfärbungen nicht anfällige Sorten selektiert werden können. Nach *Vollmann (2006)* ist es nicht schwer nach Merkmalen wie Hilum- und Samenschalenfarbe zu selektieren, da es sich dabei um monogen vererbte Merkmale handelt, bei welchen sehr schnell ein Zuchterfolg zu erzielen ist.

5.2 Experiment 2 (AGES - Rückstellmuster)

Wie bereits in Experiment GPX – Sato zeigten auch die untersuchten Sorten im Experiment AGES starke Genotypenunterschiede. Der Großteil der Sorten erzielte gute bis sehr gute Boniturnoten (89,2% erhielten Bonitur 1 oder 2). Dies zeigt, dass es bereits jetzt kältetolerante, auf Samenschalenverfärbungen nicht anfällige Sorten gibt. Nur 5 von 35 Sorten zeigten mit hohen Boniturwerten eine starke Anfälligkeit auf Samenschalenverfärbungen.

Grgić et al. (2012) konnten einen Unterschied im Tausendkorngewicht zwischen verfärbten und nicht verfärbten Körnern innerhalb einer Probe nachweisen, das konnte in diesem Versuch nicht verifiziert werden.

Die verfärbten und nicht verfärbten Samen unterschieden sich aber in der Keimfähigkeit. Die verfärbten Samen hatten in allen Proben eine höhere Keimrate. Zum gleichen Schluss kam auch *Dos Santos et al. (2007)* ; hier zeigten braune Samen eine signifikant höhere Keimfähigkeit als gelbe. Dies kann durch die in der Samenschale eingelagerten Anthocyane und Phenole (*Morrison, 1998*), welche als Antioxidantien die Alterung der Samen verlangsamen beziehungsweise eine allgemein keimfördernde Wirkung haben könnten, erklärt werden. Zu dieser Annahme kommen wir durch den Abgleich unserer Keimfähigkeitsergebnisse mit den amtlichen Keimfähigkeitsergebnissen von 2012, wo stark verfärbte Proben die Keimfähigkeit trotz Lagerung auf dem gleichen Niveau halten konnten.

5.3 Experiment 3 (ProteinScreening2)

Es konnte festgestellt werden, dass die Samenschalenverfärbung von Jahr zu Jahr unterschiedlich stark auftritt. Besonders viele Verfärbungen traten auf, wenn im Juli zur Blüte der Sojabohne die Temperaturen unter 15°C fielen, denn bei dieser Temperatur kommt es zum sogenannten Kühlestress (chilling) (vgl. Schori et al. 2006, Kasai et al. 2009, Benitez et al. 2004) welche zu einer Einlagerung von Anthocyanen und anderen Phenolen in der Epidermisschicht der Samenschalen führen.

Dies stimmt auch mit der Korrelation der jeweiligen mittleren Monatstemperatur überein, wo in unseren Untersuchungen ein signifikanter Einfluss des Julimittels auf das Auftreten der Samenschalenverfärbungen vorlag. Nach Githiri et al. (2008) ist der Einfluss des chilling Effekts am stärksten am 4. Tag nach Blühbeginn. Bei Untersuchungen von Funatsuki et al. (2008) sollen die Blüten am 8.Tag am empfindlichsten gegenüber niedrigen Temperaturen sein. Die Korrelation der gleitenden Mittelwerttemperaturen während der Vegetation wirft aber noch zusätzliche Fragen auf. Wie bereits erwähnt, wird auch hier eine negative Korrelation Anfang-Mitte Juli deutlich. Dazu hinzu kommt eine kurze Periode negativer Korrelation Anfang August, die meist nur 3 Tage dauert. Und zuletzt eine lange Periode positiver Korrelation von Ende August bis Mitte September. Wie eingangs erwähnt gibt es in der Literatur genug Beweise für einen Einfluss der Temperatur zu Blühbeginn auf die Samenschalenverfärbung, aber auf spätere Zeitpunkte bezogen war keine entsprechende Literatur zu finden, die darauf hinweisen würde. Es scheint, es gäbe es wiederholt Anfang August Kälteeinbrüche, auf welche die zarten Bohnen in den Hülsen sehr empfindlich reagieren. Im Herbst dagegen führen höhere Temperaturen zu stärkerem Auftreten der Samenschalenverfärbungen, was dahingehend interpretiert werden kann, dass ein warmer Herbst bereits entstandene Verfärbungen am Korn besser ausdiffundieren lässt, da die Anthocyaneinlagerung ungehindert ablaufen kann.

Die 50 untersuchten Genotypen, zeigen dass es durchaus Kreuzungen gibt die gegenüber Samenschalenverfärbungen unanfällig sind (GLS S10 Aveline 1,37 und GF4X-21-1-1, GF4X-21-1-2, GF2X-24-4-4 mit 1,43). Diese Genotypen können die Grundlage für zukünftige Sorten sein, welche auch unter den kühlen Anbaubedingungen Mitteleuropas ein helles, rein gelbes Ernteprodukt liefern können. Denn unter den heute am Markt befindlichen Sorten gibt es einige, die sehr stark anfällig sind (Essor 4,86; Cardiff 5,75; Lambton 5,18) und so immer wieder zu Akzeptanzproblemen seitens der Verarbeiter führen, da Sojabohnen mit dunkler Pigmentierung durch die enthaltenen Anthocyane bei Verarbeitung zur Verfärbung von Tofu und anderen Produkten führen (Vollmann, 2006).

6. Schlussfolgerung

Abschließend betrachtet ist zu sagen dass eine Selektion auf Samenschalenverfärbungen-Toleranz möglich ist und es genug geeignete Genotypen dafür gibt. Die Samenschalenverfärbung an sich ist ein rein optisches Makel, da es weder die Inhaltsstoffe Protein, Öl und Saccharose (Grgic et al., 2012) noch, wie aus dieser Arbeit hervorgeht, die Keimfähigkeit negativ beeinflusst. Die Ergebnisse der Keimfähigkeit sind noch nicht als repräsentativ zu sehen, da die Zahl der Beobachtungen (n=15) noch zu gering ist, um endgültige Aussagen treffen zu können. Hier sind noch weitere umfangreichere Untersuchungen notwendig. Im Saatgutbereich kann man fast sagen, dass eine Verfärbung erwünscht ist, da die Keimfähigkeit auch bei längerer Lagerung auf einem hohen Niveau erhalten bleibt. Im Speisesojabereich sind aber jegliche Verfärbungen der Schale unerwünscht und es ist für diesen Bereich notwendig, unanfällige, aber dennoch ertragreiche Sorten zu züchten.

Zusammenfassung

Die Sojabohne zählt auf Grund ihres Protein- und Eiweißgehalts zu einer der bedeutendsten Kulturpflanzen weltweit. In der menschlichen Ernährung nimmt die Sojabohne auch außerhalb Asiens eine immer größere Rolle ein. Das Ziel dieser Studie war es die Ursachen von Samenschalenverfärbungen zu untersuchen und kältetolerante Genotypen im vorhandenen Zuchtmaterial zu finden. Es wurden Genotypen aus drei Experimenten auf ihre Anfälligkeit auf Samenschalenverfärbung untersucht. In Experiment 1 wurden die Nachkommenschaften von 4 Kreuzungen auf Samenschalenverfärbung untersucht. Bei Experiment 2 wurden Tausendkorngewicht und Keimfähigkeit ermittelt. Bei Experiment 3 wurden Korrelationen mit der Temperatur errechnet.

Es gibt in allen drei Experimenten signifikante genotypische Unterschiede in der Anfälligkeit auf Samenschalenverfärbungen. In Experiment 1 waren die Genotypen der Kreuzung 4 (GL601 x Vinton81) die am wenigsten anfälligen. Bei Experiment 2 gab es 5 Sorten welche gar keine Anfälligkeit für Verfärbungen zeigten. Experiment 3 ergab große jahresbedingte Unterschiede, was auf die Temperaturen zurückzuführen ist. Verfärbte Sojabohne haben eine höhere Keimfähigkeit (+1-9%) als nicht verfärbte. Um aber präzise Aussagen machen zu können sind noch weitere Untersuchungen zur Keimfähigkeit notwendig, da der Probenumfang (n=15) klein war. Im Tausendkorngewicht unterscheiden sich verfärbte und nicht verfärbte Körner aber nicht. Das Auftreten der Samenschalenverfärbungen ist stark von der Umwelt abhängig. In Jahren mit kühlen Julitemperaturen war der Anteil der verfärbten Sojabohnen signifikant höher als in Jahren mit hohen Temperaturen. Unter den 50 Genotypen von Experiment 3 gab es mehrere Genotypen mit sehr geringer Anfälligkeit auf Samenschalenverfärbungen. Aber die Standardsorten wie Gallec, Eссор und Cardiff die ebenfalls Teil dieses Sets waren, zeigten verhältnismäßig hohe Anfälligkeiten.

Zusammenfassend ist zu sagen dass diese Arbeit wertvolle Ergebnisse für die weitere Selektion kältetoleranter Sorten liefert und den Bedarf nach weiteren Untersuchungen in diesem Bereich verdeutlicht.

7. Literaturübersicht

- Bachman MS, Tamulonis JP, Nickell CD, Bent AF, 2001, Molecular markers linked to brown stem rot resistance genes, *Rbs1* and *Rbs2*, in soybean. *Crop Sci* 41:527–535
- Benitez, E.R, H. Funatsuki, Y. Kaneko, Y. Matsuzawa, S.W. Bang & R. Takahashi, 2004, Soybean maturity gene effects on seed coat pigmentation and cracking in response to low temperatures, *Crop Sci.* 44:2038-2042.
- Bernard, R.L. und M.G. Weiss, 1973, Qualitative genetics. In: Caldwell, B.E. (ed.) *Soybean: Improvement, Production, and Uses*, American Society of Agronomy, Madison, pp. 117–154.
- Bundesamt für Ernährungssicherheit, 2014, Beschreibende Sortenliste Sojabohne, veröffentlicht auf: <http://www.baes.gv.at/de/pflanzensorten/oesterreichische-beschreibende-sortenliste/mittel-und-grosssamige-leguminosen/sojabohne/> (4.Dezember 2014)
- Burton, J., D. Israel, und P. Bishop, 2006, Registration of “Nitrasoy” soybean. *Crop Science* 46, 2709-2710.
- Dos Santos, E.L., J.N. Pola, A.S. Do Rego Barros, und C.E.C. Prete, 2007, Soybean coat variation and its influence on the physiological quality and chemical composition, *Revista Brasileira de Sementes*, 29, 20-26.
- Don, R., 2013: *ISTA Handbook on Seedling Evaluation, Third Edition with Amendments 2013*, published by: The International Seed Testing Association (ISTA) Bassersdorf, Switzerland.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014, Soybean production in Europe, veröffentlicht auf: <http://www.faostat.fao.org> (6.Dezember 2014)
- Funatsuki, H. & S. Ohnishi, 2009, Recent Advances in Physiological and Genetic Studies on Chilling Tolerance in Soybean. *JARQ* 43, 95-101.
- Githiri, S.M., D. Yang, N.A. Khan, D. Xu, T. Komatsuda & R. Takahashi, 2007, QTL analysis of low temperature induced browning in soybean seed coats, *J. Heredity* 98:360-366.
- Graef GL. und Specht JE., 1989, Fitting the niche food grade soybean production: a new opportunity for Nebraska soybean producers. Nebraska Department of Agriculture, Lincoln, pp 18–27
- Grgic, I. Miodic J., und F. Wolfhard, 2012, Untersuchungen zur Verfärbung der Samenschale bei Sojabohnen. Bachelorarbeit – Universität für Bodenkultur Wien.
- Hobbs, H. A., Hartman, G. L., Wang, Y., Hill, C. B., Bernard, R. L., Pedersen, W. L., & Domier, L. L. 2003. Occurrence of seed coat mottling in soybean plants inoculated with *Bean pod mottle virus* and *Soybean mosaic virus*. *Plant Dis.* 87:1333-1336.

- Kasai, A., S. Ohnishi, H. Yamazaki, H. Funatsuki, T. Kurauchi, T. Masumoto, S. Yumoto und M. Senda, 2009, Molecular Mechanism of Seed Coat Discoloration Induced by Low Temperature in Yellow Soybean. *Plant & Cell Physiology* 50(6): 1090-1098.
- Kurosaki, H., S. Yumoto und I. Matsukawa, 2004, Correlation of Cold-weather Tolerance with Pubescence Color and Flowering Time in Yellow Hilum Soybeans in Hokkaido, *Breeding Science* 54:303-311.
- L'Hocine, L. and J.I. Boye, 2007, Allergenicity of soybean: new developments in identification of allergenic proteins, cross-reactivities and hypoallergenization technologies. *Critical reviews in food science and nutrition*, 47: 127-43.
- Lieberei, R. und C. Reisdorff, 2007, *Nutzpflanzen*. 8.Auflage, Stuttgart, Georg Thieme Verlag KG, 126.
- Mechtler, K., 2010, Sorteneignung für die Speisesojaproduktion. In: *Arge für Lebensmittel-Veterinär- und Agrarwesen (Hrsg.): Vom Lebensmittel zum Genussmittel – was essen wir morgen?* 31.5-1.6.2010, Wels. Veröffentlicht von: ALVA. 142.
- Morrison, M.J., L.N. Pietrzak & H.D. Voldeng, 1998, Soybean seed coat discoloration in cool season climates, *Agron. J.* 90:471-474.
- Ruckenbauer, P., 2008, Haberlandt und die Geschichte der Sojabohne in Österreich und Europa, In: *Verein Soja aus Österreich und Univ. f. Bodenkultur (Hrsg.): 135 Jahre Sojabohnen und Sojaforschung 10.12.2008*, Wien. Veröffentlicht von: Verein Soja aus Österreich, auf www.soja-aus-oesterreich.at/downloads/Tagungsband_Soja_Symposium.pdf (1.Dezember 2014).
- Sato, T., M. Van Schoote, H. Wagenristl, und J. Vollmann, 2014: Effects of divergent selection for seed protein content in high-protein vs. Food-grade populations of early maturity soybean. *Plant Breeding* 133, 74-79
- SAS Institute Inc., 2009: SAS OnlineDoc ? 9.2. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Schori, A., C.-A. Betrix und R.Charles, 2006, Anpassung der Sojabohne an niedrige Temperaturen und geringe Temperatursummen, Agroscope Changins-Wädenswil. Eidgenössische Forschungsanstalt für Pflanzenbau, In: *Bericht über die 56.Tagung 2005 der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs*, HBLFA Raumberg-Gumpenstein, 22-24.November 2005, 43.
- Schori, A., R. Charles und D. Peter, 2003, Sojabohne: Züchtung, Agronomie und Produktion in der Schweiz, eidgenössische Forschungsanstalt für Pflanzenbau Changins. *Agrarforschung*. 7.
- Srinivasan, A. & J. Arihara, 1994, Soybean seed discoloration and cracking in response to low temperatures during early reproductive growth, *Crop Sci.* 34:1611-1617.

Statistik Austria, 2013, Anbau auf dem Ackerland. veröffentlicht auf: www.statistik.at (5.Dezember 2014).

Takahashi, R. & J. Abe, 1999, Soybean maturity genes associated with seed coat pigmentation and cracking in response to low temperatures, *Crop Sci.* 39:1657-1662.

Takahashi, R., 1997, Association of soybean genes I and T with low temperature induced seed coat deterioration, *Crop Sci.* 37:1755-1759.

Van Schoote, M., 2012, Breeding of food grade soybeans, Masterarbeit, Universität Gent.

Vollmann, J., 2006: Speisesojabohnen und deren besondere Qualitätsansprüche. *INFORM* 1/06, 13-14.

Vrataric, M. und A. Sudaric, 2008, Soja – *Glycine max* (L.)Merr. 2.überarbeitete und ergänzte Auflage, Osijek: IBL Osijek. 73.

Zhang, B., P. Chen, S.L. Florenz-Palacios, A. Shi, A. Hou, T. Ishibashi, 2010, Seed quality attributes of food-grade soybeans from the U.S and Asia. *Euphytica* 173, 388-393.