Department für Nutzpflanzenwissenschaften
Abteilung Pflanzenzüchtung
der
Georg-August-Universität Göttingen

Genetische Analysen für eine markergestützte Verbesserung der Trockenstresstoleranz von Winterackerbohnen

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der
Fakultät für Agrarwissenschaften
der
Georg-August-Universität Göttingen

vorgelegt von

Gregor Christian Welna

geboren in Preetz in Holstein

Göttingen, im Mai 2014

D7

Referent: Prof. Dr. Wolfgang Link

Korreferent: Prof. Dr. Johannes Isselstein

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Mai 2014

Meinen Eltern.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis I
Abbildungsverzeichnis IV
Tabellenverzeichnis VII
Abkürzungsverzeichnis IX
1. Einleitung 1
2. Stand der Forschung 2
2.1. Trockenstress bei Ackerbohnen 2
2.2. Kopplungskarten der Ackerbohne 4
2.3. Assoziationsanalyse 5
3. Material und Methoden 7
3.1. Genetisches Material 7
3.2. Genotypisierung 8
3.2.1. AFLP 8
3.2.1.1. DNS Extraktion 8
3.2.1.2. Multiplex Polymerasekettenreaktion 9
3.2.1.3. Verarbeitung der PCR-Daten 9
3.2.2. SNP 10
3.2.3. Kartierung der molekularen Marker 10
3.2.4. Assoziationsanalyse 11
3.3. Phänotypisierung 12
3.3.1. Versuchsstandorte 12
3.3.1.1. Göttingen Reinshof 12
3.3.1.2. Groß Lüsewitz 13
3.3.1.3. Hohenlieth 13
3.3.1.4. Roßleben 15
3.3.2. Feldversuche 16
3.3.2.1. Vorversuche zur chemischen Sikkation mit Kaliumjodid 16
3.3.2.1.1. Göttingen Reinshof 2010/2011 16
3.3.2.1.2. Hohenlieth 2010/2011 17
3.3.2.2. Hauptversuche zur chemischen Sikkation 17
3.3.2.2.1. Göttingen Reinshof 2011/12 17
3.3.2.2.2. Hohenlieth 2011/12 18
3.3.2.2.3. Roßleben 2012/2013 19
3.3.2.3. Versuche mit Rain-Out-Sheltern 20

3.3.2.3.1. Göttingen Reinshof 20
3.3.2.3.1.1. 2010/2011 20
3.3.2.3.1.2. 2011/2012 20
3.3.2.3.1.3. 2012/2013 21
3.3.2.3.2. Groß Lüsewitz 21
3.3.2.3.2.1. 2010/11 22
3.3.2.3.2.2. 2012 22
3.3.2.3.2.3. 2012/13 22
3.3.2.3.3. $\Delta^{13}C$ 23
3.3.2.4. Mehrortige Auswertung der Rain-Out-Shelter-Versuche 23
3.3.2.5. Phänotypisierung des P-Satzes 24
3.3.2.5.1. Gehalt an freiem Prolin in der Trockenmasse 26
3.3.2.5.2. Gesamtgehalt löslicher Zucker in der Trockenmasse 27
3.3.2.5.3. Membranstabilitätsindex 27
3.3.2.5.4. Chlorophyllgehalt der Blätter 27
3.3.2.5.5. Blattwassergehalt 28
3.3.2.5.6. Glycinbetaingehalt in der Trockenmasse 28
3.3.3. Verarbeitung und statistische Auswertung der Daten 29
4. Ergebnisse 30
4.1. Phänotypisierung des Physiologiesatzes 30
4.2. Molekulare Marker 32
4.2.1. Kartierung der Marker 32
4.2.2. Gametenphasenungleichgewicht 34
4.2.3. Assoziationsanalyse 37
4.3. Ergebnisse der Feldversuche 38
4.3.1. Hauptversuche zur chemischen Sikkation 38
4.3.1.1. Hohenlieth 2011/2012 38
4.3.1.2. Roßleben 2012/2013 42
4.3.2. Versuche mit Rain-Out-Sheltern 45
4.3.2.1. Göttingen 45
4.3.2.1.1. Göttingen 2010/2011 45
4.3.2.1.2. Göttingen 2012/2013 48
4.3.2.2. Groß Lüsewitz 52
4.3.2.2.1. Groß Lüsewitz 2012 52
4.3.2.3. Groß Lüsewitz 2012/2013 56

4.4. Mehrortige Auswertungen 60
4.4.1. Ergebnisse der mehrortigen Auswertung der Rain-Out-Shelter-Versuche ... 60
4.4.2. $\Delta^{13}C$ und Ertragsergebnisse der Rain-Out-Shelter 62
4.5. Physiologie- und Feldversuche im Vergleich 63
5. Diskussion 65
5.1. Markerkartierung und Gametenphasenungleichgewicht 65
5.2. Trockenstress und Sikkation im Feld 69
5.3. Physiologie, Trockenstress und Assoziationsanalyse 75
5.4. Explorative Analyse der physiologischen Merkmale 78
6. Fazit und Ausblick 79
7. Zusammenfassung 80
7.1. Deutsch 80
7.2. Englisch 81
Literaturverzeichnis XI
Anhang XVI
Danksagung XLVI
Lebenslauf XLVII
Erklärung XLIX

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Wetterdaten Göttingen 2011. Monatliche Mittelwerte der Temperatur und des Niederschlags Januar 2011 bis Dezember 2011 sowie die langjährigen Mittelwerte des Niederschlags am Standort (DWD, persönl. Mitteilung, 2013). 12
Abbildung 2: Wetterdaten Göttingen 2012. Monatliche Mittelwerte der Temperatur und des Niederschlags Januar 2012 bis Dezember 2012 sowie die langjährigen Mittelwerte des Niederschlags am Standort (DWD, persönl. Mitteilung, 2013). 13
Abbildung 3: Wetterdaten Hohenlieth 2011. Monatliche Mittelwerte der Temperatur und des Niederschlags Januar 2011 bis Dezember 2011 (NPZ, persönl. Mitteilung, 2013). 14
Abbildung 4: Wetterdaten Hohenlieth 2012. Monatliche Mittelwerte der Temperatur und des Niederschlags Januar 2012 bis Dezember 2012 (NPZ, persönl. Mitteilung, 2013). 14
Abbildung 5: Entwicklung der Minimal- und Maximaltemperaturen im Winter 2011/2012 am Standort Göttingen Reinshof (DWD, persönl. Mitteilung, 2013)..... 18
Abbildung 6: Organigramm der Phänotypisierung eines Topfes mit zwei Pflanzen eines Genotyps. 26
Abbildung 7: Histogramm der Markerabstände [cM] auf der gesamten genetischen Karte. 33
Abbildung 8: Abfall des Gametenphasenungleichgewichts im Assoziationssatz als r^2 mit zunehmender Markerdistanz [cM] ermittelt im Kartierungssatz. 36
Abbildung 9: Ertrag im Parzellenkern [g] des F-Satzes in der Kontrollvariante. Hohenlieth 2011/2012. GD (GxB) 5 % = 103,12 g. Sommerbohnen in violett dargestellt. 40
Abbildung 10: Parzellenkernertrag [g] bei Sikkation mit 0,5 % KJ-lösung im Vergleich zur Kontrolle. F-Satz. Hohenlieth 2011/2012. GD(GxB) 5 % = 103,12 g, $r_{Spearman}$ F-Satz = 0,300*, $r_{Spearman}$ V-Satz = 0,201. Die im V-Satz nicht enthaltenen Sommerbohnen sind violett dargestellt. 40
Abbildung 11: Parzellenkernertrag [g] bei Sikkation mit 1 % KJ-lösung im Vergleich zur Kontrolle. F-Satz. Hohenlieth 2011/2012. GD(GxB) 5 % = 103,12 g, $r_{Spearman}$ F-Satz = 0,477** $r_{Spearman}$ V-Satz = 0,414**. Die im V-Satz nicht enthaltenen Sommerbohnen sind violett dargestellt. 41
Abbildung 12: Parzellenkernertrag [g] bei Sikkation mit 2 % KJ-lösung im Vergleich zur Kontrolle. F-Satz. Hohenlieth 2011/2012. GD(GxB) 5 % = 103,12 g, $r_{Spearman}$ F-Satz = 0,355*, $r_{Spearman}$ V-Satz = 0,255. Die im V-Satz nicht enthaltenen Sommerbohnen sind violett dargestellt. 41
Abbildung 13: Ertrag [dt/ha] des F-Satzes in Kontrolle (grün) und in sikkierten (1 % KJ) Parzellen (rot). Roßleben 2012/2013. GD (GxB) 5 % = 4,55 dt/ha. Sommerbohnen mit * gekennzeichnet. 44
Abbildung 14: TKG [g] des F-Satzes in Kontrolle (grün) und in sikkierten (1 % KJ) Parzellen (rot). Roßleben 2012/2013. GD (GxB) 5 % = 35,11 g. Sommerbohnen mit * gekennzeichnet. 44
Abbildung 15: Ertrag [g/Pflanze] des F-Satzes im Rain-Out-Shelter. Göttingen 2011. GD (G) 5 % = 3,91 g/Pflanze. Sommerbohnen in violett hervorgehoben..... 46
Abbildung 16: TKG [g] des F-Satzes im Rain-Out-Shelter. Göttingen 2011. GD (G) 5 % = 50,25 g..... 46
Abbildung 17: Durchschnittlicher Einzelpflanzenertrag [g] eines Prüfglieds in Abhängigkeit seiner Pflanzenlänge [cm] unter Trockenstress. V-Satz. Göttingen 2011. $r_{Spearman}$ V-Satz =

0,424**, $r_{Spearman}$ F-Satz = 0,222. GD (G) 5 % des Ertrags = 3,91 g. GD (G) 5 % für Pflanzenlänge = 8,8 cm. 47
Abbildung 18: Ertrag [g/Pflanze] des V-Satzes in der bewässerten Kontrolle (grün) und unter Stress (rot). Beide Behandlungen im Rain-Out-Shelter. Göttingen 2012/2013. GD (GxB) 5 % = 5,48 g, $r_{Spearman}$ = 0,766**. 50
Abbildung 19: : TKG [g] des V-Satzes in der Kontrolle (grün) und unter Stress (rot). Beide Behandlungen im Rain-Out-Shelter. Göttingen 2012/2013. GD (GxB) 5 % = 69,22 g, $r_{Spearman}$ = 0,898**. 51
Abbildung 20: Durchschnittlicher Einzelpflanzenertrag [g] in bewässerter Kontrolle (grün) und Stressvariante (rot) in Abhängigkeit der Pflanzenlänge [cm]. Beide Behandlungen im Rain-Out-Shelter. V-Satz. Göttingen 2013. Kontrolle $r_{Spearman}$ =0,660** und Stress $r_{Spearman}$ =0,599**. GD (GxB) 5 % des Ertrags = 5,48 g. GD (GxB) 5 % für Pflanzenlänge = 19,47 cm.. 51
Abbildung 21: Ertrag [g/Pflanze] des F-Satzes in der Kontrolle (grün) und im Rain-Out-Shelter (rot). Groß Lüsewitz 2012. GD (GxB) 5 % = 4,72 g, $r_{Spearman}$ der Behandlungen = 0,415. Sommerbohnen mit * gekennzeichnet. 54
Abbildung 22: TKG [g] des F-Satzes in der Kontrolle (grün) und im Rain-Out-Shelter (rot). Groß Lüsewitz 2012. GD (GxB) 5 % = 57,81 g, $r_{Spearman}$ der Behandlungen = 0,792**. Sommerbohnen mit * gekennzeichnet. 54
Abbildung 23: Durchschnittlicher Einzelpflanzenertrag [g] in bewässerter Kontrolle (grün) und Stressvariante (rot) in Abhängigkeit der Pflanzenlänge [cm]. V-Satz. Standort Groß Lüsewitz 2012. $r_{Spearman}$ V-Satz Kontrolle r=0,601** und Stress r=0,711**, $r_{Spearman}$ F-Satz Kontrolle r=0,562** und Stress r=0,631**. GD (GxB) 5 % des Ertrags = 4,72 g. GD (GxB) 5 % für Pflanzenlänge = 14,36 cm. 55
Abbildung 24: Durchschnittlicher Einzelpflanzenertrag [g] in bewässerter Kontrolle (grün) und Stressvariante (rot) in Abhängigkeit der Anzahl Hülsen pro Pflanze. V-Satz. Standort Groß Lüsewitz 2012. $r_{Spearman}$ V-Satz Kontrolle r=0,795** und Stress r=0,355*, $r_{Spearman}$ F-Satz Kontrolle r=0,773** und Stress r=0,329*. GD (GxB) 5 % des Ertrags = 4,72 g. GD (GxB) 5 % für Hülsen/Pflanze = 3,45 cm. 55
Abbildung 25: Ertrag [g/Pflanze] des F-Satzes in der Kontrolle (grün) und im Rain-Out-Shelter (rot). Groß Lüsewitz 2012/2013. GD (GxB) 5 % = 8,01 g, $r_{Spearman}$ der Behandlungen = 0,268. Sommerbohnen mit * gekennzeichnet. 58
Abbildung 26: TKG [g] des F-Satzes in der Kontrolle (grün) und im Rain-Out-Shelter (rot). Groß Lüsewitz 2013. GD (GxB) 5 % = 82,37 g, $r_{Spearman}$ der Behandlungen = 0,532**. Sommerbohnen mit * gekennzeichnet. 59
Abbildung 27: Tausendkorngewicht [g] in der Kontrollvariante Göttingen 2012/13 (GD (GxB) 5 % = 69,22 g) in Abhängigkeit der Membranstabilität in der Kontrollvariante [%] (GD (G) 5 % = 2,43 %). 64
Abbildung 28: Einzelpflanzenertrag [g] der Stressvariante in Groß Lüsewitz 2012 (GD (GxB) 5 % = 4,72 g) in Abhängigkeit des Gehalts an löslichen Zuckern in der Stressvariante [µmol/g TS] (GD (G) 5 % = 219,59 µmol/g TS). 64
Abbildung 29: Zuordnung der Kopplungsgruppen KG01 und KG04 der GW-Karte zur Kopplungsgruppe LG01 der DOS-Karte auf Basis gemeinsamer SNP-Marker (nur SNP-Marker der GW-Karte dargestellt). Die übrigen Kopplungsgruppenvergleiche sind im Anhang wiedergegeben. Darstellung mit MapChart 2.2 (Voorrips, 2002) realisiert. 66
Abbildung 30: Rain-Out-Shelter vor Stressbeginn in Göttingen. Kontrollvariante. Aufgenommen am 15. Mai 2013. Zu erkennen ist die Tröpfchenbewässerung. 69

Abbildung 31: Mittlerer Einzelpflanzenertrag in Groß Lüsewitz (2012 und 2012/2013) in Abhängigkeit des Parzellenertrages in Roßleben 2012/2013. Die Werte der Kontrollvarianten sind in grün, die Werte der Stressvarianten sind in rot dargestellt. $r_{Spearman}$ (Kontrolle) = 0,313*; $r_{Spearman}$ (Stress) = 0,036..... 73
Abbildung 32: Graphische Darstellung der Kopplungsgruppen der erstellten GW-Karte. Marker, die auf der High-Fidelity-Map kartiert sind in Fettdruck hervorgehoben. SNPs sind rot dargestellt, AFLP schwarz, QTL grün. Darstellung mit MapChart 2.2 (Voorrips, 2002) realisiert. XXVII
Abbildung 34: Vergleich der Kopplungsgruppen der GW-Karte dieser Arbeit mit der unveröffentlichten DOS-Karte auf Basis der gemeinsam verwendeten 111 SNP-Marker (O'Sullivan, persönl. Mitteilung, 2012). Darstellung mit MapChart 2.2 (Voorrips, 2002) realisiert. XXXIII

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Untersuchte Merkmale und Termine im Physiologiesatz je Versuchsreihe. 24
Tabelle 2: Merkmale, ihre Abkürzung, Einheit und der ggf. dazugehörige Rechenweg. 25
Tabelle 3: Modelle der Varianzanalysen der verschiedenen Versuche. 29
Tabelle 4: Ergebnisse[g] der Gitteranalyse für die Phänotypisierung des P-Satzes. 30
Tabelle 5: Grendifferenz 5 %, Mittelwert, Minima und Maxima[a] der phänotypischen Analyse des P-Satzes basierend auf Gitteranalyse. 31
Tabelle 6: Ergebnisse der Markerkartierung. 32
Tabelle 7: Mittleres LD [r^2] aller Markerpaare, aller gekoppelten Markerpaare und aller nicht gekoppelten Markerpaare und mittleres LD [r^2] aller Markerpaare mit signifikantem LD (Bonferroni-korrigiert), wiederum mit und ohne Kopplung. Das LD von Markerpaaren, deren Marker gekoppelt sind ist höher als das LD von Markerpaaren, deren Marker nicht gekoppelt sind. Der Unterschied ist signifikant (gekennzeichnet durch unterschiedliche Buchstaben) bei Betrachtung aller Markerpaare und nicht signifikant bei Betrachtung nur der Markerpaare in signifikantem LD. 35
Tabelle 8: Mittleres LD [r^2] innerhalb der Kopplungsgruppen für alle Markerpaare und für die Gruppe von Markerpaaren, deren LD-Wert nach Bonferroni-Korrektur signifikant war. Signifikante Unterschiede des mittleren LD aller und aller nach Bonferroni-Korrektur signifikanten zu allen Markerpaaren und nach Bonferroni-Korrektur signifikanten LD-Werten der Markerpaare innerhalb einer Kopplungsgruppe sind mit Tukey-HSD-Test ermittelt worden und mit unterschiedlichen Buchstaben kenntlich gemacht. 35
Tabelle 9: Ergebnis der Assoziationsanalyse. 37
Tabelle 10: Gametenphasenungleichgewicht (unterhalb der Diagonale) und dessen p-Wert (oberhalb der Diagonale) der QTL-assoziierten Markerloci. 37
Tabelle 11: Ergebnisse der Varianzanalyse des F-Satzes für ausgewählte Merkmale am Standort Hohenlieth 2011/2012. 39
Tabelle 12: Spearman Rangkorrelationskoeffizenten der Merkmale Ertrag und Pflanzenlänge je Behandlung. V-Satz. Hohenlieth 2011/2012. 42
Tabelle 13: Ergebnisse der Varianzanalyse ausgewählter Merkmale des F-Satzes. Roßleben 2012/2013. 43
Tabelle 14. Ergebnisse der Varianzanalyse für ausgewählte Merkmale im Rain-Out-Shelter. F-Satz. Göttingen 2011 nur Stressvariante. 45
Tabelle 15: Ergebnisse der Varianzanalyse des V-Satzes für ausgewählte Merkmale der Rain-Out-Shelter. Göttingen 2012/2013. 49
Tabelle 16: Ergebnisse der Varianzanalyse des F-Satzes für ausgewählte Merkmale in Rain-Out-Sheltern. Groß Lüsewitz 2012. 53
Tabelle 17: Ergebnisse der Varianzanalyse des F-Satzes für ausgewählte Merkmale in Rain-Out-Sheltern. Groß Lüsewitz 2012/2013. 57
Tabelle 18: Spearman Rangkorrelationskoeffizenten der mittleren Einzelpflanzenerträge, des TKG, der mittleren Hülsenzahl pro Einzelpflanze und der mittleren Pflanzenlänge jeweils bei Stress durch Wassermangel und in der bewässerten Kontrolle. F-Satz. Groß Lüsewitz 2012/2013. Gleiche Merkmale mit unterschiedlichen Behandlungen sind fett gedruckt. ... 59
Tabelle 19: Ergebnisse der mehrortigen statistischen Analyse der Rain-Out-Shelter-Versuche (Göttingen 2012/13, Groß Lüsewitz 2012, Groß Lüsewitz 2012/13) des F-Satzes. 61

Tabelle 20: Ergebnisse der Varianzanalyse für das Merkmal $\Delta^{13}C$. Die nach F-Test signifikanten Modellfaktoren sind gekennzeichnet. 62
Tabelle 21: Liste aller Genotypen mit Hintergrundinformationen. XVI
Tabelle 22: PCR-Programm für Ligation. XXI
Tabelle 23: PCR-Programm der Präamplifikation. XXI
Tabelle 24: PCR-Programm der Hauptamplifikation. XXII
Tabelle 25: Verwendete Primer mit Hersteller, Kurzname und Sequenz. XXIII
Tabelle 26: Korrelationen zwischen Ertragsmerkmalen der Rain-Out-Shelter untereinander und mit dem Merkmal $\Delta^{13}C$. XXIV
Tabelle 27: Korrelationen der physiologischen Merkmale im A-Satz. Außerdem sind die Korrelation der $\Delta^{13}C$-Merkmale zu den Physiologiemerkmalen im F-Satz mit wiedergegeben. Die entsprechenden Zeilen und Spalten sind grau hinterlegt. XXV
Tabelle 28: Regressionskoeffizienten der multiplen Regressionsanalyse zur Vorhersage eines errechneten Blattwassegehalts. XXVI
Tabelle 29: Wiederholbarkeit von Merkmalen in Kontrollbehandlung und Stressbehandlungen in den Sikkationsversuchen Hohenlieth 2011/2012 und Roßleben 2012/2013. XXXVI
Tabelle 30: Wiederholbarkeit von Merkmalen in Kontrollbehandlung und Stressbehandlung in den Rain-Out-Shelter-Versuchen Göttingen 2012/2013, Groß Lüsewitz 2012 und Groß Lüsewitz 2012/2013. XXXVI
Tabelle 31: Mittlerer Ertrag pro Einzelpflanze je Behandlung, mittlere Ertragsreduktion, mittleres Tausendkorngewicht je Behandlung und seine mittlere Reduktion für die Rain-Out-Shelter-Versuche in Göttingen 2012/2013, Groß Lüsewitz 2012 und 2012/2013 sowie im Mittel aller drei Versuche. XXXVII
Tabelle 32: Mehrortige Ergebnisse des Einzelpflanzenertrages [g] des V-Satzes in den Rain-Out-Shelter-Versuchen in Göttingen 2012/2013, Groß Lüsewitz 2012 und 2012/2013 für Kontroll- und Stressbehandlung, die relative Reduktion bezogen auf die Kontrollbehandlung [%] und die Rangierung der Inzuchtlinien je für Stress- und Kontrollbehandlung. Inzuchtlinien, die innerhalb der ersten sechs Ränge in beiden Behandlungen liegen, sind in zwei Graustufen hinterlegt. XXXVIII
Tabelle 33: Ergebnisse des Sikkationsvorversuchs am Standort Göttingen Reinshof 2011. XXXIX
Tabelle 34: Ergebnisse des Sikkationsvorversuchs am Standort Hohenlieth 2011. XLII

Abkürzungsverzeichnis

%	=	Prozent
*	=	signifikant bei α = 5 %
**	=	signifikant bei α = 1 %
+	=	signifikant bei α = 10 %
°C	=	Grad Celsius
µg	=	Mikrogramm
µm	=	Mikrometer
Abw.	=	Abweichung
AFLP	=	Amplified Fragment Length Polymorphism
B	=	Behandlung
Beh.	=	Behandlung
BFI	=	Blattflächenindex
bspw.	=	beispielsweise
bzw.	=	beziehungsweise
C	=	Kohlenstoff
ca.	=	circa
cm	=	Zentimeter
cM	=	Zentimorgan
d	=	Tag
d. h.	=	das heißt
DNS, DNA	=	Desoxyribonukleinsäure
DOS-Karte	=	unveröffentlichte Consensus Map von Donal O'Sullivan
dt	=	Dezitonne
DWD	=	Deutscher Wetterdienst
EC	=	Entwicklungsstadium
F_x	=	Inzuchtgeneration
et al.	=	et alii (*lat.*: und andere)
G	=	Genotyp
g	=	Gramm
GD 5 %	=	Grenzdifferenz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %
Gen.	=	Genotyp
GWAP	=	Göttinger Winterackerbohnenpopulation
GW-Karte	=	hier erstellte genetische Karte
h^2	=	Heritabilität
H_2O	=	Wasser
ha	=	Hektar
HPLC	=	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
ITAP-Marker	=	Intron-targeted amplified polymorphic marker
K.	=	Kontrolle
kg	=	Kilogramm
KG, LG	=	Kopplungsgruppe
KJ	=	Kaliumjodid
km	=	Kilometer
Koeff.	=	Koeffizient
l	=	Liter
LD	=	Gametenphasenungleichgewicht
LOD	=	Likelihood of the odds
m	=	Meter
M	=	Molar
m^2	=	Quadratmeter
min	=	Minuten
Min.	=	Minute
mittl.	=	mittlere/-r/-s
ml	=	Milliliter

mm	=	Millimeter
mM	=	Millimol
NAR	=	Nettoassimilationsrate
NIRS	=	Nahinfrarotspektroskopie
NN	=	Normalnull
NPZ	=	Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke Kommanditgesellschaft
p	=	pico
PAR	=	photosynthetisch aktive Strahlung
PCR	=	Polymerasekettenreaktion
PEG	=	Polyethylenglykol
persönl.	=	persönliche
pH	=	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
QTL	=	Quantitative Trait Locus
r	=	Korrelationskoeffizient
R^2	=	Bestimmtheitsmaß
r^2	=	Maß des Gametenphasenungleichgewicht
r_e	=	effektive Rekombinationsrate
resp.	=	respektive
RIL	=	Recombinant Inbred Line
rpm	=	Umdrehungen pro Minute
S	=	Fremdbefruchtungsgrad
S.	=	Stress
s.o.	=	siehe oben
s.u.	=	siehe unten
Sek.	=	Sekunde
SNP	=	Single Nucleotide Polymorphism
Spad	=	Grünwert
SSD	=	Single Seed Descent
Sta.	=	Standard
Std.	=	Stunde
TKG	=	Tausendkornmasse
TS	=	Trockensubstanz
u. a.	=	unter anderem
Var.	=	Variation
vgl.	=	vergleiche
Wdh.	=	Wiederholung
WUE	=	Wassernutzungseffizienz
z. B.	=	zum Beispiel
Δ	=	Differenz
$\Delta^{13}C$	=	Diskriminierung gegen 13-wertigen Kohlenstoff

1. Einleitung

Behandelt man Trockenstress in der agrarwissenschaftlichen Forschung und speziell in der Züchtungsforschung, so müssen zunächst die Eigenschaften des untersuchten Trockenstress definiert werden.
Dieser Arbeit zur Trockenstresstoleranz der Ackerbohne (*Vicia faba* L.) soll die Definition von Blum (2011) zu Grunde liegen:

„Agricultural drought is brought about when there is insufficient moisture for maximum or potential growth of crops, range or plantations. […] It follows that agricultural drought can be expressed on a very wide range of plant growth reductions up to complete failures. It does not necessarily imply that plants must wilt or die or fail in any spectacular manner. By definition agricultural drought can cause small reductions in yield when it is mild."

Die in der alten Welt heimische Ackerbohne verfügt über Sommer- und Winterformen. In Deutschland rangiert der Ackerbohnenanbau seit den 2000er Jahren unter 20 000 ha. Die Anbaubedeutung ging von 66 300 ha im Jahr 1988 auf 16 100 ha im Jahr 2012 zurück. In Frankreich und Großbritannien liegt der Anbau mit 91 400 ha bzw. 125 000 ha in 2011 deutlich über dem deutschen Niveau (Eurostat 2012). Größere Anbaubedeutung hat die Ackerbohne darüber hinaus in China. Allerdings ist auch hier der Ackerbohnenanbau in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts stark zurückgegangen. Wurden Ackerbohnen in China 1962 auf 4,2 Millionen Hektar angebaut, betrug die Anbaufläche im Jahr 2010 nur noch 880 000 ha (FAOstat 2012).
Der Ruf der Ackerbohne in der landwirtschaftlichen Praxis leidet unter instabilen Erträgen. Einer der Gründe hierfür kann Frühjahrstrockenheit sein. In dieser Arbeit werden 196 Winter- und vier Sommerbohnen hinsichtlich ihres genetischen Potentials für Trockenstresstoleranz untersucht.
Es werden mittels Assoziationsanalyse anhand physiologischer Merkmale Möglichkeiten für eine markergestützte Selektion auf Trockenstresstoleranz untersucht. Zum Einsatz kamen dabei AFLP- und SNP-Marker. Die untersuchten Merkmale Gehalt freien Prolins, Membranstabilität, Gehalt löslicher Zucker, Chlorophyllgehalt, Blattwassergehalt und Glycinbetain werden in der Literatur als sekundäre Merkmale für Stresstoleranz in anderen Kulturen diskutiert (Sayed et al., 2012; Riazi et al., 1985; Fujiwara et al., 2010; Mafakheri et al., 2010; Sanchez et al., 1998) und sollen hier bezüglich ihres Potentials als indirekte Merkmale für Trockenstresstoleranz bei Winterackerbohnen untersucht werden.
Die physiologischen Merkmale wurden im Rahmen dieser Arbeit hinsichtlich ihrer Wechselbeziehungen zu den feldbasierten Merkmalen Tausendkorngewicht und Ertrag untersucht. Hierzu wurden mehrjährige Rain-Out-Shelter-Versuche sowie Versuche mit chemischer Sikkation am Julius-Kühn-Institut in Groß Lüsewitz, bei der Norddeutschen Pflanzenzucht Lembke in Hohenlieth sowie an der Georg-August-Universität in Göttingen durchgeführt.

2. Stand der Forschung

2.1. Trockenstress bei Ackerbohnen

Der hier untersuchte subletale Trockenstress ist seit vielen Jahren Gegenstand der ackerbaulichen und pflanzenzüchterischen Forschung an Ackerbohnen. Schon Müller und Ehlers (1986) untersuchten Sommerackerbohnen und Hafer (*Avena sativa*) hinsichtlich ihres Wurzelwachstums, ihrer Wasseraufnahme und des Wasserverbrauchs. Hierbei wurde deutlich, dass die untersuchte Sommerackerbohnensorte zwar nur verhältnismäßig flach (bis 80 cm) wurzelte, ihre Wasseraufnahme zwischen 30 cm und 80 cm aber sehr effizient war. Die Autoren begründen dies mit einem möglicherweise größeren Wurzelumsatz der Ackerbohne. Allerdings kommt es durch die langsame Blattflächenentwicklung der Ackerbohne zu erheblicher Evaporation und damit zu unproduktivem Wasserverbrauch. Diese Art der Bodenwassernutzung führt den Autoren zufolge zu einer starken Erschöpfung des Wasservorrats im durchwurzelten Bodenhorizont schon vor der Hülsenbildung und Assimilateinlagerung. Hierdurch kann in diesen Phasen der Bodenwasservorrat bereits eingeschränkt sein, was zu Ertragseinbußen führen kann. Die Autoren konstatieren daher als wünschenswerte Zuchtziele einerseits einen größeren Wurzeltiefgang bei Ackerbohnen und gleichzeitig eine schnellere Bestandesentwicklung mit früherer Hülsenbildung.
In einem weiteren Artikel unter Beteiligung dieser Autoren (Ehlers et al., 1986) werden die Stomatasteuerung, die Nutzung photosynthetisch aktiver Strahlung (PAR), der Transpirationskoeffizient und Ertragskomponenten untersucht. Die Spaltöffnungen der untersuchten Ackerbohnensorte werden so reguliert, dass Gesamtpotential und Turgor auf einem höheren Niveau gehalten werden als bei der Vergleichsfrucht Hafer – die Ackerbohne hat also eine konservativere Stomatasteuerung als der Hafer. Die Stomata der Ackerbohne schließen bei hoher PAR früher als beim Hafer und senken so die Nettoassimilationsrate in der Phase der Samenfüllung. Gleichzeitig ist beim Erreichen des maximalen Blattflächenindex der Ackerbohne die Nettoassimilationsrate (NAR) am niedrigsten, was als Folge einer ungünstigen Lichtdurchdringung des Bestandes angesehen wird. Die Folge dieser Beschattung ist nach Ansicht der Autoren eine frühe Verringerung der assimilierenden Blattfläche.
Ehlers et al. (1986) kommen zu dem Schluss, dass eine frühere Entwicklung mit zeitigerer Hülsenbildung und Assimilateinlagerung die Auswirkungen von Wassermangel auf den Ertrag der Ackerbohne verringern würde. Diese von Müller und Ehlers (1986) und Ehlers et al. (1986) ausgeführten Anforderungen könnten im Herbst gesäte Winterackerbohnen im stärkeren Maße erfüllen, wodurch sich die Nutzung des verfügbaren Wassers effizienter gestalten würde.
Grasshoff (1990) führt aus, dass damalige Sorten der Ackerbohne bei optimaler Wasserversorgung mittels Bewässerung ein Ertragspotential von 70 dt/ha erreichten. Ferner kam der Autor in seinen Untersuchungen zu dem Schluss, dass milder Wassermangel während der Blüte den Übergang in die generative Phase beschleunigt und letztlich die Kornfüllung verfrüht beginnt. Diese Ergebnisse unterstützen die These, dass Ackerbohnen höhere und stabilere Erträge erzielen können, wenn die physiologischen Entwicklungsschritte früher im Jahr liegen.
Die Ergebnisse von Loss und Siddique (1997) zur Anbauwürdigkeit von Ackerbohnen in Regionen Australiens mit mediterranem Klima unterstützen die oben genannten Erkenntnisse. Loss und Siddique (1997) konnten zeigen, dass eine frühe Aussaat Ertragsvorteile gegen-

über späteren Saatterminen hatte: mit jeder Woche verspäteter Aussaat verringerte sich der Ertrag signifikant. Katrij et al. (2011) konstatieren, dass die Nodulation unter Wassermangel bis zu 70 % reduziert war.

Khazaei et al. (2012) untersuchten die Bestandestemperaturen, die Stomataleitfähigkeit sowie die Photosynthese- und Transpirationsrate an Ackerbohnen. Die hierbei untersuchten Genotypen waren in zwei Gruppen eingeteilt: Die Gruppe A bestand aus Genotypen bzw. Akzessionen, die an trockenere Klimate angepasst sind, die Gruppe B hingegen aus Genotypen, die in humideren Gegenden heimisch sind.

Bei diesem Vergleich ergab sich eine niedrigere Bestandestemperatur der Gruppe A unter feuchten Bedingungen. Unter trockenen Bedingungen stieg die Bestandestemperatur in der Gruppe A an. Die Genotypen der Gruppe B zeigten kein derartig einheitliches Verhalten. Die Autoren schließen aus diesen Ergebnissen, dass Genotypen, die evolutionär bedingte Anpassungen an Wassermangel durchlaufen haben, folglich besser auf Trockenheit reagieren können. Hier ist Potential für eine züchterische Verbesserung zu vermuten.

In einer weiteren Arbeit unter Beteiligung dieser Autoren (Khazaei et al., 2013) wurden ebenfalls vorgenannte Gruppen untersucht. Hierbei fanden sich Unterschiede zwischen den Akzessionen hinsichtlich ihrer Stomatasteuerung. Die an Trockenheit angepassten Genotypen hatten mehr Stomata, einen höheren relativen Blattwassergehalt und kühlere Blätter bei Wassermangel als die Vergleichsgruppe B. Bei beiden Gruppen nahm die Länge der Spaltöffnungen ab. Bei Gruppe A stieg die Stomatadichte unter Wassermangel an, ihre Größe nahm ab. Im Ergebnis waren die Stomatadichte und die Stomatafläche pro Fiederblatt negativ mit den Messgrößen des Gaswechsels und positiv mit der intrinsischen Wassernutzungseffizienz (WUE) korreliert. Die intrinsische WUE ist das Verhältnis von CO_2-Assimilation und Transpirationsrate (Condon et al., 2002). Bei Wassermangel fiel die Gaswechselrate beider Gruppen auf ein ähnliches Niveau ab. Hierbei zeigten die Prüfglieder der Gruppe A zwar wärmere Blätter und einen höheren relativen Blattwassergehalt, ohne allerdings negative Korrelationen mit Parametern des Gaswechsels oder der Blattmorphologie aufzuweisen. Die genannten Ergebnisse legen den Schluss nahe, dass Prüfglieder der Gruppe A eine effizientere Stomatasteuerung zeigen als solche der Gruppe B.

Khazaei et al. (2013) folgern aus ihren Ergebnissen, dass es anhand des Ursprungs einer Akzession möglich ist, Rückschlüsse auf die Trockentoleranz von Genotypen zu ziehen und so positive Merkmalsausprägungen vorherzusagen. Als besonders wichtige Merkmalskomponente wird die Stomatasteuerung angesehen; diese ist bei evolutionär an Trockenheit angepassten Genotypen in den Ergebnissen von Khazaei et al. (2013) effizienter und bietet Möglichkeiten für züchterische Ansätze. Hierbei sei aber berücksichtigt, dass Unterschiede in der Stomatasteuerung auch durch Unterschiede in der Wurzelmorphologie bzw. der Wasseraufnahme begründet sein können und nur indirekt Zeichen einer effizienteren Wassernutzung sind (Blum, 2009).

Ergänzend zu den Ergebnissen von Khazaei et al. (2012) und Khazaei et al. (2013) seien die Resultate von Khan et al. (2007) hier dargestellt. Die Autoren untersuchten einen Satz Sommerackerbohnengenotypen hinsichtlich ihrer Stomataleitfähigkeit, Blatttemperatur, Transpirationseffizienz und die Diskriminierung gegen dreizehnwertigen Kohlenstoff ($\Delta^{13}C$). Diese wurden in Gruppen sensibler und toleranter Genotypen unterteilt, wobei sich signifikante Unterschiede in der Trockenstressreaktion beider Gruppen fanden. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass die Stomataleitfähigkeit, die Blatttemperatur und $\Delta^{13}C$ als Hilfsmerkmale für die Selektion auf Trockenstresstoleranz herangezogen werden können.

Diese Merkmale, deren Beurteilung sowohl auf Einzelpflanzenebene wie auch auf Bestandesebene erfolgen muss, können züchterische Ansätze bieten. Allerdings sind ihnen bei großen Zuchtprogrammen Grenzen gesetzt, da die Erfassung zeit- und damit kostenintensiv ist.

Eine weitere Möglichkeit zur indirekten Selektion auf Trockenstresstoleranz sind Ansätze zur chemischen Sikkation der Pflanzen. Ziel hierbei ist, eine vorzeitige Seneszenz der assimilierenden Blattfläche zu induzieren, ohne jedoch Verlagerungsprozesse zwischen Pflanzenorganen zu beeinträchtigen (Nicolas und Turner, 1993). Auf diese Weise sollen einige Symptome des Wassermangels simuliert werden: idealerweise großflächig und bei geringem Aufwand für eine große Anzahl an Genotypen.

Nicolas und Turner (1993) beschreiben diese Methode unter Verwendung verschiedener Sikkationsmittel als Selektionsmöglichkeit auf Trockenstresstoleranz nach der Blüte von Weizen (*Triticum aestivum*). Für Kaliumjodid fanden sie signifikante Korrelationen zwischen dem Tausendkorngewicht (TKG) unter Sikkation und unter tatsächlichen Trockenstressbedingungen. Bei Regan et al. (1993) zeigten sich Unterschiede zwischen den Genotypen hinsichtlich des TKG und des Ertrages nach Behandlung mit Kaliumjodid. Mahalakshmi et al. (1994) fanden bei Perlhirse (*Pennisetum glaucum*) einen deutlichen Rückgang des Kornertrag, der Kornzahl und des TKG nach Behandlung mit Kaliumjodid. Ebenso zeigten mit Kaliumjodid behandelte Blätter einen Rückgang des Chlorophyllgehalts.

2.2. Kopplungskarten der Ackerbohne

Kopplungskarten oder auch genetische Karten bezeichnen die Zuordnung molekularer Marker zu sogenannten Kopplungsgruppen. Diese Kopplungsgruppen entsprechen idealerweise den Chromosomen der Spezies.

Torres et al. (2006) beschreiben das spezielle Problem bei Kartierungsansätzen des Ackerbohnengenoms. Neben der Größe von etwa 13 000 Mb erschwert die Genomstruktur die Kartierung von Markern: Das erste Chromosom der Ackerbohne ist metacentrisch und verfügt über zwei Centromere, die anderen fünf Ackerbohnenchromosomen sind subtelocentrisch (Fuchs et al., 1998). Die centromerischen Regionen von Chromosomen zeichnen sich durch wenig Rekombination aus (Ma und Bennetzen, 2005), was im Fall der Ackerbohnenchromosomen die Kartierung von Markern erschweren kann.

Román et al. (2003) konnten in einer F2-Population 121 der untersuchten 130 Markerloci insgesamt 16 Kopplungsgruppen zuordnen. Die so erzeugte Karte umfasste 1445,5 cM. Von den 16 Kopplungsgruppen konnten neun einzelnen Chromosomen zugeordnet werden, indem die kartierten Marker mit früheren Arbeiten anhand derselben Loci verglichen wurden.

Cruz-Izquierdo et al. (2012) kartierten 258 Marker über 1875 cM bei einem durchschnittlichen Markerabstand von 7,26 cM auf 16 Kopplungsgruppen. Hierzu verwendeten sie F_6-Recombinant Inbred Lines (RIL). Acht Kopplungsgruppen mit insgesamt 229 Loci konnten die Autoren einzelnen Chromosomen zuordnen, indem sie physische Marker verwendeten.

Ellwood et al. (2008) kartierten 151 Intron-targeted amplified polymorphic marker (ITAP)-Marker und erhielten eine Gesamtkartenlänge von 1685,8 cM bestehend aus zwölf Kopp-

lungsgruppen. Hierfür nutzten die Autoren eine Kreuzung eines *Vicia faba equina*-Typs als Mutter mit einem *Vicia faba paucijuga*-Typ als Vater. Die Größe der Kopplungsgruppen variierte von 23,6 cM bis 324,8 cM. Die Autoren verglichen ihre Karte mit dem Referenzgenom von *Medicago truncatula* und fanden hoch konservierte Bereiche zwischen einigen Chromosomen beider Spezies.

2.3. Assoziationsanalyse

In einer Assoziationsanalyse werden phänotypische Merkmale und molekulare Marker zusammengeführt. Ziel ist, Markerloci zu identifizieren, die für einen möglichst großen Teil der Variation der untersuchten Merkmale maßgeblich sind. Diese können in der Folge als Marker in der Züchtung dienen. Die Methodik der Assoziationsanalyse beruht auf dem Gametenphasenungleichgewicht oder Englisch „linkage disequilibrium“ (LD) zwischen den Allelen verschiedener Loci und wird daher im Englischen auch als „LD mapping“ bezeichnet. Flint-Garcia et al. (2003) definieren LD als „die nicht zufällige Assoziation der Allele an verschiedenen Loci“.
Betrachtet man eine Population, bei der Zufallspaarung gilt und weder Mutation, Drift, Selektion oder Migration vorkommt, befinden sich die Allele aller Loci im Gametenphasengleichgewicht. Diese Faktoren – Selektion, Migration, Mutation und Drift – sind folglich Gründe, die zu einem Gametenphasenungleichgewicht führen. Rekombination verringert ein vorhandenes LD. Dies bedeutet, dass das LD bei Fremdbefruchtern im Laufe der Generationen schneller abgebaut wird als bei überwiegend selbstbefruchtenden Pflanzen. Allgemein hat die Zuchtmethodik einer Kulturart maßgeblichen Einfluss (Myles et al., 2009). Ein Beispiel für Drift kann eine starke Verengung einer Population durch ein bestimmtes Zuchtziel sein, was großes Gametenphasenungleichgewicht zur Folge haben kann.
Flint-Garcia et al. (2003) beschreiben das Problem, dass Kopplung und LD häufig verwechselt werden. Kopplung bezeichnet die gemeinsame Vererbung zweier Loci aufgrund ihrer physikalischen Nähe auf einem Chromosom. LD hingegen bezeichnet nach Flint-Garcia et al. (2003) die Wechselbeziehung zwischen Polymorphismen, die durch zurückliegende, gemeinsame Mutations- und Rekombinationsereignisse hervorgerufen wird. Ecke et al. (2010) merken an, dass in ihren Untersuchungen des Rapsgenoms (*Brassica napus*) nur eine geringe Anzahl Markerpaare in LD zueinander nicht auch auf derselben Kopplungsgruppe lagen. Hieraus folgt, dass ein LD zwischen ungekoppelten Loci zwar vorkommt, aber über mehrere Generationen sehr schnell abgebaut wird. Flint-Garcia et al. (2003) beschreiben den Umstand, dass Selektion auf einen Phänotyp, der von zwei ungekoppelten Loci beeinflusst wird, LD zwischen diesen beiden Loci als Folge haben kann.
Bei klassischer biparentaler Quantitative-Trait-Locus (QTL)-Analyse an diploiden Organismen können nur zwei allelische Ausprägungen eines Locus berücksichtigt werden: jene Allele eines Locus, die zwischen den homozygoten Eltern der Kartierungspopulation polymorph sind. Der Ansatz der Assoziationsanalyse bietet die Möglichkeit, die „meiotische und rekombinatorische Geschichte einer Population“ (Flint-Garcia et al., 2003) zu nutzen: außer der Tatsache, dass mehrere Rekombinationsereignisse berücksichtigt werden können, ist es auch möglich, Genotypen unterschiedlichen genetischen Ursprungs in einer Assoziationsanalyse zu nutzen (Flint-Garcia et al., 2003).

Die Methode der Assoziationsanalyse wurde zunächst in der Humangenomforschung angewendet. Durch die stark zurückgegangenen Kosten pro Datenpunkt in der Markeranalyse ist nunmehr die Assoziationsanalyse auch in der Nutzpflanzenforschung verbreitet. Es wird hier – wie auch in den Ansätzen der Humangenomforschung – ein sehr weiter Satz an genetischem Material untersucht. Im Gegensatz zu klassischer QTL-Kartierung ist es nicht mehr in jedem Fall nötig, zunächst eine Kartierungspopulation zu erzeugen, zu genotypisieren und zu phänotypisieren. Für Kulturarten wie bspw. Weizen (*Triticum aestivum*) ist mittlerweile eine sehr große Anzahl Marker verfügbar (Cavanagh et al., 2013), deren Lokalisationen auf dem Genom bereits bekannt sind und die direkt für eine Assoziationsanalyse mit ausgewählten Genotypen genutzt werden können. In der vorliegenden Arbeit wurden die Marker mittels einer Kartierungspopulation entwickelt, weil keine entsprechenden Daten zur Verfügung standen. Die Effizienz der Assoziationsanalyse ist deutlich höher, weil diese auf mehr Rekombinationsereignisse zurückgreift und so QTL mit geringeren Konfidenzintervallen identifiziert werden können (Zhu et al., 2008).

Assoziationsanalysen haben somit gegenüber einer klassischen kopplungsbasierten QTL-Kartierung drei entscheidende Vorteile:

- Es muss in vielen Fällen keine Population biparentalen Ursprungs erstellt werden.
- Es können mehr als zwei allelische Ausprägungen eines Locus erfasst werden.
- Es ist eine genauere Lokalisation der QTL möglich.

Bei Assoziationsanalysen sollte berücksichtigt werden, ob eine Populations- und Familienstruktur innerhalb der untersuchten Genotypen vorhanden ist. Diese Überlegung ist nötig, um eine korrekte QTL-Analyse zu ermöglichen (Zhu et al., 2008). Als Konsequenz ergibt sich nach Honsdorf et al. (2010), dass eine derartige Struktur der untersuchten Genotypen die Wahrscheinlichkeit falsch-positiver QTL deutlich anhebt.
Ebenfalls ist die Abdeckung des Genoms mit Markern von Bedeutung. Honsdorf et al. (2010) kamen zu dem Schluss, dass die von ihnen verwendete Anzahl von 684 AFLP nicht groß genug sei, um das Genom des Rapses (*Brassica napus*) ausreichend abzudecken.
Myles et al. (2009) merken an, dass für eine Assoziationsanalyse eine sehr große Anzahl an Genotypen notwendig ist. Hierbei ist mittlerweile weniger die Genotypisierung problematisch, als zunehmend die Phänotypisierung in vollem Umfang durchzuführen.

3. Material und Methoden

3.1. Genetisches Material

Das genetische Material dieser Untersuchungen gliedert sich in zwei Gruppen. Zum einen wurde eine RIL-Population (Inzuchtlinien > F_9) – der sogenannte Kartierungssatz – kurz K-Satz – bestehend aus 101 Inzuchtlinien aus einer biparentalen Kreuzung zur Kartierung von Amplified Fragment Length Polymorhpism-(AFLP)- und Single Nucleotide Polymorphism-(SNP)-Markern verwendet. Zum anderen wurden 200 Inzuchtlinien – der sogenannte Physiologiesatz – kurz P-Satz – phänotypisiert. 189 Inzuchtlinien des P-Satzes wurden zur Assoziationsanalyse verwendet. Diese 189 Linien werden im Folgenden als Assoziationssatz – kurz A-Satz – bezeichnet. Der P-Satz wurde hinsichtlich der Merkmale Gehalt freien Prolins, Gehalt löslicher Zucker, Membranstabilitätsindex, Grünwert-(Spad)-Wert, Blattwassergehalt und Glycinbetaingehalt phänotypisiert. Eine weitere Untergruppe des P-Satzes stellt der Verifikationssatz – kurz V-Satz – dar. Er besteht aus 40 Inzuchtlinien, die im Feldversuch und im Gewächshaus phänotypisiert wurden. Desweiteren wurden zum V-Satz vier Sommerackerbohnenlinien ergänzt. Diese 44 Genotypen werden im Folgenden als Feldsatz – kurz F-Satz – bezeichnet.
Ferner wurden die Inzuchtlinien Wibo/1, L79, L977, L979, Bourdon/1, Arrisot/1, Banner/1, Bulldog/1 genotypisiert. Diese sind nicht phänotypisiert, stellen aber zusammen mit den im P-Satz enthaltenen Inzuchtlinien Côte d'Or/1, Hiverna/1 und Webo/1 die elf Ausgangseltern der Göttinger Winterackerbohnenpopulation dar. Aus der Göttinger Winterackerbohnenpopulation (GWAP) wurden die Genotypen des A-Satzes per Single Seed Descend (SSD) entwickelt (Link und Arbaoui, 2005).
Im Anhang in Tabelle 21 sind die untersuchten Genotypen aufgeführt, ergänzt um Pedigreeinformationen und Art der Phänotypisierung.

3.2. Genotypisierung

3.2.1. AFLP

3.2.1.1. DNS Extraktion

Zur Extraktion der Desoxyribonukleinsäure (DNS) wurden alle Genotypen in Multitopfplatten angezogen. Je 100 mg Blattmaterial der herangewachsenen Pflanzen wurden in Eppendorf-Gefäße à 2ml gefüllt und sogleich in flüssigem Stickstoff eingefroren. Diese Proben wurden anschließend bei -20 °C gelagert.
Unmittelbar vor dem Feinvermahlen wurden die Proben in flüssigem Stickstoff gekühlt, um ein feinstes Vermahlen sicherzustellen. Beim Feinvermahlen der Proben wurden in jedes Eppendorf-Gefäß zwei Edelstahlkugeln mit einem Durchmesser von 3,7 mm gegeben. Anschließend wurden die Proben mit einer Retsch MM400 Kugelmühle (Retsch, Deutschland) 2 min bei 30 Hertz vermahlen. Direkt danach wurden die Proben wieder bei -20 °C gelagert.
Die Extraktion der DNS erfolgte mittels des Illustra Nucleon Phytopure Genomic DNA Extraction Kit der Firma GE Healthcare, Großbritannien, nach Herstellerprotokoll unter Verwendung von Mercaptoethanol.
Nach Fällung der DNS wurde diese bei 4 °C dunkel gelagert. Die DNS-Konzentration wurde mittels eines BioRad VersaFluor Fluorometer (BioRad, Deutschland) unter Verwendung des Standards Hoechst 33528 durchgeführt.

3.2.1.2. Multiplex Polymerasekettenreaktion

Die AFLP-Analyse erfolgte nach Vos et al. (1995) und wurde mittels Multiplex-Polymerasekettenreaktion (PCR) durchgeführt. Als Orientierung diente das in Ecke et al. (2010) beschriebene Protokoll, ergänzt um kulturartspezifische Modifikationen. Es wurden insgesamt 96 Primerkombinationen verwendet und ausgewertet. Dies entspricht 24 Multiplex-PCR mit je vier Primerkombinationen, welche im Folgenden als Primerset bezeichnet werden.
Im Anhang unter „Protokoll der Multiplex PCR“ werden die einzelnen Schritte der AFLP-Analyse detailliert beschrieben. Sie besteht aus vier PCR Schritten, der Restriktion der DNS, der Ligation der Adapter, einer Präamplifikation mit selektiven Primern und der Hauptamplifikation, in welcher die EcoRI-Primer fluoreszenzmarkiert sind. Alle Verdünnungsschritte werden mit Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-(HPLC)-Wasser (H_2O) durchgeführt. Die Primersequenz ist in Tabelle 25 angegeben. Die Nomenklatur der AFLP-Marker leitet sich aus ihrer Primerkombination und der Position in der Kapillargelelektrophorese ab. Als Beispiel sei der Marker E36M48-279 herangezogen: „E36“ präzisiert hierbei den verwendeten EcoRI-Primer und „M48“ den MseI-Primer (vgl. Tabelle 25). „279“ gibt die Position in der Kapillargelelektrophorese an.

Kapillargelektrophorese:
Die Detektion der DNS-Fragmente wurde mittels Kapillargelektrophorese in einem ABI 3130xl Genetic Analyser (Applied Biosystems) durchgeführt. Als Fragmentgrößenstandard wurde GeneScan 500 LIZ (Applied Biosystems) verwendet.

3.2.1.3. Verarbeitung der PCR-Daten

Die Auswertung der PCR-Daten erfolgte mit dem Programm GeneMapper Version 3.7 (Applied Biosystems). Hierbei werden anwesende Fragmente als Kurvenausschlag in einem Elektropherogramm dargestellt und in eine Matrix für „Fragment vorhanden“ eingeordnet. Diese automatisierte Auswertung bedarf einer intensiven manuellen Kontrolle und Korrektur aller Daten. Anschließend wurden die korrigierten Daten wie in Ecke et al. (2010) beschrieben in eine 0/1-Matrix umgewandelt.

3.2.2. SNP

Für *Vicia faba* stehen nur begrenzt SNP-Marker zur Verfügung. Es wurden in den vergangenen Jahren jedoch verschiedene Ansätze verfolgt, SNP-Marker für die Ackerbohne zu entwickeln (Cottage et al., 2012). 189 SNP-Marker wurden für das dieser Arbeit zugrundeliegende genetische Material durch die Firma KBioscience, Großbritannien, analysiert.
Hierzu wurden 50mg Blattmaterial eines jeden Genotyps in 96er-Mikrotiterplatten gefriergetrocknet. Die DNS Extraktion und SNP-Analyse mittels KASP^{TM} fand bei KBioscience in Großbritannien statt. Die hierfür nötigen Reagenzien und Ansätze standen dort aus der Entwicklung dieser SNP zur Verfügung (O'Sullivan, persönl. Mitteilung, 2012).

3.2.3. Kartierung der molekularen Marker

Die der Kartierung zugrundeliegende RIL-Population wurde per SSD aus sechs F1-Individuen, mit elf bis 23 RIL pro F1-Individuum, entwickelt. Es wurden insgesamt 130 SNP-Marker und 1415 AFLP-Marker verwendet. Innerhalb jeder F1-Familie wurden die 1545 Polymorphismen auf Abweichungen weiter als neun zu eins hinsichtlich ihrer Allelfrequenz untersucht. Im Fall einer solchen Spaltung bei einem Locus wurde für solche F1-Familien mit fehlenden Werten gerechnet. Durch dieses Vorgehen blieben 1539 Marker zur Kartierung zur Verfügung. Zur Kartierung der Marker wurde das Programm Mapmaker 3.0 mit Erweiterungen, wie bei Ecke et al. (2010) beschrieben, verwendet und die Kartierungsfunktion für RIL verwendet. Zentimorgan werden als Kosambi-Zentimorgan berechnet (Kosambi, 1944). Die Kartierung wurde analog zu Ecke et al. (2010) durchgeführt. Als maximale Distanz zwischen zwei Markern auf einer Kopplungsgruppe wurden 35 cM gewählt. Es wurde zunächst eine sogenannte High-Fidelity-Map erstellt. Als minimaler Likelihood of the odds-(LOD)-Wert wurde LOD = 3,0 gesetzt. In der High-Fidelity-Map darf die Anzahl von drei Crossovern pro Locus zusätzlich zu der erwarteten Anzahl von Doppelcrossovern nicht überschritten werden. Weitere Marker werden mittels eines automatisierenden Skriptes unter Verwendung des Mapmaker „try“-Kommandos in diese High-Fidelity-Map integriert, bis der so entstehenden vollen Karte keine weiteren Marker hinzugefügt werden können (Ecke et al., 2010).

3.2.4. Assoziationsanalyse

Verwendet wurden die Inzuchtlinien des A-Satzes. Insgesamt standen 2018 polymorphe Marker für die Genotypen zur Verfügung. Von diesen wurden nur solche mit einer „minor allele frequency“ ≥ 0,05 verwendet. Dies ergibt 1322 verwendete Marker, hiervon 175 SNP- und 1147 AFLP-Marker. Diese Auswahl wurde mit der in Tassel 3.0 (Bradbury et al., 2007) implementierten Methode automatisiert durchgeführt.
Die Assoziationsanalyse wurde ebenfalls mit dem Programm Tassel 3.0 (Bradbury et al., 2007) durchgeführt. Es wurde hierbei mit dem implementierten Mixed Linear Model unter Verwendung der Kinship-Funktion gerechnet.
Zur Berechnung des Gametenphasenungleichgewichts innerhalb des Assoziationssatzes wurden die zuvor kartierten und zugleich im Assoziationssatz polymorphen Marker verwendet. Die paarweisen Analysen dieser 805 Marker wurden mit der in Tassel 3.0 implementierten Funktion erstellt. Die Markernamen- und Kopplungsgruppeninformation wurde anschließend mit Excel-VBA ergänzt. Die Berechnung des mittleren intra- und inter-Kopplungsgruppen-LD erfolgte ebenfalls in Excel. Zur Darstellung des Abfalls des Gametenphasenungleichgewichts wurde die Rekombinationsfrequenz zwischen den Markern mit einem Perl-Skript (Ecke, persönl. Mitteilung, 2014) analog zu Ecke et al. (2010) berechnet. Die Rekombinationsfrequenzen aus der RIL-Population (K-Satz) wurden wie in Haldane und Waddington (1930) beschrieben in die Rekombinationsfrequenz nach nur einer Meiose überführt. Die so errechneten Rekombinationsfrequenzen wurden in Kosambi Zentimorgan umgerechnet (Kosambi, 1944).

3.3. Phänotypisierung

3.3.1. Versuchsstandorte

3.3.1.1. Göttingen Reinshof

Das Versuchsgut Reinshof der Universität Göttingen liegt ca. 2 km südlich des Stadtrandes von Göttingen auf 150 m über Normalnull (NN). Die Bodenarten sind zu 80 % Auenböden aus Schwemmlöß (Lehme und tonige Lehme) sowie zu 20 % Grießerden aus Löß. Die durchschnittliche Ackerzahl beträgt 83 Bodenpunkte. Der Standort ist charakterisiert durch 645 mm Niederschlag und 8,7 °C im langjährigen Mittel. In der Zeit von Mai bis Juli fallen durchschnittlich 203 mm und von Mai bis September 310 mm. Die jahresspezifischen Witterungsbedingungen während der Versuche sind in Abbildung 1 und Abbildung 2 dargestellt. In diesen Abbildungen wird deutlich, dass in beiden Jahren die Monate Februar und März durch außergewöhnlich wenig Niederschlag geprägt waren. Im Jahr 2011 waren auch die Monate April und besonders Mai deutlich trockener als im langjährigen Mittel. Im Jahr 2012 war zwar der April deutlich trockener als im langjährigen Mittel, allerdings fiel im Mai vergleichsweise mehr Regen.

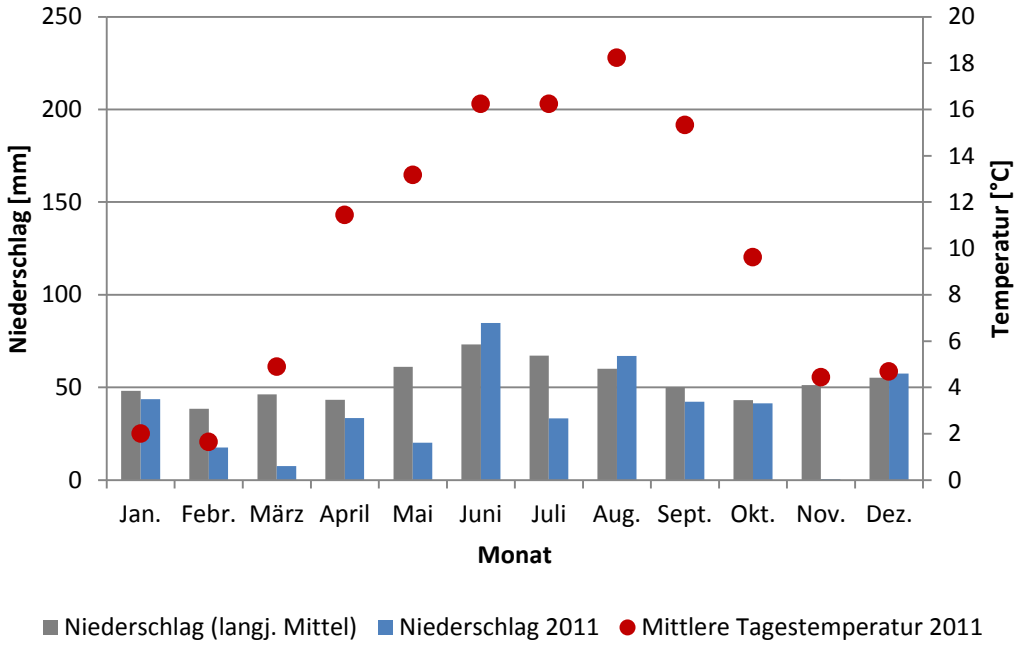


Abbildung 1: Wetterdaten Göttingen 2011. Monatliche Mittelwerte der Temperatur und des Niederschlags Januar 2011 bis Dezember 2011 sowie die langjährigen Mittelwerte des Niederschlags am Standort (DWD, persönl. Mitteilung, 2013).

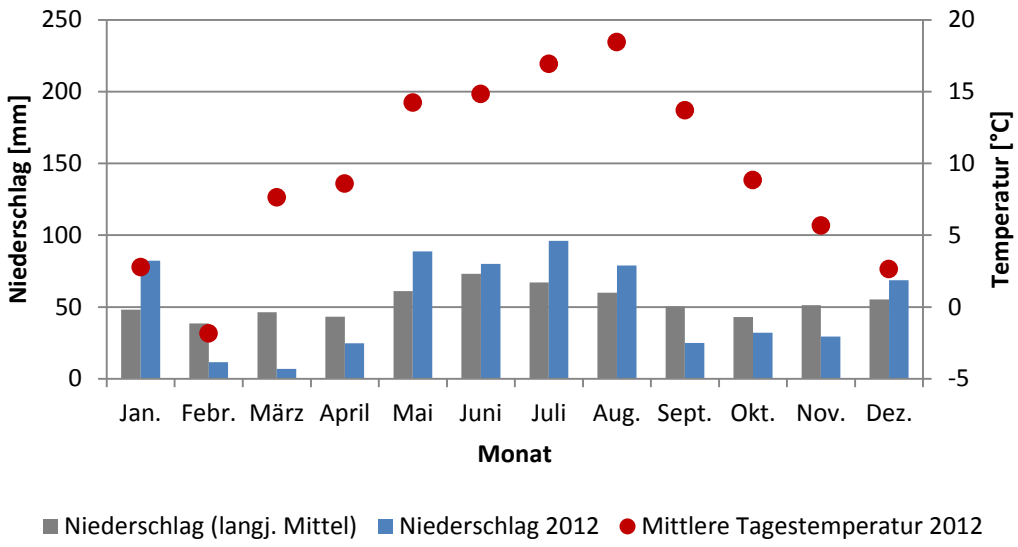


Abbildung 2: Wetterdaten Göttingen 2012. Monatliche Mittelwerte der Temperatur und des Niederschlags Januar 2012 bis Dezember 2012 sowie die langjährigen Mittelwerte des Niederschlags am Standort (DWD, persönl. Mitteilung, 2013).

3.3.1.2. Groß Lüsewitz

Im langjährigen Mittel des Versuchsstandortes Groß Lüsewitz in Mecklenburg-Vorpommern fallen 692 mm Niederschlag, davon 373 mm von April bis September. Die Durchschnittstemperatur beträgt 8,3 °C. Die Leitbodenform ist Sandlehm-Braunstaugley mit durchschnittlich 47 Bodenpunkten und einer nutzbaren Feldkapazität von 60-85 mm. Die Anzahl der Trockenstresstage mit einer nutzbaren Feldkapazität von <50 % beträgt 85-105 Tage. Der pH-Wert des Bodens beträgt 5,8.
Am Standort Groß Lüsewitz sind Feldversuche mit Rain-Out-Sheltern in mehreren Jahren durchgeführt worden. Die Rain-Out-Shelter sind mit einer automatischen Steuerung ausgestattet, sodass sie bei Regen automatisch über den Bestand fahren und Niederschlag abhalten. Die Kontrollparzellen wurden mit Bewässerung in unmittelbarer Nähe der Rain-Out-Shelter angelegt.

3.3.1.3. Hohenlieth

Der Versuchsstandort Hohenlieth liegt im nordwestlichen Teil des östlichen Hügellandes in Schleswig-Holstein. Im langjährigen Mittel fallen hier 815 mm Niederschlag mit einer sehr homogenen Verteilung im Verlauf des Jahres, wobei die Monate Februar bis Mai durch die geringsten Niederschläge gekennzeichnet sind. Die Durchschnittstemperatur beträgt im langjährigen Mittel 8,9 °C. Die Ackerzahl variiert zwischen 30 und 60 Bodenpunkten. Die Bodenarten sind lehmiger Sand bis sandiger Lehm.
Zur Verdeutlichung der meteorologischen Rahmenbedingungen am Standort Hohenlieth sind in Abbildung 3 und Abbildung 4 die monatlichen Mittelwerte der Jahre 2011 bzw. 2012

sowie das langjährige Mittel dargestellt. Das Frühjahr 2011 war geprägt von starken Wechsel- und Kahlfrösten, sodass in diesem Jahr der dortige Versuch ausgewintert ist.

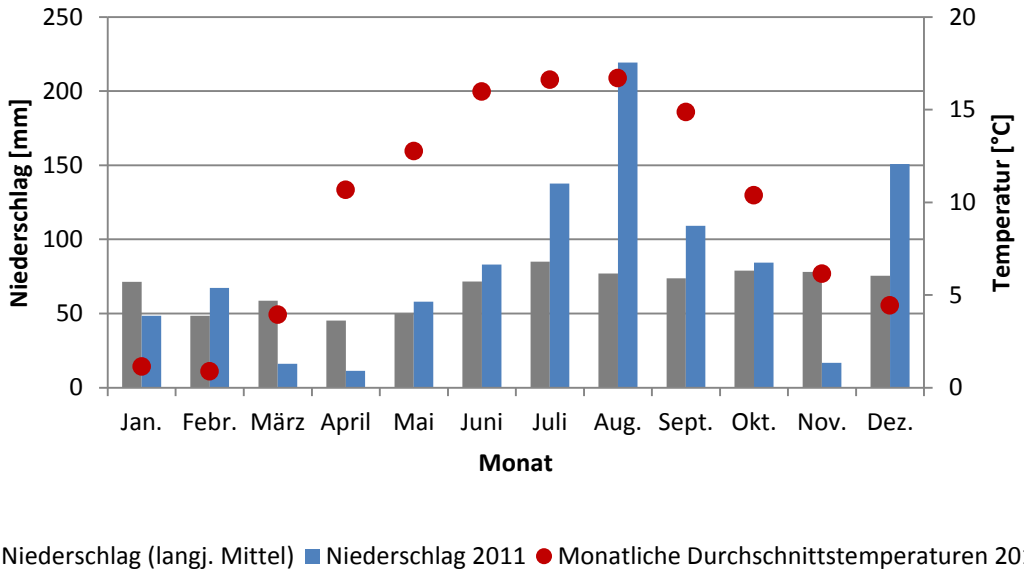


Abbildung 3: Wetterdaten Hohenlieth 2011. Monatliche Mittelwerte der Temperatur und des Niederschlags Januar 2011 bis Dezember 2011 (NPZ, persönl. Mitteilung, 2013).

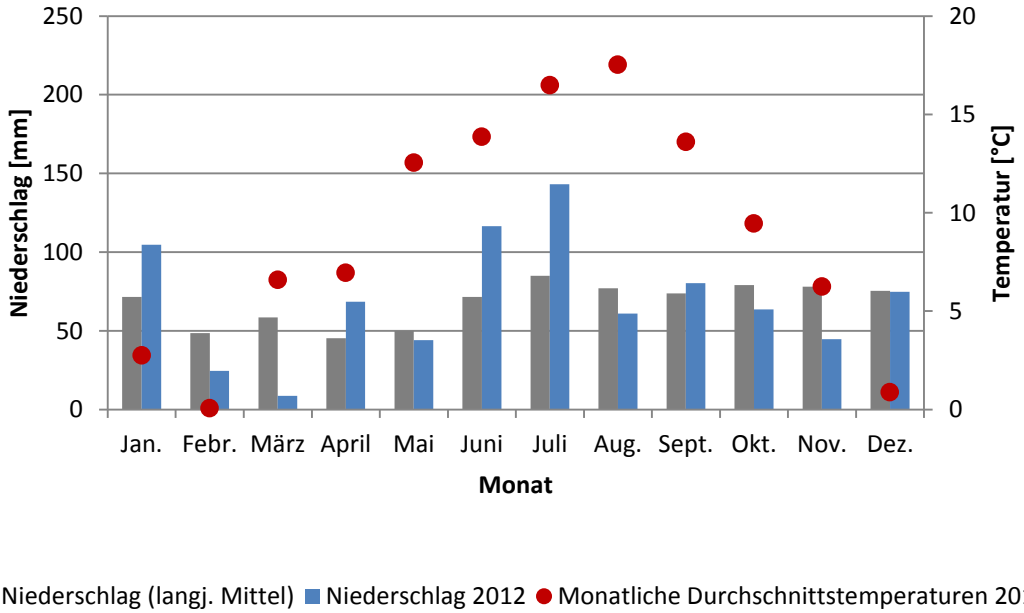


Abbildung 4: Wetterdaten Hohenlieth 2012. Monatliche Mittelwerte der Temperatur und des Niederschlags Januar 2012 bis Dezember 2012 (NPZ, persönl. Mitteilung, 2013).

3.3.1.4. Roßleben

Der Standort Roßleben liegt im Kyffhäuserkreis in Thüringen und ist gekennzeichnet durch eine mittlere Jahrestemperatur von 8,4 °C und einen durchschnittlichen Jahresniederschlag von 469 mm. Die Bodenart ist sandiger bis schluffiger Lehm auf Löss mit durchschnittlich 78 Bodenpunkten. Der Standort ist durch eine leichte Neigung nach Süden bei leicht welligem Gelände charakterisiert.

3.3.2. Feldversuche

3.3.2.1. Vorversuche zur chemischen Sikkation mit Kaliumjodid

3.3.2.1.1. Göttingen Reinshof 2010/2011

Um die Wirkung chemischer Sikkation mit Kaliumjodid auf Winterackerbohnen zu prüfen, wurde ein Vorversuch im Sinne eines „Proof of Principle“ als zweifaktorielle Spaltanlage durchgeführt.

Als Winterackerbohnen kamen die Inzuchtlinien Karl/5, (Côte d'Or x BPL4628)-18-3, Seif_122 und Seif_029 als Saatgut aus offener Abblüte zum Einsatz. Die gedrillten Sommerackerbohnen waren die Sorten Espresso und Tangenta der Norddeutschen Pflanzenzucht Lembke, Hohenlieth.

Die Winterbohnensaat erfolgte am 07.10.2010 in Einzelkornsaat mit 25 Samen/m^2 mit einer Parzellengröße von 5 m² als Spaltanlage mit vier Großteilstücken. Der Versuch wurde angewalzt und am 18.10.2010 mit 4 l/ha Bandur® (Bayer CropScience, Deutschland; Wirkstoff Aclonifen) als Vorauflaufherbizid behandelt. Die Sommerbohnen wurden am 23.03.2011 mit 35 Samen/m² gesät.

Die vier Behandlungen gliederten sich in eine Kontrollvariante, eine frühe Behandlung zum Zeitpunkt der Ausbildung von 50 % der Hülsen (Entwicklungsstadium (EC) 75) bei den Winterackerbohnen am 10.06. und bei den Sommerackerbohnen am 15.06., eine späte Behandlung zum Zeitpunkt, an dem 10 % der Hülsen ausgereift sind (EC 81), bei den Winterackerbohnen am 07.07. und bei den Sommerackerbohnen am 21.07. sowie eine doppelte Behandlung zu EC 75 und EC 81 mit je gleicher Dosierung wie in der Einzelbehandlung. Die Stadien wurden prüfgliedweise ermittelt. Alle Behandlungen erfolgten mit einer 1 %-igen Kaliumjodidlösung. Wurden Boniturnoten zur Erfassung eines Merkmals genutzt, so bedeutet die niedrigste Note „geringste Ausprägung des Merkmals“ und die höchste Note „maximale Ausprägung des Merkmals“. Dieses gilt für alle Versuche dieser Arbeit.

Während des Versuchs wurden fünf Tage nach der jeweiligen Kaliumjodidbehandlung der Spadwert und die Pflanzenlänge gemessen. Danach wurden diese Merkmale am 25.06., 29.06., 06.07. und 12.07. erfasst. Der Blühbeginn wurde erfasst. Die Ernte erfolgte am 01.08. und 10.08.2011, indem zwölf Pflanzen des Parzellenkerns entnommen wurden. An diesen Pflanzen wurden Ertrag und TKG bestimmt. Die Restparzellen wurden am 16.08.2013 im Mähdrusch geerntet. Die Ergebnisse dieses Vorversuchs sind in Tabelle 33 im Anhang wiedergegeben.

3.3.2.1.2. Hohenlieth 2010/2011

In gleicher Weise wie unter 3.3.2.1.1 beschrieben erfolgte ein Vorversuch zur chemischen Sikkation in Hohenlieth mit vier Behandlungen, die sich jedoch von den Behandlungen am Standort Reinshof unterschieden.
Zunächst wurde der Versuch im Herbst 2010 als zweifaktorielle Spaltanlage mit Winterackerbohnen gesät und nach vollständiger Auswinterung im Frühjahr 2011 umgebrochen. Um diesen Verlust zu kompensieren, wurde der Versuch in gleicher Weise – vier Großteilstücke, zwei Wiederholungen, sechs Genotypen – mit Sommerackerbohnen am 28.03.2011 gesät. Die Parzellengröße betrug 12,8 m². Es wurden die Sorten bzw. Stämme 09.7640, Taifun, 00.7001, Fuego, Espresso und Tangenta gesät.
Am 31.03. wurde der Versuch mit 2 l/ha Stomp Aqua (BASF, Deutschland; Wirkstoff Pendimethalin), 1,8 l/ha Bandur und 100 ml/ha Centium 36 CS (Belchim Crop Protection, Deutschland; Wirkstoff Clomazone) als Vorauflaufherbizid behandelt. Am 01.05. wurden 0,75 l/ha Basagran (BASF, Deutschland; Wirkstoff Bentazon) und 0,75 l/ha Karate Zeon (Syngenta, Deutschland; Wirkstoff Lambda-Cyhalothrin) gespritzt. Am 06.06. wurde 0,1 l/ha Fastac SC (BASF, Deutschland; Wirkstoff Alphacypermethrin) appliziert.
Abweichend vom Göttinger Versuch (3.3.2.1.1) wurde Kaliumjodid einheitlich zu EC 79 am 05.07.2011 in drei verschiedenen Konzentrationen appliziert (0,5 %, 1 %, 2 % in Lösung) und ein Großteilstück als Kontrollvariante nicht behandelt.
Während des Versuchs wurden Blühbeginn und Vergilbung an sieben Terminen (11.07., 15.07., 21.07., 26.07., 02.08., 08.08. und 13.08.), die Pflanzenlänge an fünf Terminen (04.07., 11.07., 15.07., 21.07. und 26.07.) und der Reifetag erfasst. Zur Ernte wurden zwölf Pflanzen aus dem Parzellenkern entnommen und Ertrag sowie TKG bestimmt. Die Restparzellen wurden im Mähdrusch am 03.09.2011 geerntet. Die Ergebnisse dieses Vorversuchs sind in Tabelle 34 im Anhang wiedergegeben.

3.3.2.2. Hauptversuche zur chemischen Sikkation

3.3.2.2.1. Göttingen Reinshof 2011/12

Am Standort Göttingen Reinshof wurden am 05. und 06.10.2011 die Genotypen des F-Satzes (vgl. Tabelle 21) mit einer Parzellengröße von 6 m² und einer Aussaatstärke von 25 Samen/m² als zweifaktorielle Spaltanlage gedrillt und angewalzt. Der Versuch umfasste drei Behandlungen chemischer Sikkation und eine Kontrolle bei zwei Wiederholungen. Es wurde im November 2011 der Feldaufgang bonitiert und die Anzahl der Pflanzen festgehalten. Das Saatgut für diesen Versuch wurde in offener Abblüte als Frühjahrssaat 2011 am Standort Reinshof produziert.
Der Versuch – ebenso wie der gesamte Winterbohnenzuchtgarten – ist im Frühjahr 2012 durch Kahlfröste mit Temperaturen bis knapp -20 °C vernichtet worden. Eine Merkmalserfassung konnte in 2012 nicht erfolgen. Wie in Abbildung 5 ersichtlich, herrschte bis Mitte Januar 2012 überwiegend wüchsiges Wetter mit verhältnismäßig hohen Tagestemperaturen. Danach sank die Temperatur innerhalb weniger Tage um etwa 20 °C, wobei keine nennenswerte Menge an Schnee fiel.

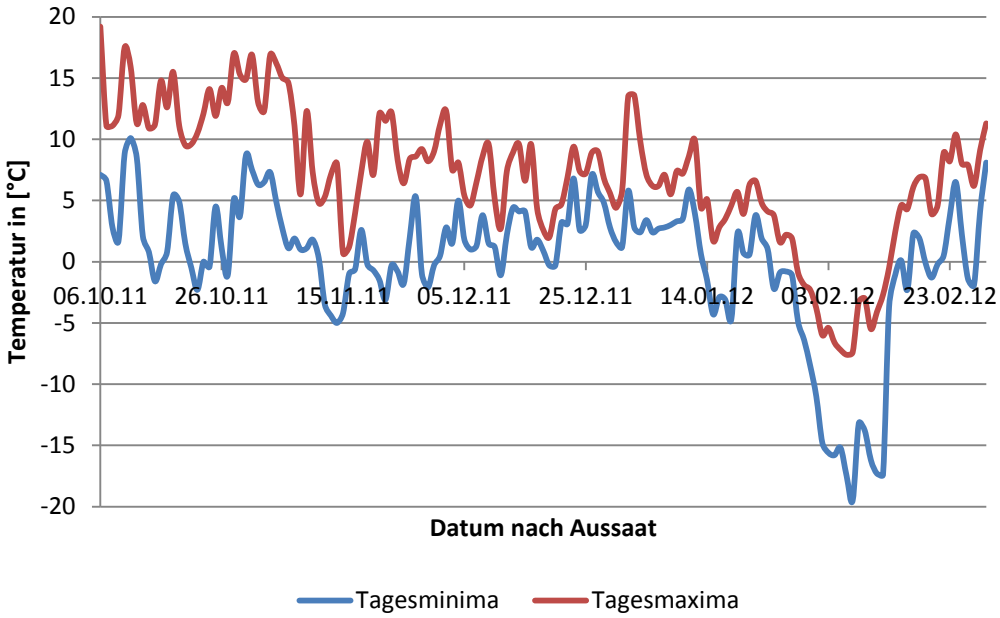


Abbildung 5: Entwicklung der Minimal- und Maximaltemperaturen im Winter 2011/2012 am Standort Göttingen Reinshof (DWD, persönl. Mitteilung, 2013).

3.3.2.2.2. Hohenlieth 2011/12

Am Versuchsstandort Hohenlieth wurde analog zum Standort Göttingen Reinshof ein Versuch zur Erforschung der chemischen Sikkation bei Winterackerbohnen anhand des F-Satzes (vgl. Tabelle 21) am 05.10.2011 mit einer Saatstärke von 23 Samen/m² und einer Parzellengröße von 5,1 m² als zweifaktorielle Spaltanlage gesät. Die Sommerackerbohnen wurden am 23.03.2012 mit 35 Samen/m² gesät. Die Anlage erfolgte wie in Göttingen mit drei Behandlungen und einer Kontrolle in zwei Wiederholungen. Das Saatgut entstammte einer offen abgeblühten Vermehrung am Standort Reinshof 2011.
Die Behandlungen fanden mit 0,5 %, 1 %, 2 %-iger Kaliumjodidlösung sowie einer unbehandelten Kontrolle zu EC 75 im Mittel aller Prüfglieder am 28.06.2012 für Winterackerbohnen bzw. am 06.07.2012 für die Sommerackerbohnen statt.
Während des Versuchs wurden die Anzahl Keimpflanzen vor Winter, der Stand nach Winter, der Tag des Blühbeginns, die Pflanzenlänge am 22.06., 28.06., 02.07., 05.07., 11.07. und 18.07., die Verbräunungen der Blätter am 05.07., 11.07., 17.07., 25.07., 31.07. und am 08.08. sowie der Reifetag erfasst.
Zur Ernte wurden aus dem Parzellenkern zwölf Pflanzen entnommen und an diesen Ertrag und TKG erfasst. Die Restparzellen des Versuches wurden am 26.09.2012 im Mähdrusch geerntet. Hierbei wurden ebenfalls Ertrag und TKG erfasst.

3.3.2.2.3. Roßleben 2012/2013

Am Versuchsstandort Roßleben wurden die Genotypen des F-Satzes als zweifaktorielle Spaltanlage am 10.10.2012 mit einem Reihenabstand von 12,5 cm auf 5 cm Aussaattiefe in Drillsaat abgelegt. Die Sommerbohnenaussaat erfolgte in diesem Versuch am 16.04.2013. Dieser Versuch wurde in zwei Wiederholungen angelegt. Er umfasste eine Kontrollvariante und eine Behandlung aller Genotypen mit Kaliumjodid.
Seitens des Pflanzenschutzes erfolgte am 11.10.2012 eine Behandlung mit 2 l/ha Bandur in Kombination mit 2 l/ha Stomp aqua. Am 13.05.2013 fielen 1 l/ha Basagran mit 0,3 l/ha Pirimor (Syngenta, Deutschland, Wirkstoff Pirimicarb). Am 28.05.2013 kam eine Mischung aus 0,15 l/ha Trafo WG (Syngenta, Deutschland, Wirkstoff Lambda-Cyhalothrin), 0,7 l/ha Folicin Mn und 0,7 l/ha Bor Folicin (beides Jost GmbH, Deutschland) zum Einsatz. Am 06.06.2013 wurden 0,3 l/ha Biscaya (Bayer CropScience, Deutschland, Wirkstoff: Thiacloprid) in Mischung mit 1 l/ha Fertiactyl Vital NPK (Timac Agro, Österreich) mit 0,15 % Silwet Gold Netzmittel (Spiess Urania, Deutschland) ausgebracht. Am 27.06.2013 wurden 25 kg N/ha ausgebracht. Am 13.06.2013 erfolgte erneut eine Behandlung mit 0,3 l/ha Biscaya in Mischung mit 1 l/ha Bor Folicin (Jost GmbH, Deutschland) und 1 l/ha Vital NPK. Am 09.07.2013 wurde erneut mit 0,3 l/ha Pirimor (als Netzmittel 0,05 % Silwet Gold) behandelt.
Die Kaliumjodidbehandlung erfolgte am 05.07.2013 mit 1 %-iger Lösung.

3.3.2.3. Versuche mit Rain-Out-Sheltern

3.3.2.3.1. Göttingen Reinshof

3.3.2.3.1.1. 2010/2011

Zur Erforschung der Reaktion des F-Satzes auf Wassermangel wurde am 12.10.2010 ein Rain-Out-Shelter-Versuch – also ein Versuch mit künstlichem Regenschutz – mit zwei Wiederholungen und einer Behandlung – d. h. ohne Kontrollvariante – als einfaktorielle Spaltanlage am Standort Göttingen Reinshof in Handablage mit 20 Samen pro Reihe, einer Reihenlänge von 1,5 m und einem Reihenabstand von 40 cm gesät. Als Vorauflaufherbizid kam Bandur mit 4 l/ha zum Einsatz. Die Sommerbohnen wurden am 25.03.2011 ausgelegt. Wenn in Prüfgliedreihen nach dem Winter weniger als 18 Pflanzen vorhanden waren, wurden Lücken mit dem Sommerbohnengenotyp Minica nachgesät, um Randeffekte zu minimieren.
Die Prüfgliedreihen wurden an den Außenrändern mit zwei Randreihen und zwischen Sommerackerbohnen mit je einem Winter- und einem Sommerackerbohnenrand versehen. Quer zu den Prüfgliedreihen wurde der Versuch mit einer Doppelreihe Ackerbohnen umfriedet, um Randeffekte zu minimieren. Als Winterackerbohnenrand kam der Göttinger Winterackerbohnensynthetik zum Einsatz.
Die am 06.05.2011 zu Blühbeginn aufgestellten Rain-Out-Shelter bestanden aus einer Unterkonstruktion aus Stahlstangen mit bogenförmigen Giebeln und einer Höhe von ca. 3 m. Die Grundfläche betrug ca. 20 m x 3 m. Diese Stahlkonstruktion wurde mit transparenter Plane (Materialstärke 160 µm) bespannt. Die Stirnseiten (Durchfahrtshöhe ca. 1,75 m) und Längsseiten (Planenende etwa 50 cm über Boden) wurden offengelassen, um Windzug zu ermöglichen, wobei die Shelter in Nord-Süd-Richtung aufgestellt wurden, um optimalen Schutz gegen das in der Regel von Westen aufziehende Wetter zu bieten. Der Aufbau erfolgte in allen Versuchsjahren in gleicher Weise.
Während des Versuchs wurden die Anzahl der Pflanzen am 25.03.2011, der Blühbeginn, Blühende, Blattrollen/Welke und Spad am 16.06., Wuchshöhe und Vergilbung am 20.06. sowie das Reifedatum erfasst.
Die Ernte erfolgte prüfgliedweise ab der jeweiligen Reife. Es wurden Ertrag und TKG einzelpflanzenweise erfasst.

3.3.2.3.1.2. 2011/2012

Am 18.10.2012 wurde ein Rain-Out-Shelter-Versuch zur Erforschung der Reaktion des F-Satzes in gleicher Weise wie in 2010/2012 (3.3.2.3.1.1) ausgesät. Allerdings waren zwei Rain-Out-Shelter als bewässerte Variante und zwei Rain-Out-Shelter ohne Bewässerung, jeweils zwei Wiederholungen je Variante, als zweifaktorielle Spaltanlage vorgesehen. Als Winterackerbohnenrand kam der Göttinger Winterackerbohnensynthetik zum Einsatz. Als Vorauflaufherbizid wurde Bandur mit 4 l/ha eingesetzt. Die Anzahl Keimpflanzen wurde am 16.01.2012 erfasst. Durch starke Kahlfröste mit Temperaturen bis -20 °C im frühen Frühjahr 2012 (Abbildung 5) wurde der Versuch zerstört und in der Folge umgebrochen. Eine weitere Merkmalserfassung konnte nicht erfolgen.

3.3.2.3.1.3.2012/2013

Um den ausgewinterten Versuch 2011/2012 zu kompensieren, wurde am 11.10.2012 erneut ein Versuch zur Reaktion des F-Satzes auf Wassermangel mit bewässerter Kontrolle und trockener Variante in zwei Wiederholungen per Handablage als zweifaktorielle Spaltanlage gesät. Der Reihenabstand betrug 40 cm, die Reihenlänge 1,5 m mit 20 Samen pro Reihe. Wie in 2010/2011 wurden zwei Randreihen an den Stirnseiten und Randreihen zur Trennung von Winter- und Sommerackerbohnen ausgesät. Ebenso wurde quer zu den Prüfgliedreihen eine Doppelreihe Winterackerbohnenrand gedrillt. Als Winterackerbohnenrand kam der Göttinger Winterackerbohnensynthetik, als Sommerackerbohnenrand die Sorte Tattoo (NPZ Lembke, Deutschland) zum Einsatz. Die Sommerackerbohnenprüfglieder wurden am 23.04.2013 gesät. Als Vorauflaufherbizid wurde Bandur mit 4 l/ha am 16.10.2012 gespritzt.
Wegen erneuter später Kahlfröste wurde der Versuch vom 22.03. bis 08.04.2013 mit einem Kulturschutzvlies (Lutrasil Pro 30, HADI, Deutschland; Materialstärke 30 g/m²) abgedeckt. Nach Winter wurden Fehlstellen am 23.04.2013 mit dem Genotyp Minica nachgelegt, um Randeffekte zu minimieren.
Die Rain-Out-Shelter wurden am 13.05.2012 entsprechend dem Versuch 2010/2011 über allen Varianten errichtet. Die Bewässerung der Kontrollvariante erfolgte ab diesem Zeitpunkt entsprechend des langjährigen Mittels am Standort wöchentlich. Das langjährige Mittel beträgt für Mai 61 mm/m², für Juni 73,1 mm/m² und für Juli 67,1 mm/m².

3.3.2.3.2. Groß Lüsewitz

Ebenso wie in Göttingen wurde der Feldversuchssatz auch am Standort Groß Lüsewitz in einer Rain-Out-Shelter-Anlage untersucht. Im Gegensatz zur Göttinger Anlage sind die Rain-Out-Shelter in Groß Lüsewitz mobil, d.h. sie werden bei einsetzendem Regen automatisch über den Bestand gefahren. Die in allen Jahren verwendeten Rain-Out-Shelter haben eine Grundfläche von 8 x 24 m, eine Stehwandhöhe von 1,9 m, eine Firsthöhe von 3,75 m und eine Durchfahrtshöhe von 2,40 m. Die Kontrollvariante wurde in unmittelbarer Nähe der Rain-Out-Shelter im Freiland in gleicher Weise wie unter den Rain-Out-Sheltern ausgesät.
In allen Jahren wurden die Prüfglieder in 3 m langen Doppelreihen (eine Doppelreihe = zwei Inzuchtlinien) mit 30 Samen pro Reihe per Handablage in zwei Wiederholungen pro Variante ausgesät. Der Reihenabstand betrug 30 cm zwischen den Doppelreihen. In jeder dritten Doppelreihe wurde ein Bewässerungsschlauch verlegt und der Abstand auf 50 cm erweitert. Zum einen gab es eine Kontrollvariante mit Bewässerung, zum anderen eine Trockenstressvariante, die aber auch über eine Bewässerungsmöglichkeit verfügte.
Die Bewässerung fand in allen Jahren als Tröpfchenbewässerung statt. Als Randpflanzen wurde für die Herbstsaat die Sorte Hiverna (Littmann, Timmdorf), für die Frühjahrssaat die Sorte Espresso (NPZ Lembke, Hohenlieth) verwendet.

3.3.2.3.2.1.2010/11

Für das Versuchsjahr 2010/11 fand die Aussaat als zweifaktorielle Blockanlage am 14.10.2010 statt. Aufgrund starken Frostes im Frühjahr 2011 ist der Versuch ausgewintert und wurde in der Folge umgebrochen.

3.3.2.3.2.2.2012

Nach der Auswinterung im ersten Versuchsjahr wurde mit dem 23.02.2012 ein extremer Spätsaattermin für die Winterbohnenaussaat gewählt. Der Versuch wurde als zweifaktorielle Blockanlage angelegt. Die Sommerbohnen wurden am 04.04.2012 ausgesät. Mit Beginn der Blüte der Winterbohnen wurde die Bewässerung der Trockenvariante am 29.05.2012 eingestellt, gleiches geschah für die Sommerbohnen am 06.06.2012. Zur Erfassung des $\Delta^{13}C$ wurden am 28.06.2012 von allen Prüfgliedern Blattproben entnommen. Die eigentliche Ernte der Prüfglieder fand entsprechend der Reife einzelner Genotypen zwischen dem 13.08. und 30.08. in der Trockenstressvariante und in der bewässerten Kontrolle vom 27.08. bis 25.09.2012 für die Winterackerbohnen statt. Die Sommerackerbohnen wurden in der Trockenstressvariante zwischen dem 27. und 29.08. und in der Kontrollvariante am 25.09. geerntet.
Am 03.05. und 15.05.2012 fand eine Herbizidbehandlung statt. Am 25.05.2012 wurde eine Insektizid-Herbizid-Mischung gespritzt. Zudem wurde am 14.06. und 09.07.2012 eine reine Insektizidbehandlung durchgeführt.

3.3.2.3.2.3.2012/13

Für das Versuchsjahr 2012/13 fanden die Herbstsaat am 19.10.2012 und die Frühjahrssaat am 10.04.2013 statt. Es handelte sich um eine zweifaktorielle Blockanlage. Winterbedingte Fehlstellen wurden mit der Sorte Espresso nachgesät. Die Winterackerbohnenblüte setzte ab 27.05.2013 ein, die Sommerackerbohnenblüte am 15.06.2013. Ab diesem Zeitpunkt wurde die Bewässerung in der Trockenstressvariante eingestellt. Die Probennahme der Blätter für das Merkmal $\Delta^{13}C$ fand am 10.07.2013 statt.
Am 22.10.2012 wurde ein Herbizid appliziert und am 24.06., 01.07. und 15.07.2013 ein Insektizid gespritzt.
Die Ernte der Winterbohnen im Rain-Out-Shelter erfolgte zwischen dem 30.07. und 13.08.2013, der Kontrollvariante zwischen dem 15.08. und 28.08. Die Sommerbohnen im Shelter wurden am 13.08.2013 und die Kontrollvariante am 27. und 28.8.2013 geerntet.

3.3.2.3.3. $\Delta^{13}C$

Zur Analyse des Merkmal $\Delta^{13}C$ wurden Blattproben der Inzuchtlinien des F-Satzes wie beschrieben in den Rain-Out-Sheltern in Groß Lüsewitz in beiden Jahren genommen. Die Proben wurden vermahlen und massenspektrometrisch auf ihren Gehalt der relevanten Kohlenstoffisotope am Johann-Heinrich-von-Thünen-Institut für Agrarklimaschutz in der Arbeitsgruppe von Anette Giesemann untersucht. Die Methodik folgte Giesemann (2005).

3.3.2.4. Mehrortige Auswertung der Rain-Out-Shelter-Versuche

Die Rain-Out-Shelter-Versuche in Göttingen 2012/13, Groß Lüsewitz 2012 und Groß Lüsewitz 2012/13 wurden hinsichtlich der Merkmale TKG und Ertrag je für Stressvariante und Kontrolle mehrortig ausgewertet. Außerdem wurde die Differenzen für TKG und Ertrag der beiden Behandlungen errechnet und als Merkmale ergänzt. Die so gewonnenen arithmetischen Mittelwerte des V-Satzes über alle drei Orte bzw. Jahre wurden zum Vergleich mit den physiologischen Daten des V-Satzes herangezogen (s. 4.4.2).
Ferner wurden die Ergebnisse der Rain-Out-Shelter-Versuche nach dem Versuchsfehler des jeweiligen Merkmals gewichtet (Utz, 1974). Die so erfassten Daten werden in Kapitel 4.4.2 den Ergebnissen der Phänotypisierung des P-Satzes gegenübergestellt.

3.3.2.5. Phänotypisierung des P-Satzes

Im Rahmen dieses Promotionsprojekts wurden alle Genotypen des Physiologiesatzes (vgl. Tabelle 21) beim Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz des Julius-Kühn-Instituts, Groß Lüsewitz, in der Arbeitsgruppe von Christiane Balko untersucht. Die erste Versuchsreihe wurde im Winter 2011/2012, die zweite Versuchsreihe im Winter 2012/2013 durchgeführt. Beide Versuchsreihen beinhalteten dieselben Genotypen bei gleichen Bedingungen und werden statistisch als zwei Wiederholungen behandelt. Der Versuch wurde als Gitteranlage ausgeführt.

Pro Versuchsreihe wurden zehn Pflanzen eines Genotyps angezogen. Zwei Pflanzen wurden dabei in einem Topf der Größe 11 x 11 cm kultiviert, sodass fünf Töpfe in einer Versuchsreihe vorhanden waren. Die topfweisen Pflanzenpaare wurden getrennt voneinander phänotypisiert (s.u.). Die Pflanzen wurden über 23 Tage vorgezogen. Während der Anzucht in der Klimakammer wurden die Pflanzen 16 Stunden Licht und einer Temperatur von tags 20 °C und nachts 17 °C ausgesetzt.

Pro Versuchsreihe wurde von allen Pflanzen zu zwei Terminen Pflanzenmaterial entnommen: Erstens 23 Tage nach der Aussaat, zweitens fünf Tage danach – also 28 Tage nach Aussaat – wenn sich ein neues, voll entwickeltes Blatt gebildet hatte.

Von allen Pflanzen wurde zu diesen zwei Terminen jeweils das jüngste voll entwickelte Blatt geerntet und hiervon eines seiner Fiederblätter verwendet. Für die Quantifizierung des Glycinbetaingehaltes wurde ein weiteres Fiederblatt benutzt. Aus den Fiederblättern wurden entweder Blattscheiben ausgestanzt oder die einzelnen Fiederblätter als Ganzes verwendet (Tabelle 1). Blattscheiben für Prolin- und Zuckeranalysen wurden aus demselben Fiederblatt, Blattscheiben zur Bestimmung des Membranstabilitätsindexes aus einem anderen Fiederblatt desselben Blattes ausgestanzt.

Tabelle 1: Untersuchte Merkmale und Termine im Physiologiesatz je Versuchsreihe.

Merkmal	Termin 1	Termin 2	Kontrolle	Stress
Freies Prolin	X		Beide Merkmale an denselben 5 Blattscheiben	5 Blattscheiben (PEG)
Lösliche Zucker	X			5 Blattscheiben (Welke)
Membranstabilität	X		5 Blattscheiben	5 Blattscheiben (Welke)
Spad		X	Messung der Merkmale vor und nach Stress an denselben Fiederblättern	
Blattwassergehalt		X		
Glycinbetain		X	Gegenüberliegendes Fiederblatt zu Stressvariante	Dasselbe Fiederblatt wie bei Blattwassergehalt und Spad

Tabelle 2: Merkmale, ihre Abkürzung, Einheit und der ggf. dazugehörige Rechenweg.

Merkmal	Abkürzung	Einheit	Rechenweg
Gemessene Merkmale:			
Kontrolle:			
Gehalt freien Prolins in der TS	K_Prolin	µmol/g TS	-
Gesamtgehalt löslicher Zucker (GLZ)	K_GLZ	µmol/g TS	-
Membranstabilitätsindex (MSI)	K_MSI	%	-
Spad	K_Spad	dimensionslos	-
Blattwassergehalt (BWG)	K_BWG	%	-
Gehalt Glycinbetain (GB) in der TS	K_GB	µmol/g TS	-
Stressbehandlung:			
Gehalt freien Prolins in der TS	S_Prolin	µmol/g TS	-
Gesamtgehalt löslicher Zucker	S_GLZ	µmol/g TS	-
Membranstabilitätsindex	S_MSI	%	-
Spad	S_Spad	dimensionslos	-
Blattwassergehalt	S_BWG	%	-
Gehalt Glycinbetain in der TS	S_GB	µmol/g TS	-
Errechnete Merkmale:			
Absolute Differenz des Prolin	Prolinabs	µmol/g TS	= T_Prolin – K_Prolin
Absolute Differenz des GLZ	GLZabs	µmol/g TS	= T_GLZ – K_GLZ
Absolute Differenz des MSI	MSIabs	%	= K_MSI – T_MSI
Absolute Differenz des Spad	Spadabs	dimensionslos	= K_Spad – T_Spad
Absolute Differenz des BWG	BWGabs	%	= K_BWG – T_BWG
Absolute Differenz des GB	GBabs	µmol/g TS	= T_GB – K_GB
Relativer GLZ	GLZ%	%	= (T_GLZ / K_GLZ) * 100
Relativer Spadwert	SPD%	%	= (T_Spad / K_Spad) * 100
Relativer BWG	BWG%	%	= (T_BWG / K_BWG) * 100
Relativer GB	GB%	%	= (T_GB / K_GB) * 100

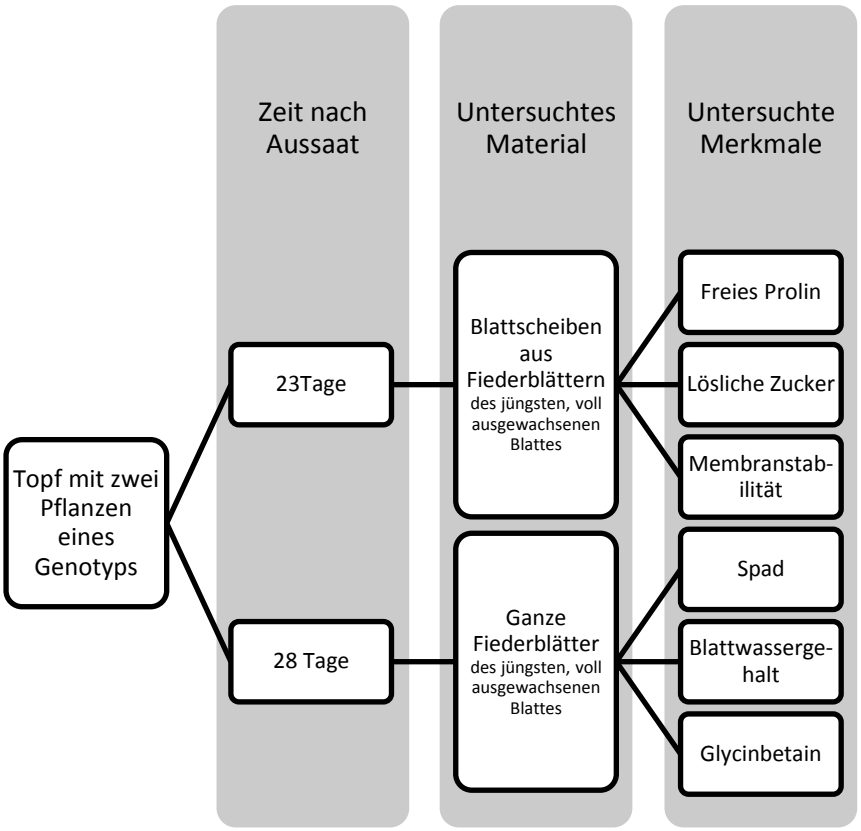


Abbildung 6: Organigramm der Phänotypisierung eines Topfes mit zwei Pflanzen eines Genotyps.

3.3.2.5.1. Gehalt an freiem Prolin in der Trockenmasse

Zur Bestimmung freien Prolins wurden fünf Blattscheiben aus je einem Fiederblatt des jüngsten voll entwickelten Blattes beider Pflanzen jedes Topfes ausgestochen und in zwei Varianten zu je fünf Blattscheiben vorbereitet. Zum einen wurden die Messungen an einer Kontrollvariante von fünf Blattscheiben ohne Stressbehandlung durchgeführt, wobei diese Blattscheiben unmittelbar nach den Probenahmen in flüssigem Stickstoff eingefroren wurden. Diese Blattscheiben dienten auch als Kontrollvariante der Zuckeranalysen. Die anderen fünf Blattscheiben wurden in einem Stressmedium behandelt. Als Stressmedium wurden 420 g Polyethylenglykol (PEG) 6000 pro kg H_2O in einem HEPES-Puffer (25 mM KCl, 3,7 mM $CaCl_2$ und 5 mM HEPES) gelöst, die Blattscheiben aufgelegt (10 ml Stressmedium in Klarsichtdosen) und bei 20 °C, 80 % relativer Luftfeuchte sowie Dauerlicht über 48 Std. im Klimaschrank auf einem Rotationsschüttler bei 60 rpm inkubiert.
Der Gehalt an freiem Prolin wurde nach Bates et al. (1973) an gefriergetrocknetem Material photometrisch bestimmt.

3.3.2.5.2. Gesamtgehalt löslicher Zucker in der Trockenmasse

Bei der Zuckergehaltsbestimmung wurden für die Kontrollvariante dieselben fünf Blattscheiben wie bei der Prolinanalyse benutzt. Die Kontrollvariante wurde sofort eingefroren und dann gefriergetrocknet. Die Stressvariante wurde der Welke ausgesetzt. Hierzu wurden weitere fünf Blattscheiben je Topf auf Gaze in geschlossene Klarsichtdosen gelegt und bei 20 °C, 80 % relativer Luftfeuchte und Dauerlicht 48 Stunden im Klimaschrank gewelkt.
Der Gesamtgehalt löslicher Zucker wurde an den gefriergetrockneten Blattscheiben photometrisch mittels Anthronmethode nach Yemm und Willies (1954) durchgeführt.

3.3.2.5.3. Membranstabilitätsindex

Für die Ermittlung des Membranstabilitätsindex wurden die je Variante weiteren fünf Blattscheiben ebenso wie in 3.3.2.5.2 für lösliche Zucker beschrieben, gestresst bzw. als Kontrollvariante nicht stressbehandelt. Zur Bestimmung des Membranstabilitätsindex wurden die Blattscheiben in 50 ml Zentrifugenröhrchen mit 20 ml Reinstwasser 24 Std. bei 7 °C geschüttelt und anschließend die Leitfähigkeit (C1) gemessen. Danach wurden alle Proben eingefroren, dann 30 Min. gekocht und anschließend erneut die Leitfähigkeit gemessen (C2).
Der Membranstabilitätsindex [%] wurde nach Chandrasekar et al. (2000) wie folgt errechnet

$$MSI = \left(1 - \frac{C1}{C2}\right) * 100$$

3.3.2.5.4. Chlorophyllgehalt der Blätter

Der Chlorophyllgehalt der Fiederblätter wurde indirekt mit einem Spad 502Plus (Konica Minolta) an abgetrennten Fiederblättern bestimmt. Hierzu wurden zwei ungestresste Fiederblätter je Topf sofort gemessen. Insgesamt wurden also zehn Fiederblätter je Genotyp gemessen. Diese Fiederblätter wurden anschließend in einer mit Parafilm verschlossenen Petrischale auf Gazen über 48 Std. bei 20 °C, 80 % relativer Luftfeuchte und Dauerlicht im Klimaschrank gewelkt und daraufhin erneut gemessen.

3.3.2.5.5. Blattwassergehalt

Der Blattwassergehalt [%] wurde nach der Formel

$$Blattwassergehalt = \frac{Frischmasse - Trockenmasse}{Frischmasse} * 100$$

berechnet. Hierzu wurden die Frischmassen vor Welke der schon zur Chlorophyllgehaltsbestimmung verwendeten zehn Fiederblätter gewogen. Nachdem eben diese Fiederblätter anschließend 48 Std. in einer mit Parafilm verschlossenen Petrischale auf Gazen bei 20 °C, 80 % relativer Luftfeuchte und Dauerlicht im Klimaschrank gewelkt wurden und der Spad-Wert gemessen wurde (s. o. 3.3.2.5.4), wurde daraufhin die Frischmasse nach Welke gewogen. Die Trockenmasse wurde wie in 3.3.2.5.6 beschrieben bestimmt. Der Blattwassergehalt für Kontrolle und Stress wurde entsprechend für beide Behandlungen nach der obigen Formel berechnet.

3.3.2.5.6. Glycinbetaingehalt in der Trockenmasse

Die Glycinbetaingehaltsbestimmung wurde an fünfmal zwei für 3.3.2.5.4 und 3.3.2.5.5 abgetrennten, ganzen Fiederblättern eines Genotyps durchgeführt. Als Kontrollvariante diente jeweils das Fiederblatt, welches dem für die Stressvariante von Spad, Blattwassergehalt und Glycinbetaingehalt (3.3.2.5.4, 3.3.2.5.5 und 3.3.2.5.6) direkt gegenüber lag. Es existierte also eine ungestresste Variante und eine gewelkte Variante (48 Std. in einer mit Parafilm verschlossenen Petrischale auf Gazen bei 20 °C, 80 % relativer Luftfeuchte und Dauerlicht im Klimaschrank), die bei 60°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurden. Dieses Blattmaterial wurde mit einer Schwingmühle vermahlen und anschließend der Glycinbetaingehalt mittels Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) bestimmt. Für die NIRS-Methode wurde zuvor eine Kalibrierung (Balko und Jansen, persönl. Mitteilung, 2013) mit der photometrischen Methode zur Messung von Glycinbetain nach Grieve und Grattan (1983) anhand von 79 Genotypen durchgeführt. Die Korrelation der Werte in der Kalibration betrug r = 0,8999 (Balko und Jansen, persönl. Mitteilung, 2013). Die Kreuzvalidation ergab ein R^2 von 0,6986.

3.3.3. Verarbeitung und statistische Auswertung der Daten

Zur statistischen Analyse der Daten wurde das Programm Plabstat, Version 3A (Utz, 2005) genutzt. Die Wahl der Modelle erfolgte entsprechend des Versuchsdesigns. Die F-Werte wurden als Verhältnis der mittleren Abweichungsquadrate zu den mittleren Abweichungsquadraten plus Versuchsfehler berechnet. Die Feldversuchsdaten wurden mit dem in Plabstat implementierten Ausreißertest überprüft. Bei 68 im Feld auf allen Standorten analysierten Merkmalen fanden sich über alle Genotypen, Behandlungen und Wiederholungen 23 Ausreißer (0,03 % der erhobenen Merkmalswerte). Diese wurden anhand der Rohdaten überprüft und in vier Fällen als fehlender Werte gesetzt. Die den Varianzanalysen zugrunde liegenden Modelle sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Modelle der Varianzanalysen der verschiedenen Versuche.

Versuch	Modell[a]
Sikkationsversuch Göttingen 2010/11	$Y_{ijk} = \mu + \omega_j + \beta_k + \gamma_i + \beta\gamma_{ki} + \epsilon_{ijk}$
Sikkationsversuch Hohenlieth 2011	$Y_{ijk} = \mu + \omega_j + \beta_k + \gamma_i + \beta\gamma_{ki} + \epsilon_{ijk}$
Sikkationsversuch Hohenlieth 2011/12	$Y_{ijk} = \mu + \omega_j + \beta_k + \gamma_i + \beta\gamma_{ki} + \epsilon_{ijk}$
Sikkationsversuch Roßleben 2012/13	$Y_{ijk} = \mu + \omega_j + \beta_k + \gamma_i + \beta\gamma_{ki} + \epsilon_{ijk}$
Rain-Out-Shelter Göttingen 2010/11	$Y_{ij} = \mu + \gamma_i + \omega_i + \epsilon_{ij}$
Rain-Out-Shelter Göttingen 2012/13	$Y_{ijk} = \mu + \omega_j + \beta_k + \gamma_i + \beta\gamma_{ki} + \epsilon_{ijk}$
Rain-Out-Shelter Groß Lüsewitz 2012	$Y_{ijk} = \mu + \beta_k + (\omega_i)\beta_k + \gamma_i + \beta\gamma_{ki} + \epsilon_{ijk}$
Rain-Out-Shelter Groß Lüsewitz 2012/2013	$Y_{ijk} = \mu + \beta_k + (\omega_i)\beta_k + \gamma_i + \beta\gamma_{ki} + \epsilon_{ijk}$
Mehrortige Auswertung Rain-Out-Shelter	$Y_{ij} = \mu + \gamma_i + \vartheta_l + \epsilon_{il}$
$\Delta^{13}C$; mehrortig, mehrjährig	$Y_{ijlk} = \mu + \tau_i + (\omega_j)\tau\beta_{ik} + \beta_k + \gamma_l + \beta\gamma_{kl} + \beta\tau_{ik} + \tau\gamma_{il} + \tau\beta\gamma_{ijl} + \epsilon_{ijkl}$

[a] Y = Merkmalswert; μ = Merkmalsmittelwert; γ = Effekt des Genotyps (fixer Effekt); ω = Effekt der Wiederholung (zufälliger Effekt); β = Effekt der Behandlung (fixer Effekt); ϑ=Effekt des Ortes (zufälliger Effekt); τ = Effekt des Versuchsjahres (zufälliger Effekt); ϵ = Fehler; () = der Effekt innerhalb der Klammer (hierarchischer Effekt) ist innerhalb des Effekts hinter der Klammer randomisiert

Einige der statistischen Auswertungen wurden ergänzend in JMP 9.0.0 (SAS Institute, 2010) durchgeführt. Die allgemeine Datenverarbeitung und graphische Darstellungen wurden mit Microsoft Excel 2010 realisiert.

4. Ergebnisse

4.1. Phänotypisierung des Physiologiesatzes

Für alle Merkmale findet sich ein signifikanter Einfluss des Genotyps, wie in Tabelle 4 ersichtlich. Jedoch zeigen die Merkmale stark unterschiedliche Reproduzierbarkeiten. Am niedrigsten ist h^2 mit 29,2 % für die errechnete Differenz des Gehalts an löslichen Zuckern zwischen beiden Behandlungen. Die höchste Wiederholbarkeit zeigt das Merkmal Spad-Wert in der Kontrolle; h^2 beträgt 90,4 %.
Für das Merkmale Glycinbetain in Kontrolle, Stress und aus den dazugehörenden errechneten Merkmalen zeigt sich eine deutlich höhere Effizienz der Gitteranlage (>100 %) gegenüber einer vollständig randomisierten Blockanlage. Für andere Merkmale zeigt die Gittereffizienz niedrigere Werte, die zwischen 111,7 % und 190,9 % rangieren.

Tabelle 4: Ergebnisse[g] der Gitteranalyse für die Phänotypisierung des P-Satzes.

Beh.	Merkmal	Sta.-Fehler[a]	Sta.-Abw.[b]	Var.-Koeff.[c]	Wiederholbarkeit[e]	Gitter-Effizienz[e]
Gemessene Merkmale:						
K.	K_Prolin	0,92	1,11**	36,8	34,1	128,3
K.	K_GLZ	71,59	125,02**	23,3	68,1	111,7
K.	K_MSI	0,87	1,11**	1,5	38,1	122,4
K.	K_Spad	1,13	3,58**	4,3	90,4	141,8
K.	K_BWG	0,3	0,72**	0,5	82,5	123,1
K	K_GB	0,37	0,61**	5,2	63,0	377,3
S.	S_Prolin	23,81	60,57**	7,9	84,3	123,8
S.	S_GLZ	78,63	156,67**	11,7	74,9	147,6
S.	S_MSI	5,78	7,65**	27,7	42,6	150,5
S.	S_Spad	1,47	3,46**	6,4	81,8	125,0
S.	S_BWG	2,68	7,98**	10	88,6	121,1
S	S_GB	0,75	1,22**	6,9	61,9	185,5
Errechnete Merkmale:						
	Prolinabs	23,63	60,40**	7,9	84,5	124,0
	GLZabs	59,53	70,44**	16,2	29,2	190,9
	MSIabs	5,9	7,76**	15,7	41,4	145,2
	SPADabs	1,29	1,96**	39,2	55,0	114,8
	BWGabs	2,76	7,93**	7,5	87,7	120,0
	GBabs	0,71	1,09**	19,5	57,9	268,7
	GLZ%	34,03	47,68**	20,6	49,8	113,3
	SPD%	3,35	5,03**	5,4	52,7	112,4
	BWG%	3,03	8,86**	10,1	88,2	120,5
	GB%	11,56	13,79**	10,2	30,6	345,6

[a]Standardfehler der (adjustierten) Prüfgliedmittelwerte, [b]Standardabweichung der (adjustierten) Prüfgliedmittelwert und Signifikanzniveau des Faktors Genotyp aus F-Test, [c]Variationskoeffizent, [e][%] auf Basis zweier Wiederholungen: h^2 = Varianzkomponente des Prüfglieds/ [(Varianzkomponente des Prüfglieds) + ($^1/_2$ * Effektive Fehler-Varianz)]*100, [f]Effizienz des Gitters im Vergleich zum Blockversuch [%], [g]Maßeinheiten entsprechend Tabelle 2

Tabelle 5: Grendifferenz 5 %, Mittelwert, Minima und Maxima[a] der phänotypischen Analyse des P-Satzes basierend auf Gitteranalyse.

Merkmal	GD (G) 5 %[b]	Mittelwert	Minimum	Maximum
K_Prolin	2,56	3,51	0,28	14,71
K_GLZ	199,95	434,24	134,52	1302,11
K_MSI	2,43	82,85	74,54	87,16
K_Spad	3,15	37,35	23,90	49,32
K_BWG	0,82	89,84	86,84	91,60
K_GB	1,04	10,06	4,48	13,76
S_Prolin	66,49	424,18	167,20	688,89
S_GLZ	219,59	954,21	502,71	1746,91
S_MSI	16,14	29,53	1,23	76,52
S_Spad	4,11	32,70	21,40	45,28
S_BWG	7,47	37,97	11,33	56,09
S_GB	2,08	15,18	10,74	23,42
Errechnete Merkmale:				
Prolinabs	66,01	420,66	164,94	683,67
GLZabs	166,26	519,97	183,62	939,07
MSIabs	16,48	53,32	2,79	83,11
SPDabs	3,59	4,65	-2,60	11,88
BWGabs	7,72	51,87	32,51	78,49
GBabs	1,97	5,13	-0,50	13,08
GLZ%	95,03	233,93	115,03	578,64
SPD%	9,36	87,61	69,65	106,72
BWG%	8,45	42,27	12,61	62,85
GB%	32,28	32,28	95,52	346,28

[a]Maßeinheiten entsprechend Tabelle 2, [b]Grenzdifferenz 5 % für Genotypen

Auffällig sind in Tabelle 5 die Gehalte an löslichen Zuckern in Kontrolle und Stress, deren Minima und Maxima innerhalb der Behandlungen stark differieren. In ähnlicher Weise verhalten sich die Werte für Prolin unter Stress. Diese Merkmale zeigen ebenfalls große Grenzdifferenzen und Standardabweichungen (vgl. Tabelle 4).

4.2. Molekulare Marker

4.2.1. Kartierung der Marker

Von den verwendeten 1539 Markern konnten 567 Marker der High-Fidelity-Map zugeordnet werden und 1451 Marker wurden auf der endgültig entwickelten Karte platziert. Es gibt in dieser Karte 1159 Loci, d. h. es sind 292 Marker kosegregierend. Es wurden zwölf Kopplungsgruppen ermittelt, wobei sieben Hauptkopplungsgruppen mit einer Größe von 154,5 bis 313,8 cM und fünf Nebenkopplungsgruppen mit Größen von 15,6 bis 22,6 cM entstanden. Weisen die Hauptkopplungsgruppen 147 bis 395 kartierte Marker auf, so sind dies in den Nebenkopplungsgruppen zwei bis elf. Die endgültige Karte hat eine Gesamtlänge von 1633,2 cM und die High-Fidelity-Map hat eine Länge von 1568,8 cM. Der durchschnittliche Abstand der Loci über die gesamte Karte beträgt 1,41 cM und 2,77 cM in der High-Fidelity-Map. Die Häufigkeiten der Markerabstände der genetischen Karte sind als Histogramm in Abbildung 7 dargestellt. Hierbei wird deutlich, dass der überwiegende Teil der Marker einen Abstand von nur wenigen Zentimorgan hat. Nur wenige Markerabstände fallen in die Klassen größer als 3 cM. Die 292 kosegregierenden Marker bilden die Klasse 0 cM. Weitere Details über die erstellte Karte sind in Tabelle 6 wiedergegeben. Die graphische Darstellung der Kopplungsgruppen befindet sich im Anhang (Abbildung 32).
Durch SNP-Marker, die auch in einer dem Autor zur Verfügung stehenden, unveröffentlichten „Consensus Map“ (O'Sullivan, persönl. Mitteilung, 2012) kartiert sind, können die Hauptkopplungsgruppen verifiziert und auf eine Gesamtzahl von sechs Kopplungsgruppen reduziert werden (vgl. Abbildung 33).

Tabelle 6: Ergebnisse der Markerkartierung.

	Gesamte Karte				High-Fidelity-Map			
Name	Anzahl Marker	Anzahl Loci	Länge[a] [cM]	Mittl. Abstand Loci[b]	Anzahl Marker	Anzahl Loci	Länge[a] [cM]	Mittl. Abstand Loci[b]
KG01	395	307	313,8	1,02	121	121	277,1	2,29
KG02	233	188	245,3	1,30	101	101	241,5	2,39
KG02	227	192	245,1	1,28	88	88	245,1	2,79
KG04	150	120	225,4	1,88	70	70	206,2	2,95
KG05	158	131	201,0	1,53	66	66	199,4	3,02
KG06	121	102	156,7	1,54	52	52	156,7	3,01
KG07	147	100	154,5	1,55	51	51	151,4	2,97
KG08	2	2	22,6	11,30	2	2	22,6	11,30
KG09	11	10	20,1	2,01	9	9	20,1	2,23
KG10	3	3	16,6	5,53	3	3	16,6	5,53
KG11	2	2	16,5	8,25	2	2	16,5	8,25
KG12	2	2	15,6	7,80	2	2	15,6	7,80

[a]Länge einer Kopplungsgruppe [cM], [b]mittlerer Abstand [cM] der Loci auf einer Kopplungsgruppe

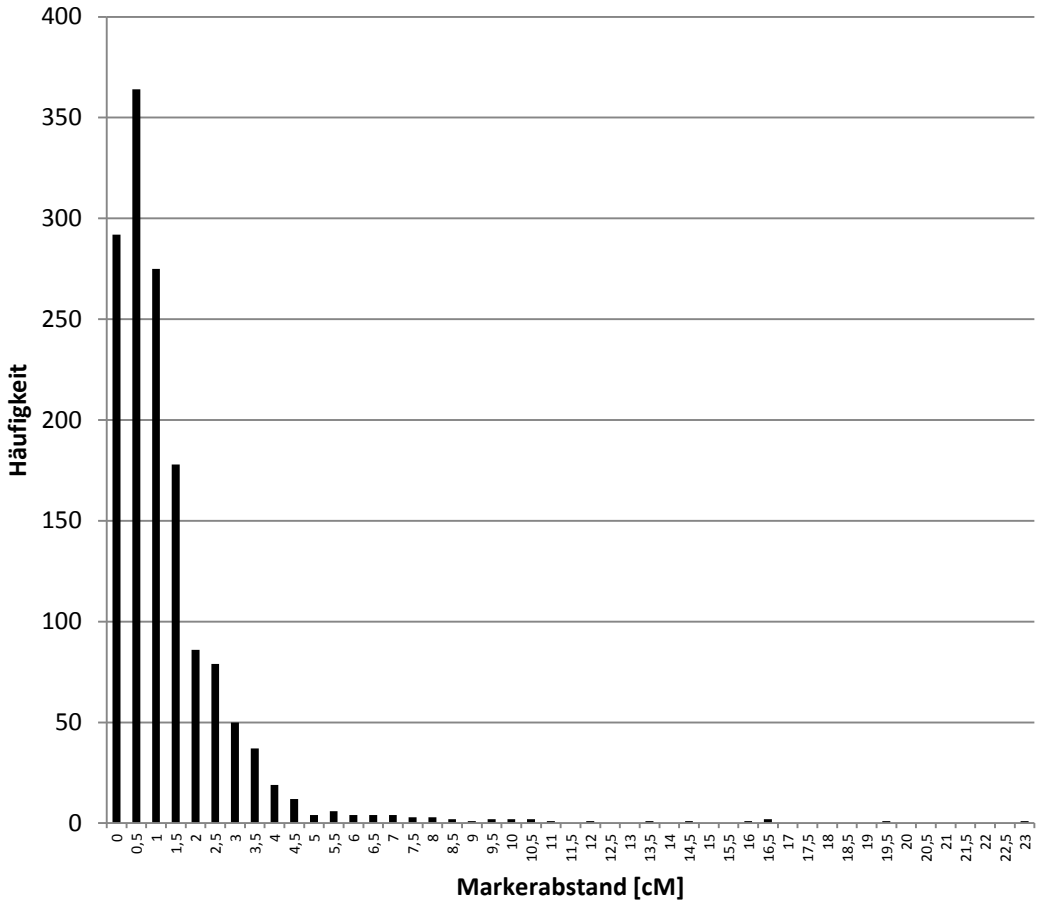


Abbildung 7: Histogramm der Markerabstände [cM] auf der gesamten genetischen Karte.

4.2.2. Gametenphasenungleichgewicht

In Tabelle 7 wird das Gametenphasenungleichgewicht (LD) innerhalb von Kopplungsgruppen und das LD ohne Kopplung zwischen den Markerloci wiedergegeben. Hierbei werden entweder alle LD-Werte berücksichtigt oder nur die nach Bonferroni-Korrektur signifikanten. Dem Bonferroni-korrigierten maximalen p-Wert liegen $\alpha = 0{,}1$ und 805 Markerloci – dies ergibt 323 610 paarweise Vergleiche – zugrunde. Als Signifikanzschwelle für die Bonferroni-Korrektur ergibt sich somit ein p-Wert von $3{,}09*10^{-7}$. Der kleinste signifikante LD-Wert beträgt $r^2 = 0{,}1258$. Das Gametenphasenungleichgewicht gekoppelter Marker ist bei Betrachtung aller Markerpaare 1,32-fach höher als das LD zwischen ungekoppelten Markern. Bei Markerpaaren, deren LD-Werte mit $\alpha \leq 3{,}09*10^{-7}$ signifikant sind, ist das mittlere LD gekoppelter Marker 1,20-fach höher als das mittlere LD zwischen Markerpaaren, deren Marker nicht gekoppelt sind. Bei Betrachtung aller paarweisen Vergleiche gibt es einen signifikanten Mittelwertsunterschied des LD (Studentscher t-Test, für alle LD-Werte gegenüber signifikanten LD-Werten) zwischen den Markerpaaren auf ein und derselben Kopplungsgruppe und Markerpaaren deren Marker nicht gekoppelt sind. Tabelle 8 gibt das Gametenphasenungleichgewicht in den verschiedenen Kopplungsgruppen der in 4.2.1 beschriebenen genetischen Karte wieder. Hierbei unterscheidet sich das mittlere LD innerhalb der Kopplungsgruppen nicht signifikant zwischen den Kopplungsgruppen und ebenso nicht vom Mittelwert, wenn nur nach Bonferroni-Korrektur des α-Fehlers signifikante LD-Werte in die Berechnung einfließen. Betrachtet man hingegen alle Markerpaare, so unterscheidet sich das mittlere LD einiger Kopplungsgruppen vom mittleren LD anderer Kopplungsgruppen. Ebenso ist das mittlere LD über alle Kopplungsgruppen signifikant verschieden vom mittleren LD der einzelnen Hauptkopplungsgruppen (KG01 bis KG07).
Abbildung 8 verdeutlicht das schnelle Absinken des LD mit zunehmender Distanz der Marker. Die Darstellung fußt auf den LD-Werten aller 323 610 paarweisen Vergleiche. Die r^2-Werte wurden nach den cM-Abständen zwischen ihren Markern – ermittelt anhand der K-Satz-Daten – in Gruppen zusammengefasst, mit einer Schrittlänge von je 1 % Rekombination. Dann wurde entsprechend das mittlere LD jeder Rekombinationsfrequenz-Gruppe berechnet. Die Rekombinationsfrequenz wurde in Zentimorgan nach Kosambi (1944) umgerechnet. Bemerkenswert ist der Bereich von etwa 2 cM. Hiernach sinkt das Gametenphasenungleichgewicht rapide ab. Bei etwa 28 cM erreicht das LD ein Plateau von $r^2 \approx 0{,}007$.

Tabelle 7: Mittleres LD [r^2] aller Markerpaare, aller gekoppelten Markerpaare und aller nicht gekoppelten Markerpaare und mittleres LD [r^2] aller Markerpaare mit signifikantem LD (Bonferroni-korrigiert), wiederum mit und ohne Kopplung. Das LD von Markerpaaren, deren Marker gekoppelt sind ist höher als das LD von Markerpaaren, deren Marker nicht gekoppelt sind. Der Unterschied ist signifikant (gekennzeichnet durch unterschiedliche Buchstaben) bei Betrachtung aller Markerpaare und nicht signifikant bei Betrachtung nur der Markerpaare in signifikantem LD.

	Mittleres r^2	Prozent aller Markerpaare	Mittleres r^2 bei Kopplung (% der Markerpaare)	Mittleres r^2 ohne Kopplung (% der Markerpaare)
Alle Markerpaare	0,0077	100 %	$0{,}0096_A$ (16,3 %)	$0{,}0073_B$ (83,7 %)
Markerpaare mit signifikantem LD (Bonferroni)	0,2886	0,04 %	$0{,}2987_A$ (79,4 %)	$0{,}2494_A$ (20,6 %)

Tabelle 8: Mittleres LD [r^2] innerhalb der Kopplungsgruppen für alle Markerpaare und für die Gruppe von Markerpaaren, deren LD-Wert nach Bonferroni-Korrektur signifikant war. Signifikante Unterschiede des mittleren LD aller und aller nach Bonferroni-Korrektur signifikanten zu allen Markerpaaren und nach Bonferroni-Korrektur signifikanten LD-Werten der Markerpaare innerhalb einer Kopplungsgruppe sind mit Tukey-HSD-Test ermittelt worden und mit unterschiedlichen Buchstaben kenntlich gemacht.

Kopplungsgruppe	Alle LD-Werte	Signifikant (Bonferroni)	Länge der Kopplungsgruppe [cM]	Anzahl kartierter Marker
Mittelwert	$0{,}0077_E$	$0{,}2886_A$		
KG01	$0{,}0091_D$	$0{,}3152_A$	313,8	395
KG02	$0{,}0096_{CD}$	$0{,}3564_A$	245,3	233
KG03	$0{,}0095_{CD}$	$0{,}2881_A$	245,1	227
KG04	$0{,}0101_C$	$0{,}2174_A$	225,4	150
KG05	$0{,}0092_{CD}$	$0{,}2606_A$	201,0	158
KG06	$0{,}0126_A$	$0{,}2574_A$	156,7	121
KG07	$0{,}0113_B$	$0{,}2501_A$	154,5	147
KG08	-	-	22,6	2
KG09	$0{,}0052_{ABCDE}$	-	20,1	11
KG10	-	-	16,6	3
KG11	$0{,}5534_{ABCDE}$	-	16,5	2
KG12	-	-	15,6	2

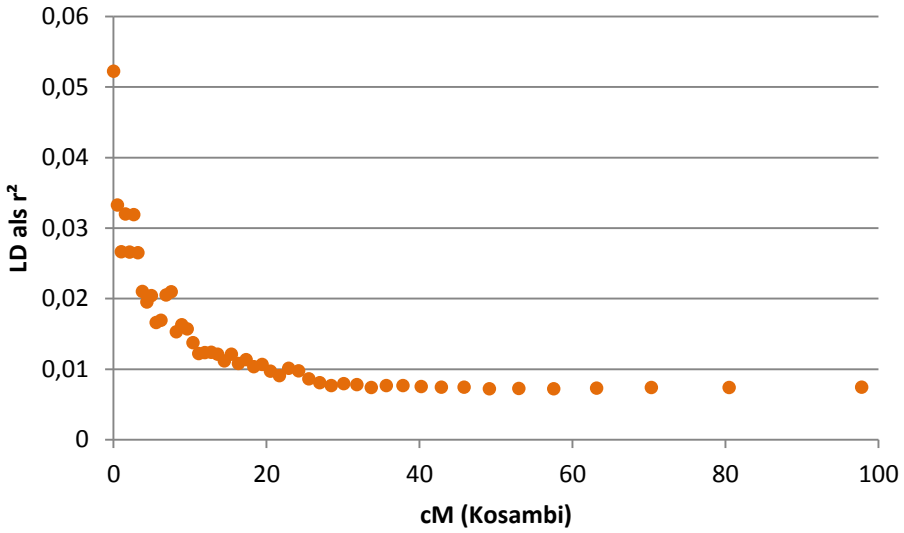


Abbildung 8: Abfall des Gametenphasenungleichgewichts im Assoziationssatz als r^2 mit zunehmender Markerdistanz [cM] ermittelt im Kartierungssatz.

4.2.3. Assoziationsanalyse

Per Assoziationsanalyse mit 1322 Markern wurden QTL für die Merkmale absolute Differenz im Glycinbetaingehalt zwischen beiden Behandlungen (GBabs), dessen Absolutwerte in der Kontrollvariante (K_GB) sowie die absolute Differenz des Prolingehalts zwischen den Behandlungen (Prolinabs) gefunden (Tabelle 9). Die QTL wurden anhand ihres p-Wertes mittels einer „false discovery rate" von 0,2 als signifikant bestimmt (Benjamini und Hochberg, 1995). Rechnerisch verwandte Merkmale führten im Fall von Prolin und Glycinbetain zu gleichen QTL. Es konnten dieselben Markerloci wie für Prolinabs bzw. GBabs auch als QTL für die Merkmale S_Prolin und GB% identifiziert werden. Diese sind nicht mit aufgeführt. Kartierte Loci sind angegeben.
Bei dominanten AFLP-Markern bezieht sich das Vorzeichen der dargestellten Effekte jeweils auf die allelische Ausprägung „1". Der Betrag der Effekte ist die direkte Differenz zwischen den Effekten, die die zwei Allele eines QTL auf das Merkmal haben. R^2 gibt den durch diesen Locus erklärten Anteil der phänotypischen Variation des Merkmals an.

Tabelle 9: Ergebnis der Assoziationsanalyse.

	Markerlocus	KG[a]	Position [cM]	p-Wert	Merkmal[b]	Effekt[c]	R^2 [%]
1	E36M48-279	7	94,4	$7{,}50 \times 10^{-7}$	GBabs	+1,22	11,7
2	E41M55-282	-	-	$1{,}29 \times 10^{-4}$	K_GB	+0,36	8,1
3	E42M51-135	3	125,9	$1{,}76 \times 10^{-5}$	Proabs	-43,43	12,1
4	E36M48-279	7	94,4	$1{,}06 \times 10^{-4}$	Proabs	+57,37	8,7
5	E40M55-194	1	33,0	$1{,}37 \times 10^{-4}$	Proabs	-40,78	8,1
6	E41M62-459	2	211,9	$3{,}22 \times 10^{-4}$	Proabs	-44,45	7,1

[a]Kopplungsgruppe des Markerlocus entsprechend der Kartierung, wie in 4.2.1 beschrieben, [b]vergleiche Tabelle 2, [c]Maßeinheiten entsprechend Tabelle 2

Die mit einem Marker assoziierten QTL liegen nicht auf denselben Kopplungsgruppen (Tabelle 9). Ihre Marker zeigen kein nach Bonferroni-Korrektur signifikantes LD zueinander (Tabelle 10). Die gefundenen QTL sind auf Basis dieser Ergebnisse unabhängig voneinander und stellen keinen gemeinsamen Locus dar.

Tabelle 10: Gametenphasenungleichgewicht (unterhalb der Diagonale) und dessen p-Wert (oberhalb der Diagonale) der QTL-assoziierten Markerloci.

	E36M48-279	E41M55-282	E42M51-135	E40M55-194	E41M62-459
E36M48-279		0,61733	0,61697	0,60033	0,75337
E41M55-282	0,00255		0,31479	0,21652	0,53080
E42M51-135	0,00162	0,00731		0,07913	0,39042
E40M55-194	0,00262	0,00894	0,01932		0,49995
E41M62-459	0,00074	0,00257	0,00633	0,00380	

4.3. Ergebnisse der Feldversuche

4.3.1. Hauptversuche zur chemischen Sikkation

4.3.1.1. Hohenlieth 2011/2012

Wie in Tabelle 11 für den Standort Hohenlieth 2011/2012 wiedergegeben, zeigt das Merkmal Blühbeginn erwartungsgemäß keine signifikanten Mittelwertunterschiede zwischen den Behandlungen, da dieses vor Applikation der Kaliumjodidlösung erhoben wurde. Allerdings unterscheiden sich die Mittelwerte für Lager und Wuchshöhe auf Basis der Grenzdifferenz ebenfalls nicht, obgleich beide deutlich nach der Applikation erfasst wurden. Die Mittelwerte der Reife und Verbräunung der Genotypen werden signifikant durch steigende Aufwandmengen des Kaliumjodids bzw. für alle Behandlungen im Vergleich zur Kontrollvariante beeinflusst.
Der deutlichste Einfluss der Behandlungen auf die Mittelwerte der Genotypen findet sich bei den Merkmalen Ertrag und TKG. Wenngleich sich die Mittelwerte der drei Behandlungen auf Basis der Grenzdifferenz nicht signifikant unterscheiden, ergeben sich doch signifikante Mittelwertsunterschiede verglichen mit der unbehandelten Kontrolle im Fall des Merkmals Ertrag. Für das TKG ergeben sich auf Basis der Grenzdifferenz für Genotypen und Behandlungen keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontrolle und den Behandlungen. Das Niveau der Wiederholbarkeit ist für alle Merkmale hoch, wobei der Ertrag mit h^2 = 82,5 % die niedrigste und der Blühbeginn mit h^2 = 99,1 % die höchste Wiederholbarkeit zeigt. Wiederholbarkeiten für die einzelnen Behandlungen sind im Anhang in Tabelle 29 wiedergegeben. Hierbei zeigt sich, dass h^2 des Ertrages in der Kontrolle deutlich niedriger ist als in den mit Kaliumjodid behandelten Varianten. Das TKG wiederum zeigt die höchste Wiederholbarkeit in der Kontrolle. Der Einfluss des Faktors Genotyp ist ausnahmslos für alle Merkmale hoch signifikant. Eine signifikante Genotyp-Behandlungsinteraktion zeigen Reife, Verbräunung und TKG.

Tabelle 11: Ergebnisse der Varianzanalyse des F-Satzes für ausgewählte Merkmale am Standort Hohenlieth 2011/2012.

	Mittelwert über Genotypen				h^2[h]	Varianzkomponenten					
	Kontrolle	**0,5 % KJ**	**1,0 % KJ**	**2,0 % KJ**		**Wiederholung**	**Behandlung**	**Wdh.*Beh.**	**Genotyp**	**Gen.*Beh.**	**Fehler**
Blühbeg.[a]	136,2	135,8	135,8	135,7	99,1	0,03	-0,19	0,33*	75,57**	-0,25	5,40
Reife[b]	227,4	223,4	222,2	221,2	97,1	1,07*	7,43**	0,05	18,35**	1,43**	4,38
Lager[c]	4,5	4,1	3,9	3,8	93,2	0,06+	0,10+	0,01	1,63**	0,03	0,95
Pfl.-L.[d]	125,5	129,9	126,9	124,8	96,5	14,41**	5,14**	-1,34	202,68**	-2,27	59,59
Verbr.[e]	3,0	6,7	7,4	7,8	94,3	0,03	4,87**	0,05**	1,21**	0,33**	0,58
Ertrag[f]	305,74	173,59	158,41	126,67	82,5	227,43+	6171,81**	40,35	1611,90**	303,87	2729,42
TKG[g]	450,36	391,70	383,69	366,56	93,1	48,86*	1320,30**	-32,97	3105,61**	385,20*	1834,14

[a]Blühbeginn [Tage nach 01.01.2012], [b]Reife [Tage nach 01.01.2012], [c][Boniturnote 1-9], [d]Pflanzenlänge am 18.07.2012 [cm], [e]Verbräunung durch Kaliumjodid am 17.07.2012 [Boniturnote 1-9], [f]Ertrag von 12 Pflanzen im Parzellenkern [g], [g][g], [h]Wiederholbarkeit [%]

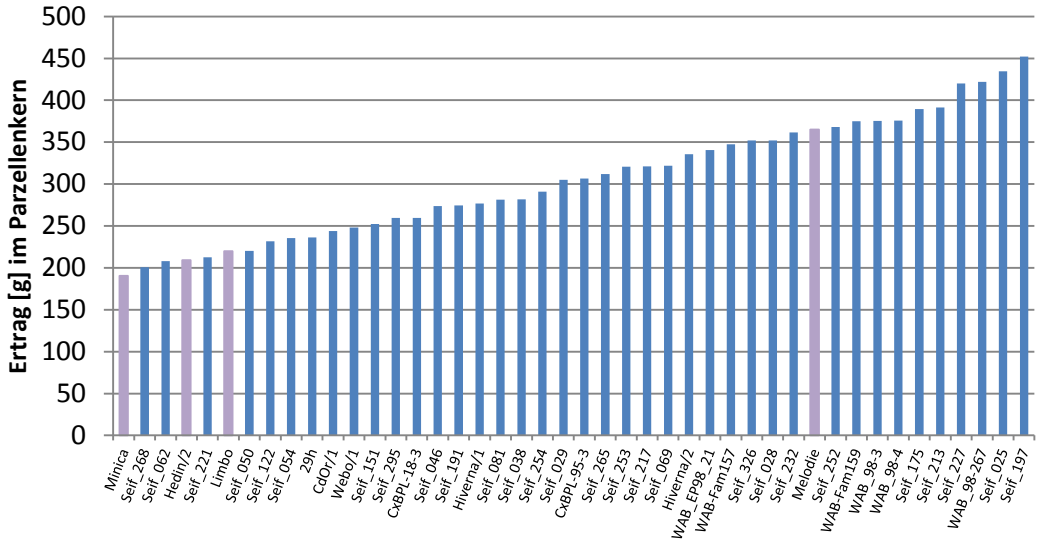


Abbildung 9: Ertrag im Parzellenkern [g] des F-Satzes in der Kontrollvariante. Hohenlieth 2011/2012. GD (GxB) 5 % = 103,12 g. Sommerbohnen in violett dargestellt.

Abbildung 9 gibt die Variation des Ertrags der Inzuchtlinien in der Kontrollvariante wieder und macht die große Spannbreite der erfassten Variation für dieses Merkmal deutlich. In Abbildung 10, Abbildung 11 und Abbildung 12 wird deutlich, dass schon bei einprozentiger KJ-Lösung alle Genotypen im Ertrag unter der Kontrollvariante liegen, was bei 0,5-prozentiger KJ-Lösung nicht erreicht werden konnte. Eine höhere Konzentration wie in Abbildung 12 hat – bezogen auf den mittleren Ertrag – einen noch stärkeren Effekt.

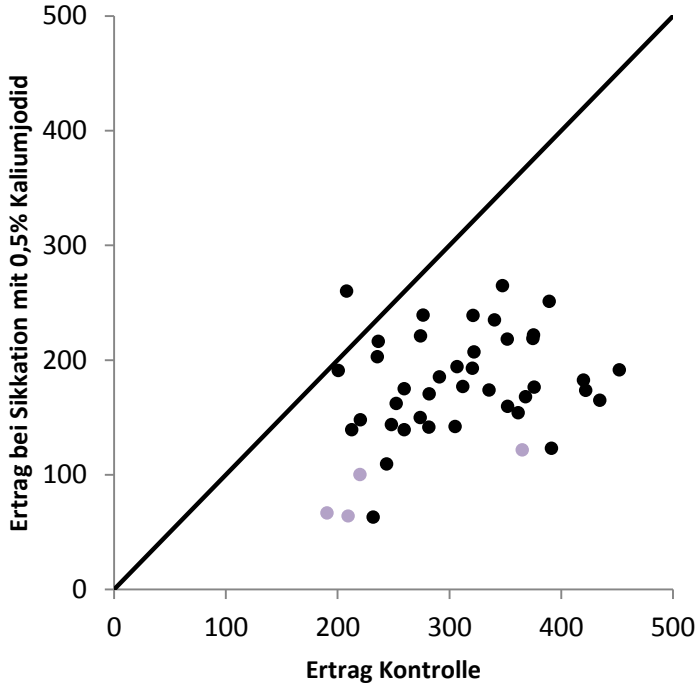


Abbildung 10: Parzellenkernertrag [g] bei Sikkation mit 0,5 % KJ-lösung im Vergleich zur Kontrolle. F-Satz. Hohenlieth 2011/2012. GD(GxB) 5 % = 103,12 g, $r_{Spearman}$ F-Satz = 0,300*, $r_{Spearman}$ V-Satz = 0,201. Die im V-Satz nicht enthaltenen Sommerbohnen sind violett dargestellt.

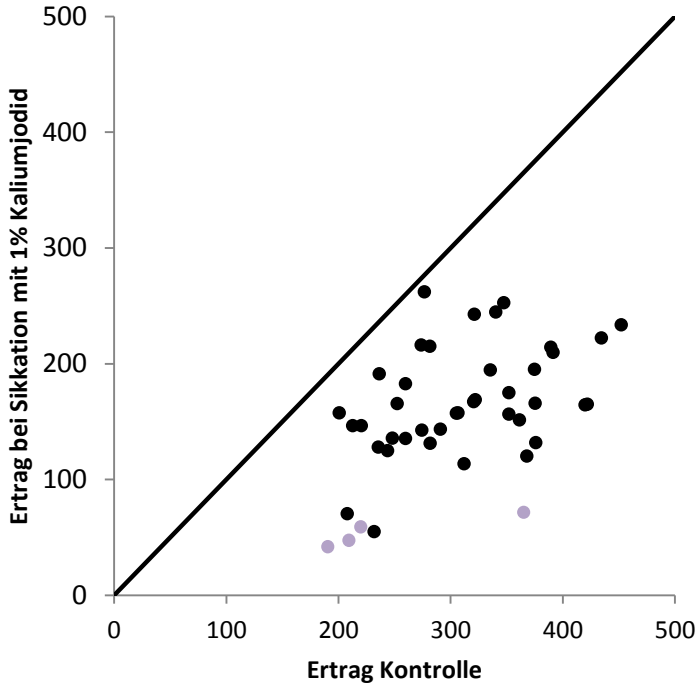


Abbildung 11: Parzellenkernertrag [g] bei Sikkation mit 1 % KJ-lösung im Vergleich zur Kontrolle. F-Satz. Hohenlieth 2011/2012. GD(GxB) 5 % = 103,12 g, $r_{Spearman}$ F-Satz = 0,477** $r_{Spearman}$ V-Satz = 0,414**. Die im V-Satz nicht enthaltenen Sommerbohnen sind violett dargestellt.

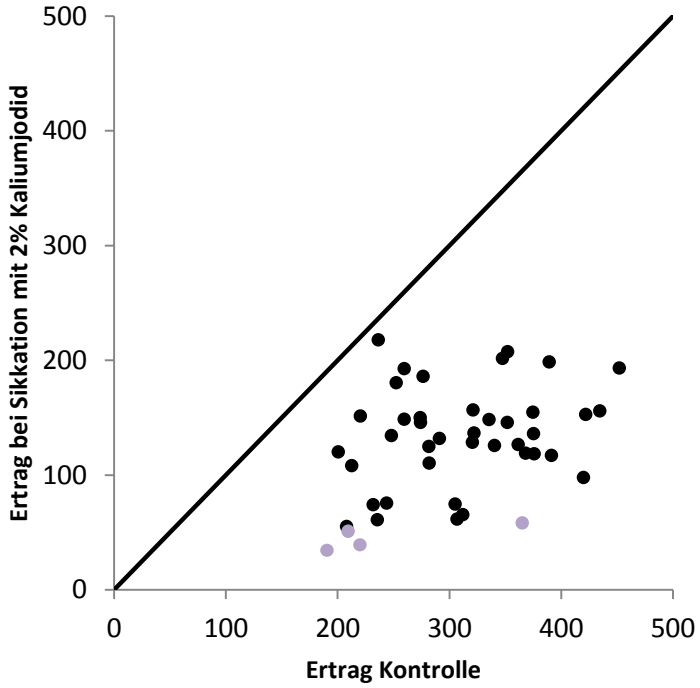


Abbildung 12: Parzellenkernertrag [g] bei Sikkation mit 2 % KJ-lösung im Vergleich zur Kontrolle. F-Satz. Hohenlieth 2011/2012. GD(GxB) 5 % = 103,12 g, $r_{Spearman}$ F-Satz = 0,355*, $r_{Spearman}$ V-Satz = 0,255. Die im V-Satz nicht enthaltenen Sommerbohnen sind violett dargestellt.

In schwarzer Schrift sind in Tabelle 12 die Korrelationskoeffizienten von Pflanzenlänge und Ertrag je Behandlung hervorgehoben. Der höchste Korrelationskoeffizient findet sich in der Kontrollvariante und nimmt dann mit höherer Kaliumjodidkonzentration ab. Bei zweiprozentiger Lösung findet sich kein bzw. ein schwach negativer Zusammenhang.

Tabelle 12: Spearman Rangkorrelationskoeffizenten der Merkmale Ertrag und Pflanzenlänge je Behandlung. V-Satz. Hohenlieth 2011/2012.

	Pfl.-L.[a] Kontrolle	Pfl.-L.[a] 0,5 % KJ	Pfl.-L.[a] 1,0 % KJ	Pfl.-L.[a] 2,0 % KJ	Ertrag[b] Kontrolle	Ertrag[b] 0,5 %	Ertrag[b] 1,0 %
Pfl.-L.[a] Kontrolle							
Pfl.-L.[a] 0,5 % KJ	0,845**						
Pfl.-L.[a] 1,0 % KJ	0,840**	0,832**					
Pfl.-L.[a] 2,0 % KJ	0,763**	0,841**	0,816**				
Ertrag[b] Kontrolle	0,400*	0,295	0,444**	0,341**			
Ertrag[b] 0,5 % KJ	0,084	0,228	0,063	0,118	0,201		
Ertrag[b] 1,0 % KJ	0,144	0,150	0,133	0,154	0,414**	0,374*	
Ertrag[b] 2,0 % KJ	-0,005	-0,001	0,033	-0,028	0,255	0,268	0,637**

[a]Pflanzenlänge am 18.07.2012, [b]Ertrag von 12 Pflanzen im Parzellenkern

4.3.1.2. Roßleben 2012/2013

Wie in Tabelle 13 wiedergegeben, unterscheidet sich die Lagerneigung im Mittel nicht zwischen den Behandlungen. Der mittlere Ertrag ist in der unbehandelten Kontrolle auf Basis der Grenzdifferenz signifikant höher als in der mit einprozentiger Kaliumjodidlösung behandelten Stressvariante. Im Gegensatz dazu unterscheiden sich beide Varianten in ihrem Mittel nicht signifikant hinsichtlich des TKG, allerdings ist dies in der Stressvariante niedriger als in der Kontrolle. Ertrag und TKG zeigen eine höhere Wiederholbarkeit über beide Behandlungen als im Sikkationsversuch am Standort Hohenlieth in 2011/12. Die nach Stress- und Kontrollvariante separiert berechneten Wiederholbarkeiten sind in Tabelle 29 wiedergegeben.
Für das Merkmal Lager hat nur der Faktor Genotyp hoch signifikanten Einfluss. Der Faktor Genotyp hat ebenso einen hoch signifikanten Einfluss auf Ertrag und TKG. Außerdem gibt es eine hoch signifikante Genotyp-Behandlungs-Interaktion im Merkmal Ertrag. Nur für das Merkmal Ertrag hat auch der Faktor Behandlung einen hoch signifikanten Einfluss.

Tabelle 13: Ergebnisse der Varianzanalyse ausgewählter Merkmale des F-Satzes. Roßleben 2012/2013.

	Minimum[d]	Maximum[d]	Mittelwert über Genotypen		h^2[e]	Varianzkomponenten					
			Kontrolle	1,0 % KJ		Wiederholung	Behandlung	Wdh.*Beh.	Genotyp	Gen.*Beh.	Fehler
Lager[a]	1	6	2,6	2,6	91,40	0,02	0,00	-0,005	0,82**	-0,07	0,31
Ertrag[b]	28,18	60,18	45,69	39,10	94,95	0,07	21,66**	-0,10	24,67**	6,71**	5,25
TKG[c]	264,33	693,40	498,59	489,45	97,16	14,82	55,54	-5,84	3613,81**	57,84	422,90

[a][Boniturnote 1-9], [b]Parzellenertrag[dt/ha], [c][g], [d]Minimum bzw. Maximum jedes Merkmals in den Ausgangsdaten, [e]Wiederholbarkeit [%]

Wie in Abbildung 13 erkennbar, zeigt der überwiegende Anteil der Genotypen einen höheren Ertrag in der Kontrollvariante. Einzig der Genotyp S_054 zeigt einen geringfügig niedrigeren Ertrag in der Kontrolle. Betrachtet man das TKG in Abbildung 14, so zeigen sich weniger klare Unterschiede zwischen den Varianten als im Merkmal Ertrag.

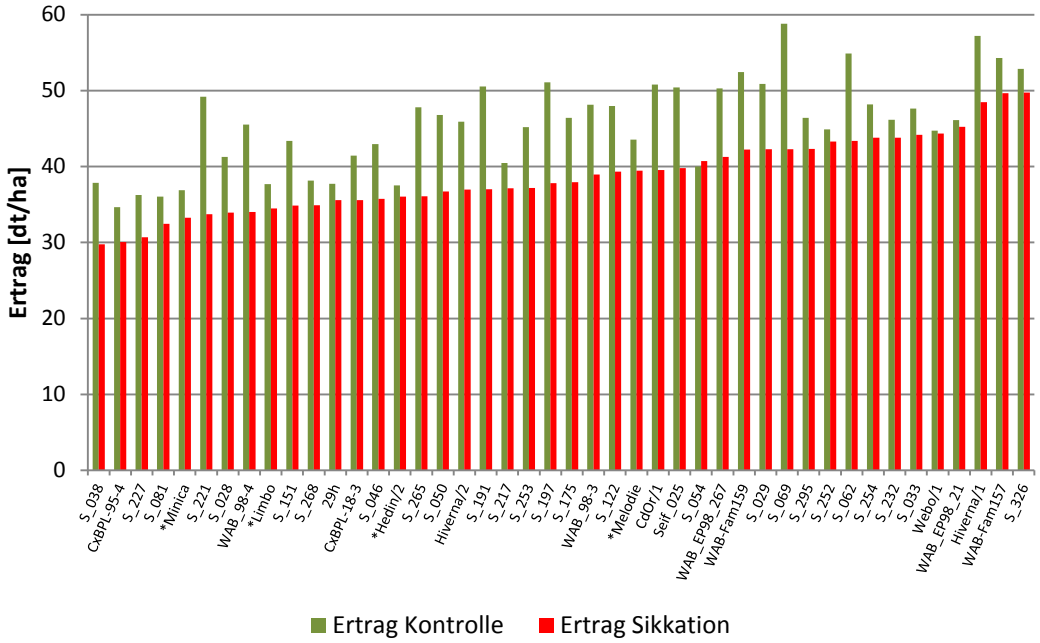


Abbildung 13: Ertrag [dt/ha] des F-Satzes in Kontrolle (grün) und in sikkierten (1 % KJ) Parzellen (rot). Roßleben 2012/2013. GD (GxB) 5 % = 4,55 dt/ha, $r_{Spearman}$ = 0,640**. Sommerbohnen mit * gekennzeichnet.

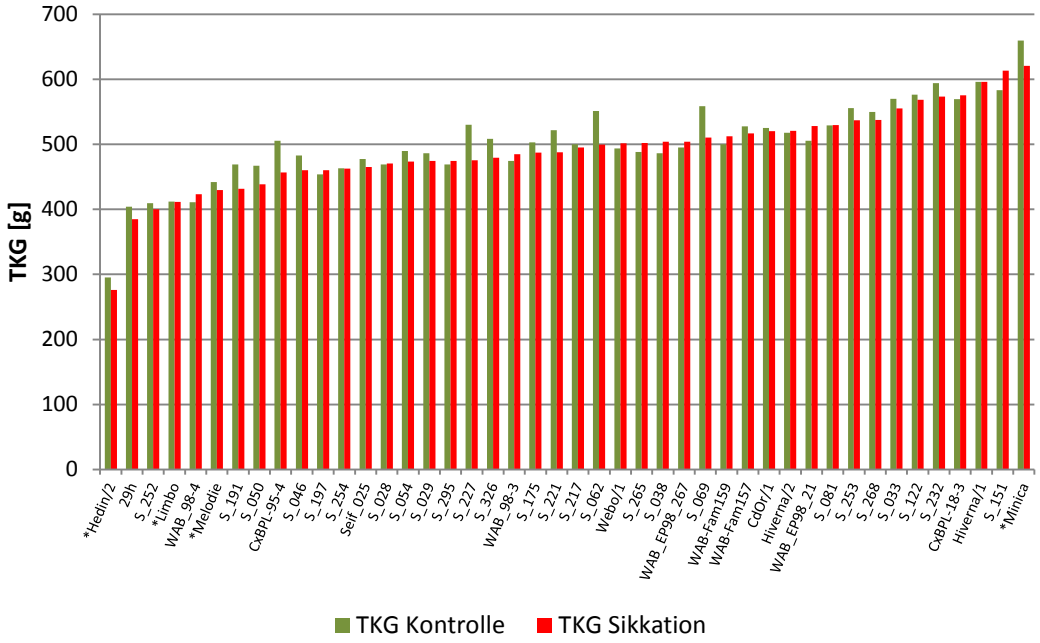


Abbildung 14: TKG [g] des F-Satzes in Kontrolle (grün) und in sikkierten (1 % KJ) Parzellen (rot). Roßleben 2012/2013. GD (GxB) 5 % = 35,11 g, $r_{Spearman}$ = 0,844**. Sommerbohnen mit * gekennzeichnet.

4.3.2. Versuche mit Rain-Out-Sheltern

4.3.2.1. Göttingen

4.3.2.1.1. Göttingen 2010/2011

In dem Rain-Out-Shelter-Versuch in Göttingen 2010/2011 wurde keine Kontrollvariante angelegt. Alle dargestellten Merkmale zeigen hoch signifikanten Einfluss des Genotyps (Tabelle 14). Für die Merkmale Blühbeginn, Blühende, Blühdauer, Pflanzenlänge, Welke, Reife und TKG zeigt sich ebenfalls signifikanter Einfluss der Wiederholung. Der Ertrag pro Pflanze zeigt ein Minimum von 7,88 g und ein Maximum von 20,23 g bei einem Mittelwert von 14,06 g und einer Grenzdifferenz für Genotypen von 3,91 g, sodass sich unter den Bedingungen des Versuchs überlegene Genotypen zeigen.

Tabelle 14. Ergebnisse der Varianzanalyse für ausgewählte Merkmale im Rain-Out-Shelter. F-Satz. Göttingen 2011 nur Stressvariante.

	Minimum[j]	Maximum[j]	Mittelwert über Genotypen	h^2[k]	Varianzkomponenten		
					Genotyp	Wdh.	Fehler
Blühb.[a]	123	154	131,4	98,2	40,61**	0,32**	1,50
Blühe.[b]	148	165	152,6	93,1	17,28**	0,40**	2,57
Blühd.[c]	11	30	21,1	85,5	13,00**	-0,02	4,40
Spad[d]	17,5	50,0	41,5	87,2	20,76**	0,00	6,09
Pfl.-L.[e]	60,0	100,0	82,3	86,6	61,76**	4,99**	4,04
Welke[f]	0	5	2,4	90,25	1,35**	0,13**	0,29
Reife[g]	183	217	200,7	85,6	28,47**	4,35**	9,62
Ertrag[h]	7,88	20,23	14,06	67,8	3,95**	-0,05	3,76
TKG[i]	308,1	965,5	583,80	97,17	10644,41**	100,49**	620,77

[a]Blühbeginn [Tage nach 01.01.2011], [b]Blühende [Tage nach 01.01.2011], [c]Blühdauer [Tage], [d]Spad 16.06.2011 [dimensionslos], [e]Pflanzenlänge am 20.06.2011 [cm], [f]Welkebonitur 30.06.2011 [Boniturnote 0-5], [g]Reife [Tage nach 01.01.2011], [h]durchschnittlicher Einzelpflanzenertrag [g], [i]TKG [g], [j]Minimum bzw. Maximum jedes Merkmals in den Ausgangsdaten, [k]Wiederholbarkeit [%]

Der Genotyp Minica, eine großsamige Sommerackerbohne, zeigt ein deutlich höheres TKG (Abbildung 16), rangiert aber im Merkmal Ertrag (Abbildung 15) im mittleren Bereich der Genotypen. Die Sommerbohnengenotypen Hedin/2, Mélodie und Limbo befinden sich ertraglich im unteren Bereich.

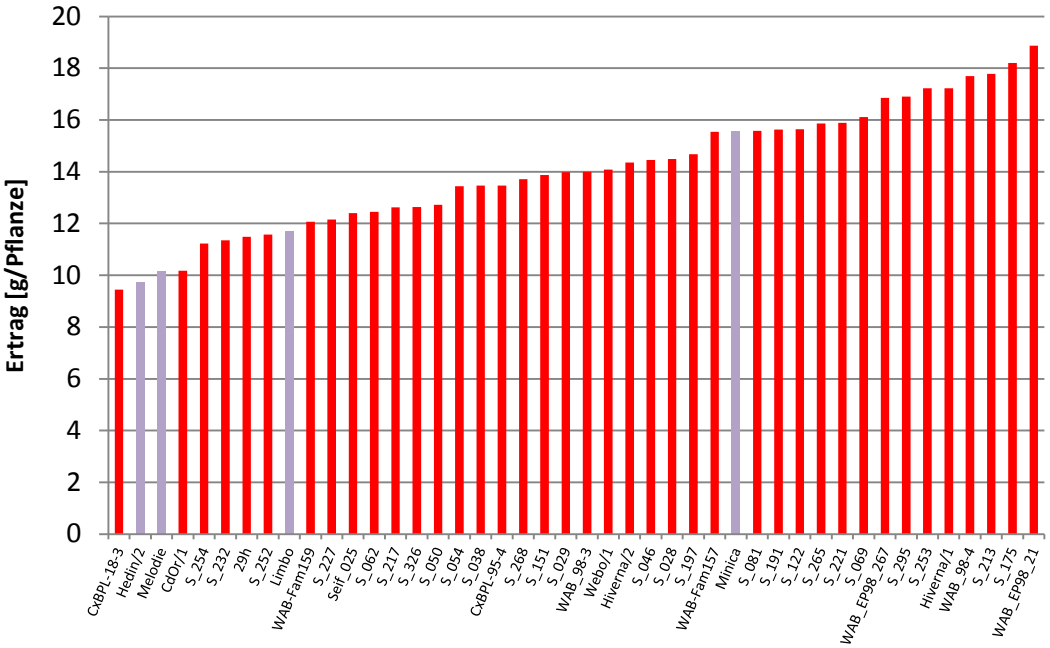


Abbildung 15: Ertrag [g/Pflanze] des F-Satzes im Rain-Out-Shelter. Göttingen 2011. GD (G) 5 % = 3,91 g/Pflanze. Sommerbohnen in violett hervorgehoben.

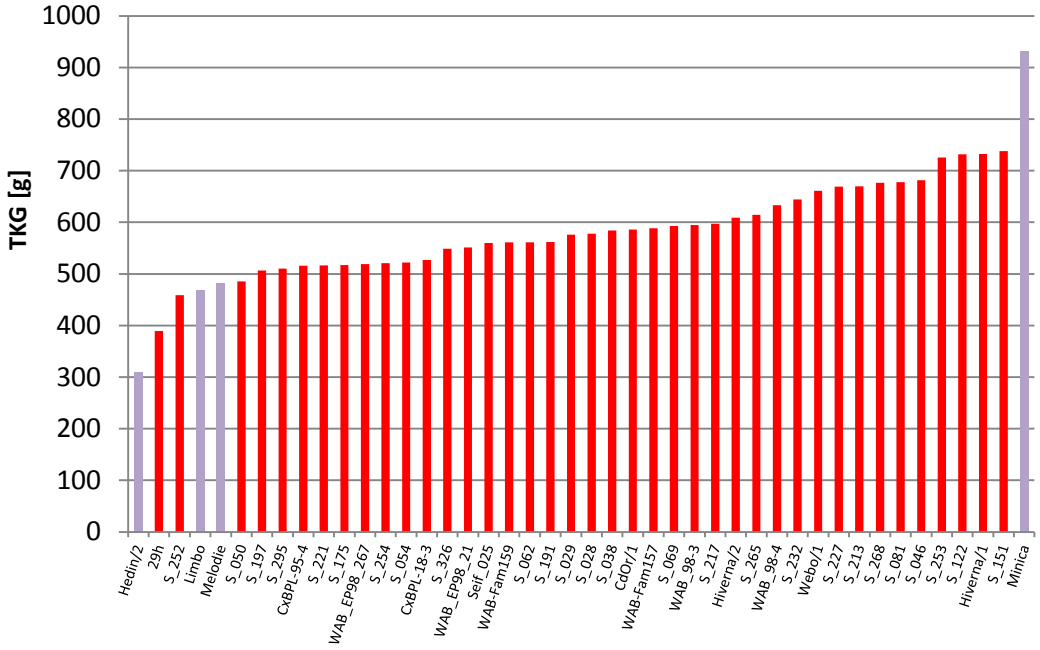


Abbildung 16: TKG [g] des F-Satzes im Rain-Out-Shelter. Göttingen 2011. GD (G) 5 % = 50,25 g.

Hinsichtlich des Einzelpflanzenertrags in Abhängigkeit der Pflanzenlänge zeigt sich ein positiver Zusammenhang. Höherwüchsige Ackerbohnen zeigen tendenziell einen höheren Ertrag.

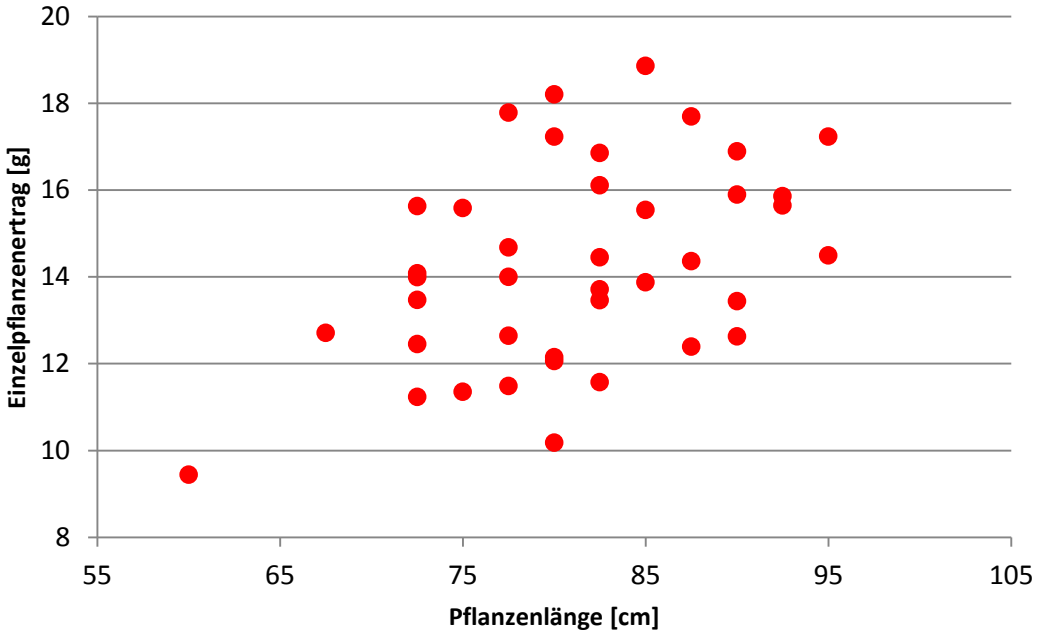


Abbildung 17: Durchschnittlicher Einzelpflanzenertrag [g] der Prüfglieder abgetragen gegen ihre Pflanzenlänge [cm] unter Trockenstress. Göttingen 2011. $r_{Spearman}$ V-Satz = 0,424**, $r_{Spearman}$ F-Satz = 0,222. GD (G) 5 % des Ertrags = 3,91 g. GD (G) 5 % für Pflanzenlänge = 8,8 cm. Darstellung ohne Sommerbohnen.

4.3.2.1.2. Göttingen 2012/2013

Im Rain-Out-Shelter-Versuch in Göttingen 2012/2013 unterscheiden sich die Merkmale Pflanzenlänge und Reife hinsichtlich der Mittelwerte der Genotypen zwischen den Behandlungen (Tabelle 15). Die Minima und Maxima von Merkmalen wie Welke, Blühende oder Ertrag zeigen deutliche Unterschiede und weisen auf eine hohe Variation der Merkmale hin. Der Faktor Genotyp weist einen für alle Merkmale hoch signifikanten Einfluss auf. Der Modellfaktor Behandlung hat schwach signifikanten Einfluss für die Merkmale Spad, Welke und hoch signifikanten Einfluss auf den Ertrag. Eine signifikante Genotyp-Behandlungs-Interaktion zeigt sich in den Merkmalen Blühbeginn, Spad-Wert und Reife. Anzumerken ist, dass die Stressbehandlung erst nach Blühbeginn begonnen wurde. Die Wiederholbarkeit über beide Behandlungen ist durchweg hoch. Nach Behandlungen getrennt errechnete Wiederholbarkeiten sind im Anhang in Tabelle 30 wiedergegeben.

Tabelle 15: Ergebnisse der Varianzanalyse des V-Satzes für ausgewählte Merkmale der Rain-Out-Shelter. Göttingen 2012/2013.

	Minimum[j]	Maximum[j]	Mittelwert über Genotypen		h^2[k]	Varianzkomponenten					
			Kontrolle	Stress		Wiederholung	Behandlung	Wdh.*Beh.	Genotyp	Gen.*Beh.	Fehler
Blühb.[a]	132	153	140,8	140,6	99,3	-0,01	0,02	-0,01	27,92**	0,29*	0,79
Pfl.-L.[b]	105	200	153,44	129,94	85,8	-12,76	258,87	32,13**	144,65**	5,52	95,63
Blühe.[c]	1	8	3,9	4,6	90,5	0,00	0,21	0,03+	1,24**	0,10	0,52
Spad[d]	29,2	53,2	42,8	43,7	89,7	0,25+	0,44+	-0,15	13,50**	1,85*	6,18
Welke[e]	2	9	3,2	4,7	78,6	0,00	1,13+	0,00	0,83**	0,1	0,90
Reife[f]	200	231	217,5	211,9	91,8	-0,59	14,88	1,07**	13,23**	7,09**	4,71
Ertrag[g]	3,46	35,18	19,58	15,28	90,3	0,15+	9,23**	-0,19	17,57**	1,28	7,57
TKG[h]	311,73	818,60	575,53	537,58	95,3	-298,77	398,65	612,87**	6117,18**	74,59	1208,88

[a]Blühbeginn [Tage nach 01.01.2013], [b]Pflanzenlänge am 05.07.2013 [cm], [c]Blühende [Boniturnote 1-9], [d]Spad 27.06.2013 [dimensionslos], [e]Welkebonitur 08.07.2013 [Boniturnote 1-9], [f]Reife [Tage nach 01.01.2013], [g]durchschnittlicher Einzelpflanzenertrag [g], [h]TKG [g], [j]Minimum bzw. Maximum jedes Merkmals in den Ausgangsdaten, [k]Wiederholbarkeit [%]

In Abbildung 18 wird die deutliche Ertragsreduktion der Stressbehandlung gegenüber der Kontrollvariante deutlich. Eine Ausnahme bilden hier die Genotypen S_050, S_062 und 29H. Im Gegensatz zum Genotyp S_050, der in beiden Behandlungen durch niedrigen Wuchs und Blattverfärbungen auffiel, ist bei den anderen beiden Genotypen keine klare Ursache zu erkennen. Auffällig ist der Genotyp WAB_EP98_21 nicht nur, weil er den zweitgrößten Ertrag in diesem Versuch unter Stress erzielte: Die Stressvariante dieses Genotyps zeigt nur eine sehr geringe Ertragsreduktion im Vergleich zur Kontrolle. Das TKG der Inzuchtlinien ist in Abbildung 19 wiedergegeben.

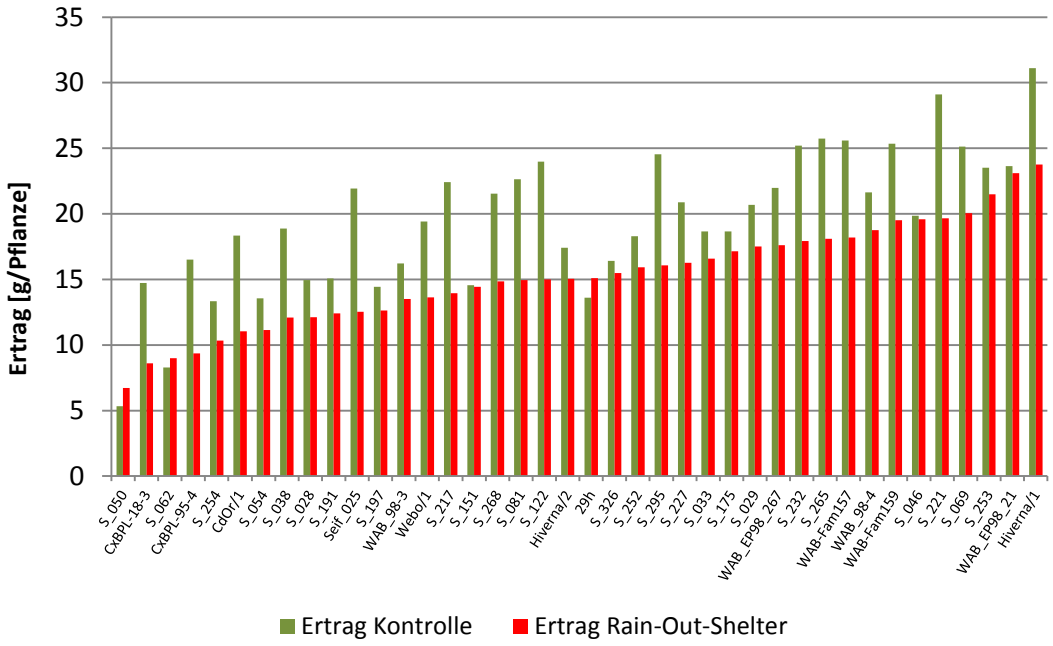


Abbildung 18: Ertrag [g/Pflanze] des V-Satzes in der bewässerten Kontrolle (grün) und unter Stress (rot). Beide Behandlungen im Rain-Out-Shelter. Göttingen 2012/2013. GD (GxB) 5 % = 5,48 g, $r_{Spearman}$ = 0,766**.

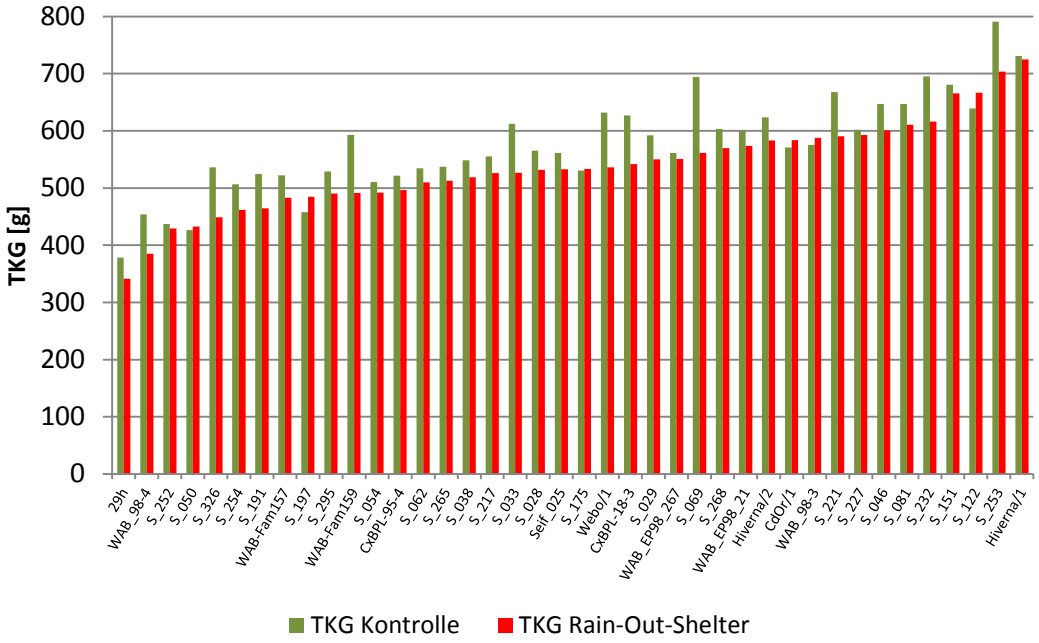


Abbildung 19: : TKG [g] des V-Satzes in der Kontrolle (grün) und unter Stress (rot). Beide Behandlungen im Rain-Out-Shelter. Göttingen 2012/2013. GD (GxB) 5 % = 69,22 g, $r_{Spearman}$ = 0,898**.

Der in Abbildung 20 abgetragene, positive Zusammenhang zwischen Einzelpflanzenertrag und Pflanzenlänge unterscheidet sich hinsichtlich seiner Korrelationskoeffizienten nur minimal zwischen Kontroll- und Stressvariante ($r_{Spearman}$ = 0,660** resp. $r_{Spearman}$ = 0,599**). Dies deckt sich mit den in Abbildung 18 erkennbaren niedrigen Erträgen eines kurzwüchsigen Genotyps wie etwa S_050.

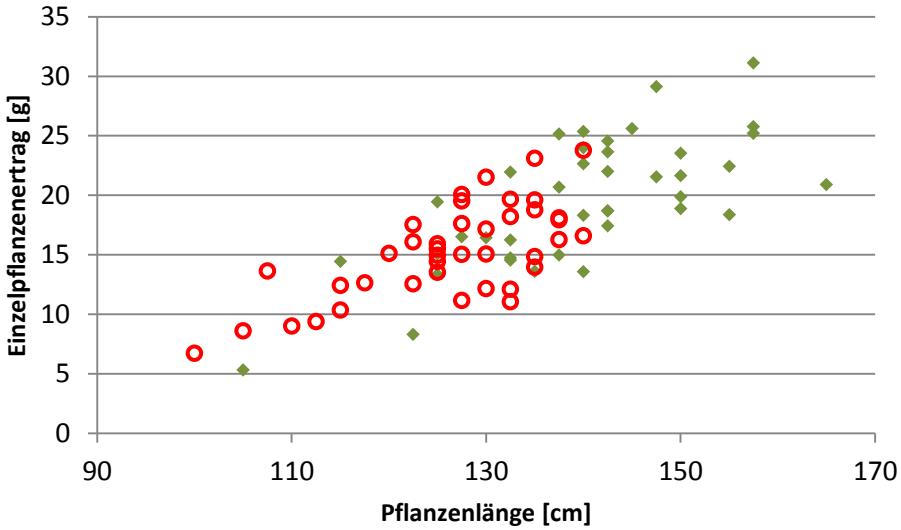


Abbildung 20: Durchschnittlicher Einzelpflanzenertrag [g] in bewässerter Kontrolle (grün) und Stressvariante (rot) in Abhängigkeit der Pflanzenlänge [cm]. Beide Behandlungen im Rain-Out-Shelter. V-Satz. Göttingen 2013. Kontrolle $r_{Spearman}$ =0,660** und Stress $r_{Spearman}$ =0,599**. GD (GxB) 5 % des Ertrags = 5,48 g. GD (GxB) 5 % für Pflanzenlänge = 19,47 cm.

4.3.2.2. Groß Lüsewitz

4.3.2.2.1. Groß Lüsewitz 2012

Wie in Tabelle 16 dargestellt, unterscheiden sich die Mittelwerte der Genotypen signifikant zwischen Stress- und Kontrollvariante. Die Minima und Maxima zeigen die große Variation aller Merkmale an. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse aller Genotypen für alle Merkmale über Behandlungen ist hoch ($h^2 > 90$ %). Der Faktor Behandlung zeigt für alle Merkmale signifikanten Einfluss, wenn auch nur schwach signifikant für das Merkmal TKG. Der Einfluss des Faktors Genotyp ist für alle Merkmale hoch signifikant, ebenso die Genotyp-Behandlungs-Interaktion.

Tabelle 16: Ergebnisse der Varianzanalyse des F-Satzes für ausgewählte Merkmale in Rain-Out-Sheltern. Groß Lüsewitz 2012.

	Minimum[f]	Maximum[f]	Mittelwert überGenotypen		h^{2}[e]	Varianzkomponenten				
			Kontrolle	Stress		Behandlung	Wdh. innerh. Beh.	Genotyp	Gen.*Beh.	Fehler
Pfl.-Länge[a]	59	163	107,9	83,0	93,15	305,33*	10,31*	177,44**	73,71**	52,19
Hül./Pfl.[b]	4	26	14,0	8,0	90,85	17,75**	-0,02	7,48**	5,40**	3,02
Ertrag[c]	5,88	36,82	23,23	11,62	92,46	67,03**	0,44*	17,25**	18,32**	5,63
TKG[d]	302,0	995,0	620,88	525,02	97,52	4036,07+	556,30**	8324,07**	1155,40**	845,54

[a]Pflanzenlänge [cm], [b]durchschnittliche Anzahl Hülsen pro Pflanze, [c]durchschnittlicher Einzelpflanzenertrag [g], [d]TKG [g], [e]Wiederholbarkeit [%], [f]Minimum bzw. Maximum jedes Merkmals in den Ausgangsdaten

Die Erträge der Kontrollvariante liegen in den meisten Fällen deutlich über denen der Stressvariante (Abbildung 21). Das TKG (Abbildung 22) zeigt eine ähnliche Tendenz wie der Ertrag mit Ausnahme des Genotyps S_232, bei welchem auch der Ertrag zwischen Kontroll- und Stressvariante nur wenig differiert.

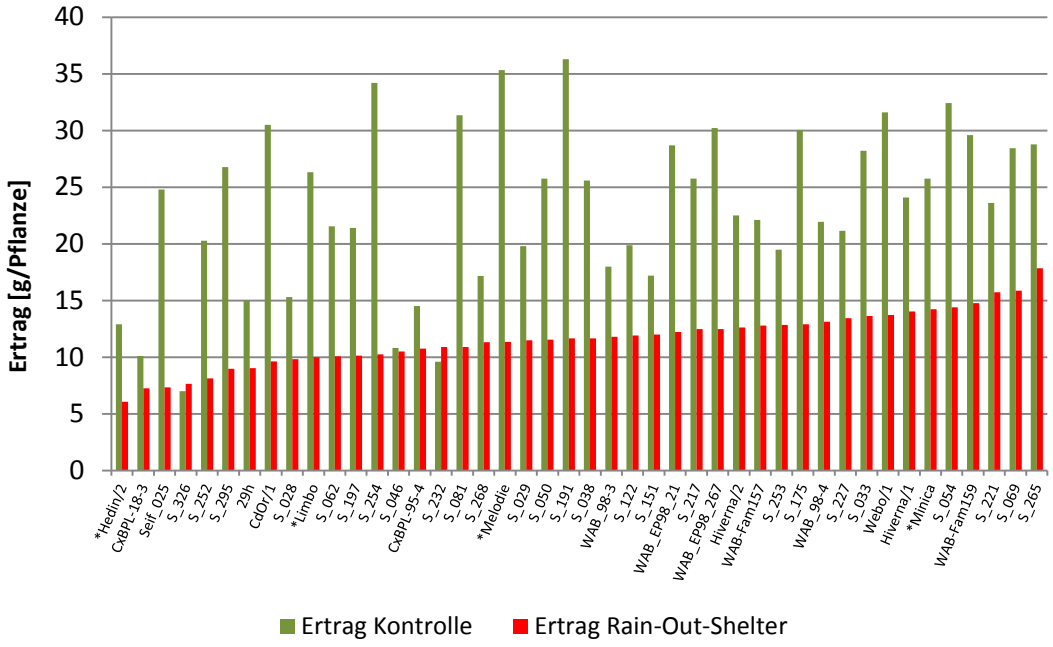


Abbildung 21: Ertrag [g/Pflanze] des F-Satzes in der Kontrolle (grün) und im Rain-Out-Shelter (rot). Groß Lüsewitz 2012. GD (GxB) 5 % = 4,72 g, $r_{Spearman}$ der Behandlungen = 0,415. Sommerbohnen mit * gekennzeichnet.

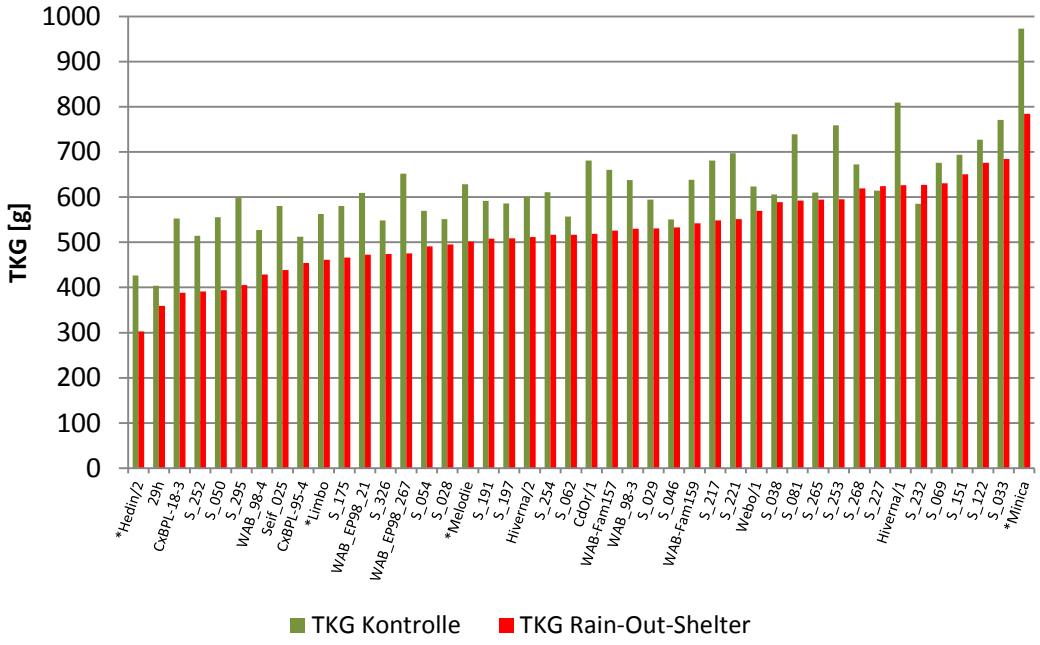


Abbildung 22: TKG [g] des F-Satzes in der Kontrolle (grün) und im Rain-Out-Shelter (rot). Groß Lüsewitz 2012. GD (GxB) 5 % = 57,81 g, $r_{Spearman}$ der Behandlungen = 0,792**. Sommerbohnen mit * gekennzeichnet.

Abbildung 23 zeigt einen ähnlich deutlichen, positiven Zusammenhang zwischen Einzelpflanzenertrag und Pflanzenlänge wie im Versuch in Göttingen 2013. Der in Abbildung 24 dargestellte Zusammenhang von Einzelpflanzenertrag und der Anzahl Hülsen pro Pflanze ist mit r = 0,773** in der Kontrolle wesentlich deutlicher als in der Stressvariante (r = 0,329*) für den F-Satz.

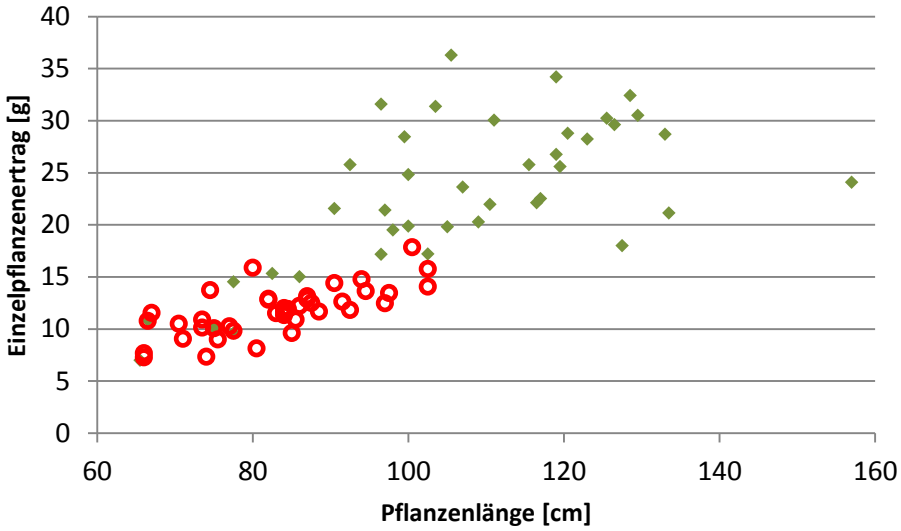


Abbildung 23: Durchschnittlicher Einzelpflanzenertrag [g] in bewässerter Kontrolle (grün) und Stressvariante (rot) in Abhängigkeit der Pflanzenlänge [cm]. V-Satz. Standort Groß Lüsewitz 2012. $r_{Spearman}$ V-Satz Kontrolle r=0,601** und Stress r=0,711**, $r_{Spearman}$ F-Satz Kontrolle r=0,562** und Stress r=0,631**. GD (GxB) 5 % des Ertrags = 4,72 g. GD (GxB) 5 % für Pflanzenlänge = 14,36 cm.

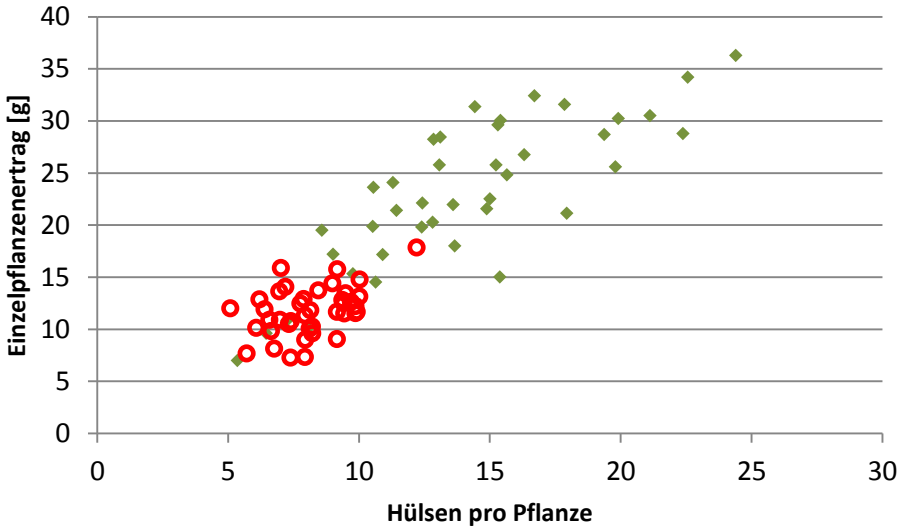


Abbildung 24: Durchschnittlicher Einzelpflanzenertrag [g] in bewässerter Kontrolle (grün) und Stressvariante (rot) in Abhängigkeit der Anzahl Hülsen pro Pflanze. V-Satz. Standort Groß Lüsewitz 2012. $r_{Spearman}$ V-Satz Kontrolle r=0,795** und Stress r=0,355*, $r_{Spearman}$ F-Satz Kontrolle r=0,773** und Stress r=0,329*. GD (GxB) 5 % des Ertrags = 4,72 g. GD (GxB) 5 % für Hülsen/Pflanze = 3,45 cm.

4.3.2.3. Groß Lüsewitz 2012/2013

Die Mittelwerte der Genotypen aller Merkmale unterscheiden sich signifikant für beide Behandlungen (Tabelle 17). Der Faktor Behandlung hat analog dazu einen signifikanten Einfluss auf alle Merkmale. Ebenso der Faktor Genotyp und die Genotyp-Behandlungsinteraktion. Wechselbeziehungen der Merkmale Ertrag, TKG, Hülsen pro Pflanze und Pflanzenlänge sind in Tabelle 18 wiedergegeben.

Tabelle 17: Ergebnisse der Varianzanalyse des F-Satzes für ausgewählte Merkmale in Rain-Out-Sheltern. Groß Lüsewitz 2012/2013.

	Minimum[f]	Maximum[f]	Mittelwert über Genotypen		h^{2g}	Varianzkomponenten				
			Kontrolle	Stress		Behandlung	Wdh. innerh. Beh.	Genotyp	Gen.*Beh.	Fehler
Pflanzenlänge[a]	25	117	81,63	50,75	92,31	476,07**	-0,07	158,22**	69,47**	52,72
Körner/Pfl.[b]	5	81	45,24	18,94	77,81	344,90**	0,52	46,35**	38,03**	52,86
Hül./Pfl.[c]	2	28	15,73	7,47	78,46	34,05**	0,01	5,65**	3,72**	6,20
Ertrag[d]	2,40	42,47	24,19	7,51	80,13	138,82**	0,39	16,36**	19,68**	16,23
TKG[e]	174,3	717,9	529,45	400,48	93,01	8097,01*	400,04**	5710,56**	1012,77**	1716,90

[a]Pflanzenlänge [cm], [b]durchschnittliche Anzahl Körner pro Pflanze, [c]durchschnittliche Anzahl Hülsen pro Pflanze, [d]durchschnittlicher Einzelpflanzenertrag [g], [e]TKG [g], [f]Minimum bzw. Maximum jedes Merkmals in den Ausgangsdaten, [g]Wiederholbarkeit [%]

Die in Abbildung 25 dargestellten Ergebnisse für das Merkmal Einzelpflanzenertrag zeigen den ausgeprägten Effekt der Rain-Out-Shelter. Alle Genotypen bis auf Hedin/2 haben deutlich niedrigere Erträge als in der Kontrollvariante. Ein sehr ähnlicher Effekt wird auch in Abbildung 26 für das TKG deutlich. Hier zeigen nur Hedin/2 – eine kleinsamige Sommerackerbohne – und WAB_EP98_21 ähnliche Werte für Stress- und Kontrollvariante.

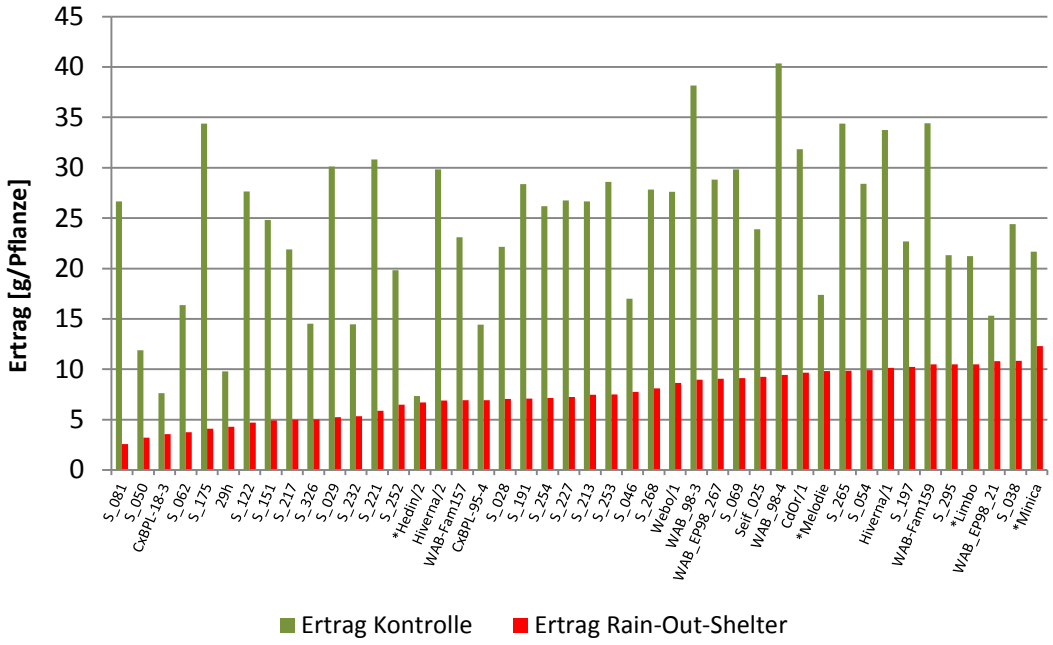


Abbildung 25: Ertrag [g/Pflanze] des F-Satzes in der Kontrolle (grün) und im Rain-Out-Shelter (rot). Groß Lüsewitz 2012/2013. GD (GxB) 5 % = 8,01 g, $r_{Spearman}$ der Behandlungen = 0,268. Sommerbohnen mit * gekennzeichnet.

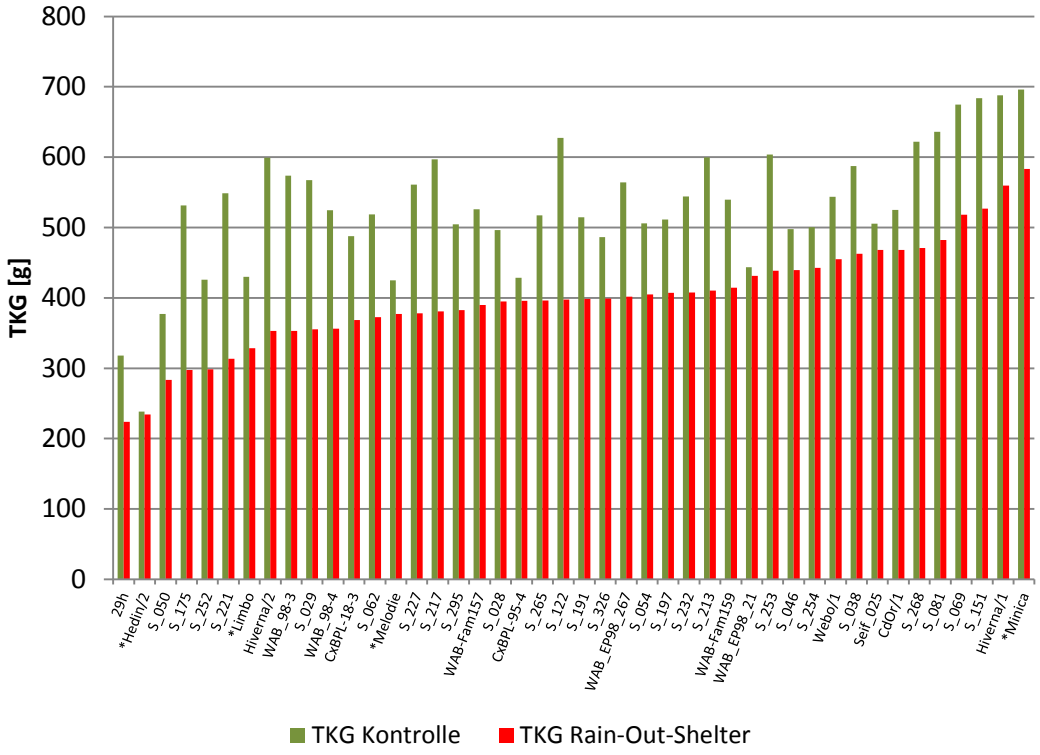


Abbildung 26: TKG [g] des F-Satzes in der Kontrolle (grün) und im Rain-Out-Shelter (rot). Groß Lüsewitz 2013. GD (GxB) 5 % = 82,37 g, $r_{Spearman}$ der Behandlungen = 0,532**. Sommerbohnen mit * gekennzeichnet.

Tabelle 18: Spearman Rangkorrelationskoeffizenten der mittleren Einzelpflanzenerträge, des TKG, der mittleren Hülsenzahl pro Einzelpflanze und der mittleren Pflanzenlänge jeweils bei Stress durch Wassermangel und in der bewässerten Kontrolle. F-Satz. Groß Lüsewitz 2012/2013. Gleiche Merkmale mit unterschiedlichen Behandlungen sind fett gedruckt.

	Ertrag[a] Kontrolle	Ertrag[a] Stress	TKG[b] Stress	TKG[b] Kontrolle	Hülsen Stress	Hülsen Kontrolle	Pfl.-L.[c] Kontrolle
Ertrag[a] Kontrolle							
Ertrag[a] Stress	**0,268***						
TKG[b] Stress	0,196	0,411**					
TKG[b] Kontrolle	0,596**	0,052	**0,523****				
Hülsen Stress	0,223*	0,640**	-0,215	-0,243			
Hülsen Kontrolle	0,779**	0,312	-0,030	0,176	**0,523****		
Pfl.-L.[c] Kontrolle	0,499**	0,429**	-0,003	0,259**	0,512**	0,481**	
Pfl.-L.[c] Stress	0,197	0,686**	0,057	0,030	0,631**	0,185*	**0,626****

[a]durchschnittlicher Einzelpflanzenertrag [g], [b]Tausendkorngewicht [g], [c]Pflanzenlänge in [cm]

4.4. Mehrortige Auswertungen

4.4.1. Ergebnisse der mehrortigen Auswertung der Rain-Out-Shelter-Versuche

Die in Tabelle 19 wiedergegebenen Ergebnisse aller Merkmale der mehrortigen Auswertung der Rain-Out-Shelter-Versuche in Göttingen 2012/2013, Groß Lüsewitz 2012 und Groß Lüsewitz 2012/2013 zeigen hoch signifikante Einflüsse der Faktoren Genotyp und Ort sowie eine ebenso signifikante Genotyp-Ort-Interaktion. Die Differenzen der Behandlungen von Stress und Kontrolle (Δ) zeigen einen hoch signifikanten Einfluss des Faktors Genotyp und eine ebensolche Genotyp-Ort-Interaktion. Der Faktor Ort zeigt für das Merkmal ΔTKG keinen signifikanten Einfluss. Für das Merkmal ΔErtrag ist der Einfluss signifikant mit $\alpha = 5$ %.
Das TKG zeigt eine hohe Heritabilität für beide Behandlungen. Der Ertrag ist mit $h^2 = 60$ % weniger heritabel. ΔErtrag hingegen hat eine Heritabilität von $h^2 > 90$ %. Die Minima für ΔTKG und ΔErtrag weisen negative Werte auf.
Die mehrortigen Einzelpflanzenertragsergebnisse sind in Tabelle 32 im Anhang wiedergegeben. Hierbei wird deutlich, dass es mehrere Genotypen gibt, die sowohl unter Kontroll- als auch unter Stressbedingungen die obersten Ränge der Ertragsleistung einnehmen. Beispielhaft seien die Inzuchtlinien Hiverna/1 und Seif_265 genannt.

Tabelle 19: Ergebnisse der mehrortigen statistischen Analyse der Rain-Out-Shelter-Versuche (Göttingen 2012/13, Groß Lüsewitz 2012, Groß Lüsewitz 2012/13) des F-Satzes.

	Minimum[g]	Maximumg	Mittelwert über Genotypen	h²h	Varianzkomponenten			
					Genotyp	Ort	Genotyp * Ort	Fehler
TKG Stress[a]	224,00	784,00	487,17	88,2	5618,58**	5275,47**	1361,82**	760,16
TKG Kontrolle[b]	238,30	972,50	574,38	92,1	2049,95**	7255,79**	1366,82**	496,70
Δ TKG[c]	-41,50	246,20	87,22	0	2114,07**	-132,22	1786,53**	1117,09
Ertrag Stress[d]	2,59	23,76	11,49	61,4	15,20**	3,07**	4,18**	1,62
Ertrag Kontrolle[e]	5,32	40,35	22,24	62,7	5,99**	17,35**	22,77**	8,19
Δ Ertrag[f]	-1,49	30,91	10,76	90,3	40,23**	6,5357*	21,37**	8,85

[a]TKG in den Stressvarianten [g], [b]TKG in den Kontrollvarianten [g], [c]Differenz des TKG von Kontroll- und Stressvariante [g], [d]durchschnittlicher Einzelpflanzenertrag in den Stressvarianten [g], [e]durchschnittlicher Ertrag in den Kontrollvarianten, [f]Differenz des durchschnittlichen Einzelpflanzenertrags von Kontroll- und Stressvariante [g], [g]Minimum bzw. Maximum jedes Merkmals einzeln innerhalb jeder Behandlung, [h]Wiederholbarkeit [%]

4.4.2. $\Delta^{13}C$ und Ertragsergebnisse der Rain-Out-Shelter

Das Merkmal $\Delta^{13}C$ wurde in den Rain-Out-Sheltern in Groß Lüsewitz in den Versuchsjahren 2012 und 2012/2013 erfasst und wird im Anhang in Tabelle 26 hinsichtlich seiner Korrelation zu Ertragsergebnissen der Rain-Out-Shelter-Versuche in Göttingen und Groß Lüsewitz dargestellt. Aus den vorliegenden Ergebnissen ergibt sich keine klare Aussagekraft. So gibt es zwischen den Erträgen in den Rain-Out-Sheltern in Groß Lüsewitz weder in den Kontroll- noch in den Stressvarianten herausgehobene Wechselbeziehungen. Die höchste Korrelation ergibt sich mit $r_{Spearman} = 0,29$ zwischen den $\Delta^{13}C$-Werten der Kontrollvariante in Groß Lüsewitz 2012/2013 und dem Stressertrag in eben diesem Versuch. Außerdem gibt es eine schwache Wechselbeziehung zwischen der Ertragsreduktion in Groß Lüsewitz 2012 zu den $\Delta^{13}C$-Werten in der Kontrolle dieses Versuchs sowie im zweijährigen Mittel der Groß Lüsewitzer Versuche von $r_{Spearman} = 0,32^*$ bzw. $0,30^*$. Bei der gewichteten Mittelswertsberechnung nach Utz (1974) erhielt der Rain-Out-Shelter in Göttingen eine Wichtung von 37,6 %, die Rain-Out-Shelter Groß Lüsewitz 2012 bzw. 2012/2013 je eine Wichtung von 42,2 % bzw. 20,2 %. Für die so errechneten Mittelwerte der Erträge in der Stressvariante findet sich eine Korrelation mit $r_{Spearman} = 0,35^*$ und $0,36^*$ zu den $\Delta^{13}C$-Werten in Kontroll- und Stressvariante des Versuchs in Groß Lüsewitz 2012/2013. Der Stressertrag in Göttingen 2012/2013 korreliert mit $r_{Spearman} = 0,50^{**}$ zum $\Delta^{13}C$-Wert im Stress in Groß Lüsewitz 2012/2013 und zur Kontrollvariante im selben Versuch mit $r_{Spearman} = 0,45^{**}$. Auch im zweijährigen Mittel der $\Delta^{13}C$-Werte beider Groß Lüsewitzer Rain-Out-Shelter-Versuche korrelieren Kontroll- und Stressvariante sehr ähnlich zum Stressertrag in Göttingen 2012/2013 ($r_{Spearman} = 0,34^*$ resp. $0,42^{**}$). Ähnliches findet sich für die Kontrollvariante des Göttinger Rain-Out-Shelter-Versuchs im Versuchsjahr 2012/2013.

Die $\Delta^{13}C$-Werte untereinander korrelieren in den Stress- und Kontrollvarianten nur mit $r_{Spearman} = 0,36^*$. Stress- und Kontrollvariante korrelieren in 2012 mit $r_{Spearman} = 0,47^{**}$ und in 2012/2013 mit $r_{Spearman} = 0,53^{**}$. Bei zweijähriger Betrachtung beträgt die Korrelation von Stress- und Kontrollvariante $r_{Spearman} = 0,43^{**}$ und bildet so indirekt die signifikante Genotyp-Behandlungsinteraktion ab. Die Ergebnisse der Varianzanalyse (Tabelle 20) zeigen einen signifikanten Einfluss der Behandlung. Der Genotyp hat ebenfalls hoch signifikanten Einfluss. Die hoch signifikanten Interaktionen des Genotyps mit der Behandlung und des Genotyps mit dem Versuchsjahr drücken sich in den oben aufgeführten Wechselbeziehungen aus.

Tabelle 20: Ergebnisse der Varianzanalyse für das Merkmal $\Delta^{13}C$ erfasst im Rain-Out-Shelter Groß Lüsewitz in den Versuchsjahren 2012 und 2012/2013. Die nach F-Test signifikanten Modellfaktoren sind gekennzeichnet.

Varianzursache	**Varianzkomponente**	
Jahr	0,0192	*
Wdh. innerh. Beh.*Jahr	0,0024	
Behandlung	3,9280	*
Genotyp	0,1273	**
Genotyp*Behandlung	0,0610	**
Behandlung*Jahr	0,0010	
Genotyp*Jahr	0,0733	**
Gen.*Beh.*Jahr	0,0080	
Fehler	0,1751	

4.5. Physiologie- und Feldversuche im Vergleich

Der korrelative Vergleich von physiologischen Merkmalen (Kapitel 4.1) mit Feldversuchsdaten (Kapitel 4.3) fand einerseits mit den Ergebnissen der verschiedenen Sikkationsversuche (Kapitel 4.3.1) sowie mit gewichteten und arithmetischen Mittelwerten der Rain-Out-Shelter-Ergebnisse (vgl. Kapitel 4.3.2) statt. Hierzu dienen die Inzuchtlinien des V-Satzes. Zu den gewichteten Mittelwerten ergaben sich keine Korrelationen mit $r_{Spearman} \geq 0,3$.
Allgemein zeigen sich keine hohen Rangkorrelationskoeffizienten zwischen den untersuchten Merkmalen. Die Merkmale TKG in der Kontrolle Göttingen 2013 und Membranstabilitätsindex in der Kontrolle (K_MSI) zeigen mit $r_{Spearman} = 0,502^{**}$ die stärkste Korrelation (Abbildung 27). Das Merkmal K_MSI weist auch die zweithöchste Korrelation mit $r_{Spearman} = 0,436^{**}$ mit dem TKG im Stress in Göttingen 2013 auf. Dies lässt sich auf die mit $r_{Spearman} = 0,895^{**}$ hohe Korrelation beider TKG-Merkmale zurückführen.
Alle weiteren Merkmalskorrelationen sind mit $r_{Spearman} < 0,4$ schwach ausgeprägt. Beispielhaft werden im Folgenden einige signifikante Korrelationen zwischen Ertragsergebnissen und physiologischen Ergebnissen angeführt. Die absolute Differenz zwischen Kontrolle und Stress des Glycinbetaingehalts ist mit dem Ertrag bei Sikkation mit zweiprozentiger Kaliumjodidlösung in Hohenlieth 2012 mit $r_{Spearman} = 0,338^{*}$ korreliert. Spad-Werte in der Kontrolle sind mit $r_{Spearman} = 0,390^{*}$ mit dem Kontrollertrag des Sikkationsversuchs in Hohenlieth 2012 korreliert. Diese sind auch mit $r_{Spearman} = 0,326^{*}$ mit den Kontrollerträgen des Rain-Out-Shelter in Groß Lüsewitz 2012 korreliert. Das schon genannte Merkmal K_MSI weist eine Korrelation von $r_{Spearman} = 0,382^{*}$ mit dem Ertrag der Stressvariante im Rain-Out-Shelter in Göttingen und ebenso eine Korrelation von $r_{Spearman} = 0,309^{*}$ mit der entsprechenden Kontrollvariante auf. K_MSI ist ebenso mit $r_{Spearman} = 0,332^{*}$ mit dem arithmetischen Mittel der Rain-Out-Shelter-Erträge unter Stress über alle entsprechenden Versuche korreliert. Die Membranstabilität unter Stressbehandlung korreliert mit den Erträgen bei Sikkation mit 0,5 %-iger- und 1 %-iger-Kaliumjodidlösung mit $r_{Spearman} = 0,310^{*}$ bzw. $0,305^{*}$.
Die Merkmale Gesamtgehalt löslicher Zucker in der Stressvariante (S_GLZ) (Abbildung 28) und die absolute Differenz von Kontroll- und Stressvariante des Gesamtgehalts an löslichen Zuckern (GLZabs) weisen eine Korrelation von $r_{Spearman} = 0,376^{*}$ bzw. $0,355^{*}$ mit der Stressvariante des Ertrags im Rain-Out-Shelter-Versuch Groß Lüsewitz 2012 auf. S_GLZ und GLZabs haben eine Korrelation von $r_{Spearman} = 0,677^{**}$. Eine weitere positive Korrelation von $r_{Spearman} = 0,314^{*}$ ergibt sich zwischen den Merkmalen Prolingehalt in der Kontrollbehandlung mit dem Ertrag bei Sikkation mit einprozentiger Kaliumjodidlösung am Standort Hohenlieth 2012. Eine negative Korrelation mit einem Ertragsmerkmal ergibt sich nur für die absolute Differenz der Membranstabilität zwischen Kontroll- und Stressbehandlung (MSIabs) und dem Ertrag bei Sikkation mit 0,5 %-iger Kaliumjodidlösung ($r_{Spearman} = -0,342^{*}$).

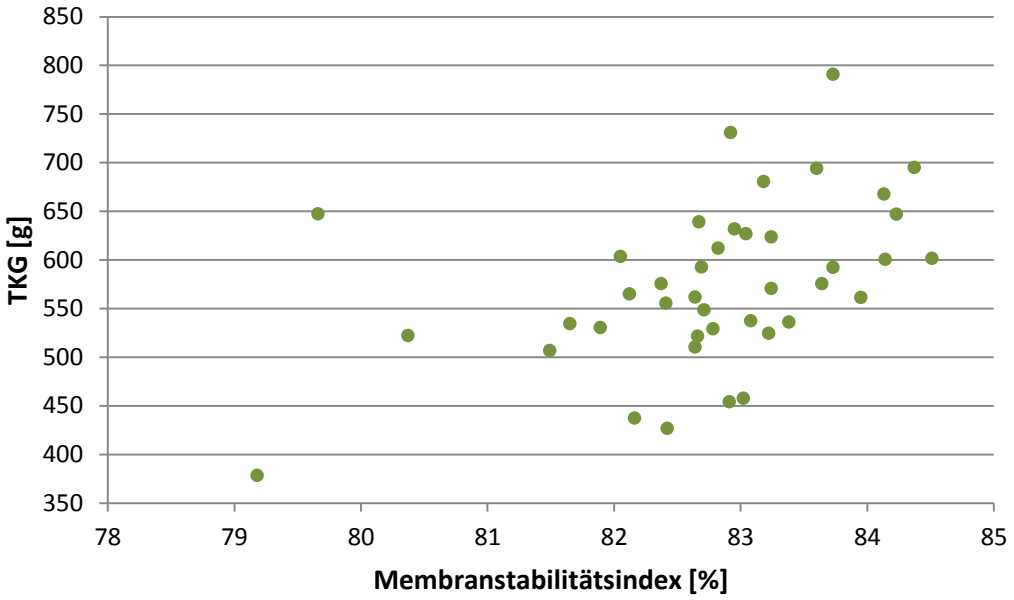


Abbildung 27: Tausendkorngewicht [g] in der Kontrollvariante Göttingen 2012/13 (GD (GxB) 5 % = 69,22 g) in Abhängigkeit der Membranstabilität in der Kontrollvariante [%] (GD (G) 5 % = 2,43 %), $r_{Spearman}$ = 0,502**.

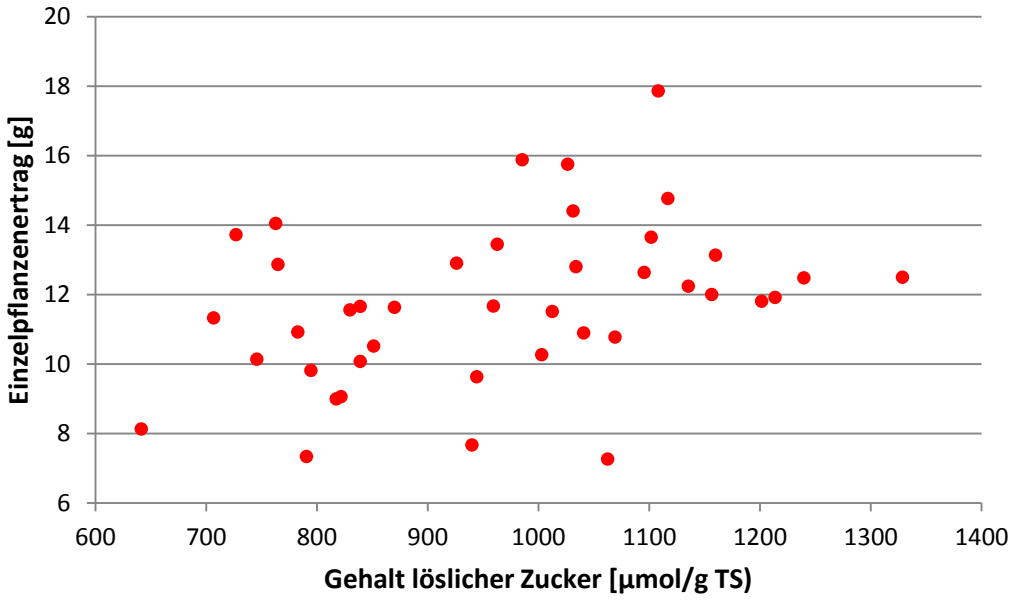


Abbildung 28: Einzelpflanzenertrag [g] der Stressvariante in Groß Lüsewitz 2012 (GD (GxB) 5 % = 4,72 g) in Abhängigkeit des Gehalts an löslichen Zuckern in der Stressvariante [µmol/g TS] (GD (G) 5 % = 219,59 µmol/g TS), $r_{Spearman}$ = 0,376**.

5. Diskussion

5.1. Markerkartierung und Gametenphasenungleichgewicht

Die Entwicklung molekularer Marker für eine Assoziationsanalyse wurde in dieser Arbeit über den Weg einer Kartierungspopulation gelöst. Hierzu wurde eine vorhandene biparentale RIL-Population, der K-Satz, verwendet (Arbaoui, 2007). Auf Grundlage dieser RIL-Population wurden AFLP-Marker entwickelt. Ferner wurden vorhandene SNP-Marker (Cottage et al., 2012) anhand ihrer Polymorphie im K-Satz ausgesucht und zur Kartierung verwendet. Bei der Kartierung dieser Marker traten zwölf Kopplungsgruppen mit insgesamt 1451 Markern und 1159 Loci auf. Die hohe Zahl an Kopplungsgruppen ist jedoch wenig zufriedenstellen, weil die Ackerbohne nur über x=6 Chromosomen verfügt. Allerdings haben fünf Kopplungsgruppen eine Größe von nur wenigen Zentimorgan und umfassen nur zwei bis zehn Loci. Darüber hinaus konnte in anderen Kartierungsansätzen bei Ackerbohnen selten eine Übereinstimmung zwischen Chromosomenzahl und Anzahl an Kopplungsgruppen erreicht werden (Torres et al., 2006). Deswegen soll an dieser Stelle gezeigt werden, dass die erstellte Karte auf sechs Kopplungsgruppen reduziert werden kann. Ferner lassen sich diese sechs Kopplungsgruppen indirekt den Chromosomen der Ackerbohne zuordnen (O'Sullivan, persönl. Mitteilung, 2012). Die darin enthaltenen Marker stellen somit eine besonders wertvolle Ressource zur Lokalisation von QTL dar.

Aufgrund der in dieser Arbeit verwendeten SNP-Marker lässt sich die Zahl von zwölf Kopplungsgruppen reduzieren. Es existiert eine nicht veröffentlichte Consensus Map, im Folgenden DOS-Karte, die dem Autor zur Verwendung vorliegt (O'Sullivan persönl. Mitteilung, 2012). Zur Erstellung der DOS-Karte wurden 643 SNP-Marker verwendet, die sechs Kopplungsgruppen rein auf Basis von Rekombination zugeordnet werden konnten. 111 dieser SNP Marker wurden auch in der hier erstellten Karte, im Folgenden GW-Karte, zusammen mit den AFLP-Markern kartiert. Daher sind die Positionen der SNP-Marker auf der DOS- und GW-Karte vergleichbar. Bei nur fünf Markern zeigen sich Abweichungen von den nachfolgend dargestellten Verbindungen beider Karten. Diese fünf SNP-Marker waren in der GW-Karte auf anderen Kopplungsgruppen als auf der DOS-Karte bzw. ließen sich nicht in das im Anhang dargestellte Schema (Abbildung 33) einordnen.

Anhand dieses Vergleichs lassen sich Kopplungsgruppe KG04 und KG01 der GW-Karte der Kopplungsgruppe LG01 der DOS-Karte zuordnen (Abbildung 29). Hierbei stellt KG04 das eine Ende der LG01 und KG01 das andere Ende dar. Auffällig ist die fast identische Rangierung der Marker auf der DOS-Karte und der GW-Karte ebenso wie die auf beiden Karten kosegregierenden Marker Vf_Mt5g044980 und Vf_Mt5g046030. Darüber hinaus gibt es eine Überlappung der KG01 und KG04 bei den Markern Vf_Mt5g005120, Vf_Mt5g033880 und Vf_Mt5g037120, wie in Abbildung 29 erkennbar.

Ferner lassen sich die weiteren Kopplungsgruppen der GW-Karte mittels der DOS-Karte überprüfen. Die Ergebnisse sind graphisch im Anhang in Abbildung 33 wiedergegeben. Hierbei wird deutlich, dass Kopplungsgruppe KG02 der GW-Karte der Kopplungsgruppe LG02 auf der DOS-Karte entspricht. Die dritte Kopplungsgruppe (LG03) der DOS-Karte entspricht der fünften Kopplungsgruppe (KG05) der GW-Karte. Hierbei kommt es nur im Fall weniger Marker zu einer unterschiedlichen Anordnung.

Die vierte Kopplungsgruppe (LG04) der DOS-Karte entspricht anhand der SNP-Marker der dritten Kopplungsgruppe (KG03) der GW-Karte. Hier ist die Rangierung der SNP-Marker identisch. Die fünfte Kopplungsgruppe (LG05) der DOS-Karte entspricht der sechsten Kopplungsgruppe (KG06) der GW-Karte. Die sechste Kopplungsgruppe (LG06) der DOS-Karte ist identisch mit der siebten Kopplungsgruppe (KG07) der GW-Karte. Hier ist eine geringfügig andere Anordnung der SNP-Marker auf der Kopplungsgruppe zu verzeichnen.

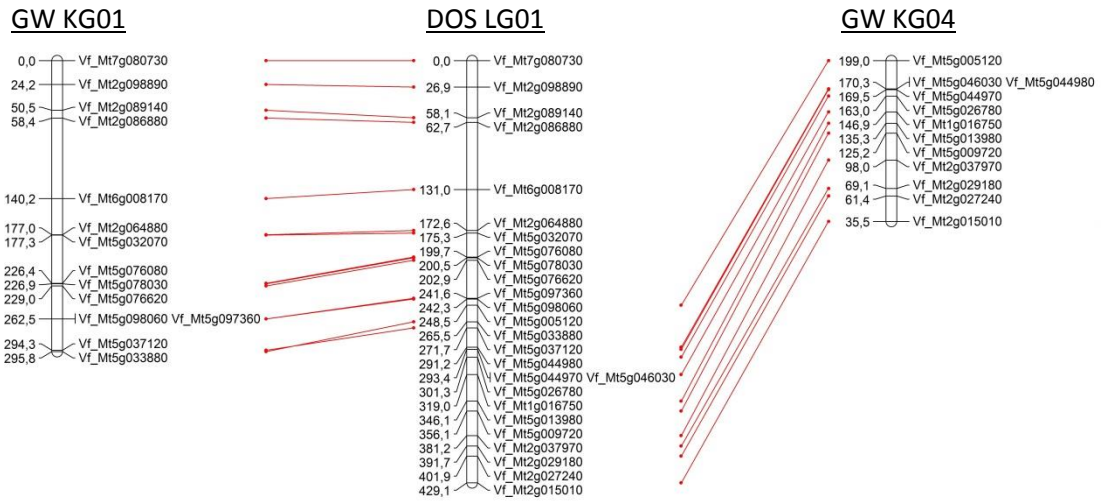


Abbildung 29: Zuordnung der Kopplungsgruppen KG01 und KG04 der GW-Karte zur Kopplungsgruppe LG01 der DOS-Karte auf Basis gemeinsamer SNP-Marker (nur SNP-Marker der GW-Karte dargestellt). Die übrigen Kopplungsgruppenvergleiche sind im Anhang wiedergegeben. Darstellung mit MapChart 2.2 (Voorrips, 2002) realisiert.

Darüber hinaus lassen sich nach O'Sullivan (persönl. Mitteilung, 2012) die erste, zweite, dritte und fünfte Kopplungsgruppe der DOS-Karte jeweils dem ersten, zweiten, dritten und fünften Chromosom der Ackerbohne zuordnen. Dies gelingt O'Sullivan (persönl. Mitteilung, 2012) über kartierte Loci, die mit Merkmalen wie bspw. Tanninfreiheit oder Zwergwuchs gekoppelt sind. Ergänzend zu den Ergebnissen von O'Sullivan (persönl. Mitteilung, 2012) konnten Ruiz-Rodriguez et al. (2014) alle x=6 Chromosomen der Ackerbohne verschiedenen Kopplungsgruppen distinkt zuordnen.

Durch diesen Vergleich der hier verwendeten Marker kann gezeigt werden, dass die kartierten SNP-Marker einen wertvollen Beitrag zu den AFLP-Markern darstellen; sie dienen – vergleichbar mit den von Cruz-Izquierdo et al. (2012) verwendeten physischen Markern – als Ankermarker. Die hohe Anzahl von zusammen mit den SNP-Markern kartierten AFLP-Markern ermöglicht gleichzeitig eine gute Abdeckung des Genoms mit einem durchschnittlichen Markerabstand von 1,41 cM. In Abbildung 7 wird deutlich, dass der überwiegende Teil der Marker Abstände von größer null bis drei Zentimorgan aufweist. Insgesamt sind in den Klassen 0,5 cM bis 3 cM 1032 Marker und damit 89 % der kartierten 1159 Loci. Damit liegt nun eine – im Vergleich zur übrigen Literatur – sehr dichte und schlüssige Karte der Ackerbohne vor.

Bisher bekannte Arbeiten zur Kartierung bei Ackerbohnen verfügen über eine deutlich niedrigere Markerdichte. Satovic et al. (2013) konnten unter Verwendung von drei RIL-Populationen eine Karte mit sechs Hauptkopplungsgruppen und 587 kartierten Markern erstellen. Allerdings ergeben sich in jener Karte 37 fragmentarische Kopplungsgruppen, die von den Autoren keiner Hauptkopplungsgruppe zugeordnet werden konnten. In der Arbeit

von Satovic et al. (2013) wurden verschiedene Markersysteme verwendet, darunter Isoenzym-, Mikrosatelliten- und ITAP-Marker.
Die hier durchgeführte Markerkartierung dient als Grundlage einer Assoziationsanalyse für Trockenstress-relevante Merkmale. Die Methodik der Assoziationsanalyse basiert auf dem Gametenphasenungleichgewicht zwischen Loci (Flint-Garcia et al., 2003). Die im Kartierungssatz kartierten Marker wurden hinsichtlich ihrer Polymorphie im Assoziationssatz geprüft. 805 Marker waren bei einer „minor allele frequency" von 5 % im A-Satz polymorph und wurden hinsichtlich ihres Gametenphasenungleichgewichts untersucht.
Es wurde deutlich, dass Markerpaare, deren Marker gemeinsam auf einer Kopplungsgruppe liegen, ein höheres LD haben, als Markerpaare deren Marker nicht gekoppelt sind (Tabelle 7). Dieser Unterschied ist signifikant bei Betrachtung aller Markerpaare. Für Markerpaare deren LD-Wert signifikant von null verschieden ist (Bonferroni-Korrektur), sind die Unterschiede zwar vorhanden aber nicht signifikant. Wie in Tabelle 8 dargestellt liegen die r^2-Werte jeder Kopplungsgruppe – mit Ausnahme der fragmentarischen KG09 und KG11 – signifikant über dem mittleren LD (Tabelle 7) aller Markerpaare.
In Tabelle 7 ist der prozentuale Anteil an Markerpaaren mit signifikantem LD bei Kopplung und ohne Kopplung der Marker eines Markerpaares angegeben. Hierbei zeigt sich, dass bei einem α- Fehler von $3{,}09*10^{-7}$ (nach Bonferroni-Korrektur) ca. 79 % dieser Markerpaare aus gekoppelten Markern bestehen. Es ist also – bei signifikantem LD – der Anteil gekoppelter Markerpaare größer als der Anteil der Markerpaare ohne Kopplung. Dies unterstützt die These von Ecke et al. (2010), nach der nur Kopplung ein hohes LD aufrechterhält. Hierbei sei angemerkt, dass die Bonferroni-Korrektur eine sehr starke Einengung der einbezogenen Markerpaare zur Folge hat, denn es werden nur 0,04 % der LD-Werte berücksichtigt.
Ein deutliches Absinken des gemittelten LD ist in Abbildung 8 bei ca. 2 cM zu erkennen. Dies macht ebenfalls deutlich, dass im vorliegenden Material das LD mit zunehmender Distanz der Marker rasch absinkt. Das bedeutet, dass größtenteils nur sehr eng gekoppelte Marker in hohem Gametenphasenungleichgewicht sind. Insgesamt zeigen 37 Markerpaare kartierter Marker ein $r^2 > 0{,}3$. Von diesen sind in 33 Fällen beide Marker auf einer Kopplungsgruppe. Hier zeigt sich der erhebliche Abbau des LD durch Rekombination in der meiotischen Geschichte des hier untersuchten Materials (vgl. Flint-Garcia et al., 2003) aber auch die Tatsache, dass sehr hohe LD-Werte überwiegend durch Kopplung aufrechterhalten werden.
Der Zusammenhang von LD und Kopplung wird unter anderem auch von Myles et al. (2009) und Neumann et al. (2011) diskutiert. Die Autoren kommen ebenfalls zu dem Schluss, dass nur Kopplung das LD über mehrere Generationen erhält. Dieser Umstand ist entscheidend für eine markergestützte Selektion, welche in Kapitel 5.3 näher diskutiert wird.
Die Analyse innerhalb des hier bearbeiten Assoziationssatzes zeigt ein allgemein sehr niedriges Niveau des LD. Die Genotypen des Assoziationssatzes wurden per SSD aus der Göttinger Winterackerbohnenpopulation erstellt, welche aus elf homozygoten Komponenten besteht. In der Entwicklung der Göttinger Winterackerbohnenpopulation kam es zu acht Generationen offener Abblüte. Hier fand neben Selbstung auch – und wie sich anhand des schnellen Absinkens des LD mit steigender Markerdistanz andeutet – in erheblichem Maße Durchkreuzung und damit Rekombination statt.

Für die effektive Rekombinationsrate r_e bei einem Fremdbefruchtungsgrad S geben Golding und Strobeck (1980) folgende Formel an:

$$r_e = \frac{1 - S}{1 - \frac{1}{2}S}$$

Unterstellt man für die Ackerbohne einen mittleren Selbstbefruchtungsgrad von 50 % (Link et al., 2010), ergibt sich eine effektive Rekombinationsrate r_e von 0,66. Diese im Vergleich zu vollständiger Allogamie um ein Drittel niedrigere Rekombinationsrate führte im vorliegenden Beispiel zu schleunigem Abbau des LD innerhalb weniger cM (Abbildung 8).
Die Ergebnisse bestätigen, dass bei der partiell allogamen Ackerbohne das Gametenphasenungleichgewicht sehr schnell abgebaut wird. Myles et al. (2009) führen an, dass eine erfolgreiche Assoziationsanalyse stark von der Ausprägung des Gametenphasenungleichgewichts abhängig ist. Entscheidend sei, wie schnell das LD mit größerer Entfernung der Marker voneinander abfällt. Im vorliegenden Fall sinkt das LD rasch mit steigender Markerdistanz ab. Daher eignet sich das vorliegende Material des Assoziationssatzes für eine Assoziationsanalyse mit hoher Auflösung der gefundenen QTL (Zhu et al., 2008).

5.2. Trockenstress und Sikkation im Feld

Zur Validierung der im Labor gewonnenen physiologischen Erkenntnisse dienten im Rahmen dieser Arbeit mehrortige und mehrjährige Feldversuche. Zunächst sei auf die Bedeutung und Bewertung der sogenannten Rain-Out-Shelter-Versuche eingegangen. Für alle der hier wiedergegebenen Merkmale hat die Varianzkomponente Genotyp signifikanten Einfluss. Daher bietet sich per se die Möglichkeit zur Auslese bestimmter Genotypen, die unter den gegebenen Bedingungen gewünschte Merkmalsausprägungen zeigen. Allerdings ist bei jeglicher Betrachtung von Trockenstress, Zeitpunkt und Ausprägung des Wassermangels von entscheidender Bedeutung (Blum, 2005). Die hier verwendeten Rain-Out-Shelter-Anlagen wurden so gesteuert, dass der Wassermangel idealerweise mit der Blüte einsetzte und bis zur Reife andauerte.

Abbildung 30: Rain-Out-Shelter vor Stressbeginn in Göttingen. Kontrollvariante. Aufgenommen am 15. Mai 2013. Zu erkennen ist die Tröpfchenbewässerung.

Blum (2011) führt verschiedene beachtenswerte Besonderheiten von Rain-Out-Shelter-Experimenten an. So schlägt er für eine möglichst große Vergleichbarkeit von Kontroll- und Stressbehandlung vor, die Kontrollvariante ebenfalls unter einem Shelter, aber zusätzlich mit Bewässerung anzulegen. Diese Vorgehensweise gilt für den hier erläuterten Versuch in Göttingen 2012/2013. In beiden Groß Lüsewitzer Versuchen war ein solches Vorgehen aus Kapazitätsgründen nicht möglich. Daher wurden die bewässerten Kontrollvarianten dem natürlichen Niederschlag frei zugänglich in unmittelbarer Nähe der Rain-Out-Shelter-Anlage gesät. Hierdurch sollten möglichst homogene Versuchsbedingungen erreicht werden. Zur Anlage in Göttingen sei angemerkt, dass – durch die immobile Natur der Shelter – neben Wassermangel auch Stress durch Hitzestau unter den Sheltern auf die Genotypen einwirkte. Blum (2011) beschreibt eine solche Anlage – im Prinzip ein Folientunnel – als geeignet für gemäßigte Klimate, wo Hitzestress innerhalb der Shelter nicht zu stark wird. Dennoch ist dieser Stressfaktor, der auf Kontroll- und Stressvariante gleichermaßen wirkt, im Vergleich zu den Groß Lüsewitzer Versuchen nicht zu vernachlässigen. Die Groß Lüsewitzer Anlage ist mobil, d.h. sie lässt sich im Gegensatz zur Göttinger Anlage vom Bestand entfernen und minimiert so nicht gewünschte Stressfaktoren, wie etwa Stauhitze, an sonnigen Tagen.

Betrachtet man nun den Einfluss der Behandlung auf die Merkmalsausprägung der Genotypen, zeigt sich ein ebenso eindeutiger Einfluss wie beim Faktor Genotyp. So hat der Faktor Behandlung im Göttinger Rain-Out-Shelter einen schwach signifikanten Einfluss auf die Merkmale Spad und Welke. Allerdings besteht ein hoch signifikanter Einfluss auf das entscheidendste Merkmal Ertrag, jedoch nicht auf das TKG und andere interessante Merkmale, wie etwa den Reifezeitpunkt. Stress- und Kontrollbehandlung sind für den Ertrag mit $r_{Spearman}$ = 0,765 hoch korreliert. Die mittlere Ertragsreduktion der Stressbehandlung ist mit 21,9 % deutlich schwächer als in den Groß Lüsewitzer Versuchen, wo diese 50,0 % in 2012 bzw. 69,0 % in 2012/2013 beträgt (Tabelle 31). Ähnliches gilt auch für das TKG, für welches die Reduktion in Göttingen 2012/2013 nur 6,6 % betrug, wohingegen diese in Groß Lüsewitz 15,4 % in 2012 bzw. 24,4 % in 2012/2013 ausmachte. Daraus ergibt sich auch eine hö-

here Ertrags- und TKG-Reduktion im Mittel aller drei Versuche verglichen mit dem Einzelversuch in Göttingen. Beide Behandlungen waren in erheblichem Maße durch die Rain-Out-Shelter-Konstruktion beeinflusst. Somit waren beide Behandlungen ungewünschtem Stress wie etwa Hitze im Shelter oder auch durch die verwendete Folie unnatürlichen Lichtbedingungen ausgesetzt. Ferner ist der Boden durch eine hohe Ackerzahl und mit auf 60-90 cm vergleichsweise hoch anstehendem Grundwasser gekennzeichnet. Letzteres kann sicher die geringere Ertragsreduktion im Vergleich zu den Groß Lüsewitzer Versuchen teilweise erklären. Dennoch konnte gezeigt werden, dass die von Blum (2011) vorgeschlagene und in Göttingen verwendete Anlage geeignet ist, eine signifikante Ertragsreduktion unter Stressbedingungen gegenüber der Kontrollvariante zu erzeugen. So ist mit der Methode, beide Behandlungen unter stationären Rain-Out-Sheltern durchzuführen, eine Selektion auf Trockenstresstoleranz möglich. Gleichzeitig wird allerdings in stärkerem Maße als bei mobilen Sheltern auch auf Hitzestresstoleranz mitselektiert.

Beachtenswert ist weiterhin die Genotyp-Behandlungs-Interaktion in diesem Versuch, gibt sie doch Aufschluss über unterschiedliche Reaktionsmuster in Kontroll- und Stressvariante. Sie ist nur signifikant für die Merkmale Reife, Spad und Blühbeginn. Der signifikante Einfluss der Behandlung auf das Merkmal Blühbeginn kann – in diesem und weiteren Versuchen – allerdings nicht als solcher interpretiert werden. Es handelt sich vielmehr, weil der Wassermangel erst nach Blühbeginn einsetzte, um einen signifikanten Einfluss der Wiederholungen im Sinne der angelegten Rain-Out-Shelter.

Das züchterisch besonders interessante Merkmal Ertrag zeigt keine signifikante Genotyp-Behandlungs-Interaktion. Dieser Umstand wird auch in Abbildung 18 anhand der Ergebnisse aus Göttingen 2012/2013 deutlich: Hier zeigen Genotypen mit hohem Ertrag in der Kontrollvariante auch überwiegend einen hohen Ertrag bei Trockenstress. Anders ausgedrückt ist die Rangierung der Genotypen sehr ähnlich und die Daten beider Behandlungen mit $r_{Spearman}$ = 0,766** hoch korreliert. Die Wiederholbarkeit ist gleichzeitig mit h^2 = 81,7 % in der Kontrolle und h^2 = 84,8 % im Stress für das Merkmal Ertrag verhältnismäßig hoch (Tabelle 30). Außerdem zeigt sich für Stress und Kontrollbedingungen eine sehr ähnliche Korrelation zwischen Pflanzenlänge und Einzelpflanzenertrag (Abbildung 20). An dieser Abbildung wird deutlich, dass Werte für Ertrag und Pflanzenlänge zwar niedriger in der Stressbehandlung sind; es sind jedoch ähnliche Reaktionsmuster vorhanden.

Die Rain-Out-Shelter in Groß Lüsewitz sind größer als in Göttingen und mobil, sodass sie den Bestand anders und nicht permanent beeinflussen. Hier ist daher mit weniger Hitzestress in beiden Behandlungen zu rechnen. Die Rain-Out-Shelter-Versuche in Groß Lüsewitz 2012 und in 2012/2013 zeigen für ihre Merkmale Pflanzenlänge, Anzahl Hülsen pro Pflanze und Hülsen pro Pflanze nicht nur einen hochsignifikanten Einfluss des Faktors Genotyp, sondern ebenso hat die Behandlung für alle Merkmale in beiden Jahren mittel bis hoch signifikanten Einfluss. Der Ertrag ist in beiden Jahren hoch signifikant von der Behandlung beeinflusst. Gleichzeitig ist die Ertragsreduktion mit 50,0 % und 69,0 % deutlich stärker als in Göttingen 2012/2013. Wie im Anhang in Tabelle 31 wiedergegeben, sind die mittleren Erträge in der Kontrollvariante deutlich höher als in Göttingen 2012/2013, mutmaßlich wegen geringerem Hitzestress und weil die photosynthetisch aktive Strahlung nicht durch ein Foliendach beeinflusst war. Gleichzeitig sind die Erträge in der Stressvariante etwas niedriger, möglicherweise weil der Standort durch andere Bodeneigenschaften als der Göttinger Standort gekennzeichnet ist.

In beiden Groß Lüsewitzer Versuchen gab es ferner für alle Merkmale eine signifikante Genotyp-Behandlungs-Interaktion. Dies steht im Gegensatz zum Versuch in Göttingen 2012/2013 und deutet ebenso auf eine unterschiedliche Stressausprägung in den Behandlungen hin. Die Korrelation zwischen den Erträgen beider Behandlungen ist mit $r_{Spearman}$ = 0,415 (2012) und $r_{Spearman}$ = 0,268 (2012/2013) niedrig. Dieser Umstand zeigt, dass Genotypen unter Stress und in der Kontrolle unterschiedliche Reaktionsmuster zeigen und daher verschieden rangiert sind. Der Einzelpflanzenertrag ist in der Kontrollvariante mit der Hülsenzahl pro Pflanze in 2012 hoch und signifikant korreliert ($r_{Spearman}$ = 0,795**). Unter Stressbedingungen schrumpft diese Korrelation auf $r_{Spearman}$ = 0,355* zusammen (Abbildung 24). Zwar ist auch dieser Wert noch signifikant von null verschieden, dennoch scheint die Hülsenzahl pro Pflanze das Merkmal Einzelpflanzenertrag wesentlich weniger stark im Stress zu beeinflussen. Das TKG in der Kontrolle ist mit $r_{Spearman}$ = 0,352* mit dem Ertrag in der Kontrolle korreliert. Diese Korrelation steigt unter Stressbedingungen auf 0,522**. Die mittlere Hülsenzahl pro Pflanze betrug im Versuch in Groß Lüsewitz 2012 in der Kontrolle 14 Hülsen pro Pflanze und im Stress nur acht Hülsen pro Pflanze. Gleichzeitig fiel das mittlere TKG in diesem Versuch von 620 g auf 525 g. Die mittlere Reduktion der Hülsenzahl ist mit 43 % also deutlich stärker als die des TKG mit etwa 15 %. Es werden unter Stressbedingungen also deutlich weniger Hülsen pro Pflanze mit nur wenig kleineren Körnern ausgebildet. Mwanamwenge et al. (1999) fanden bei ihren Vergleichen zweier Ackerbohnensorten unter verschiedenen Trockenstressregimen eine reduzierte Blüten- und Hülsenzahl pro Pflanze. Die Autoren konnten allerdings keinen signifikanten Rückgang des mittleren Samengewichts feststellen. Dennoch unterstützen die Ergebnisse von Mwanamwenge et al. (1999) die im Rain-Out-Shelter in Groß Lüsewitz 2012 gemachten Beobachtungen, dass die Hülsenzahl unter Stressbedingungen reduziert ist. Diese Zusammenhänge zeigen sich auch in ähnlicher Weise im Groß Lüsewitzer Rain-Out-Shelter-Versuch 2012/2013 (Tabelle 18).

Im Gegensatz zum Versuch in Göttingen 2012/2013 gibt es in beiden Groß Lüsewitzer Versuchen Genotypen, die bei Kontrollbedingungen unterlegen und analog bei Stressbedingungen überlegen sind. Außerdem zeigen einige Genotypen in Kontroll- und Stressbehandlung hohe Rangpositionen hinsichtlich des Ertrages und damit eine Überlegenheit unter beiden Bedingungen. Einerseits entspricht dieses Ergebnis der Erwartung, weil unterschiedliche Genotypen unterschiedlich gute Anpassungsmöglichkeiten an Wassermangel zeigen. Andererseits lässt dies die Selektion auf Genotypen mit hoher Leistungsfähigkeit unter den von Blum (2011) angeführten und in der Einleitung wiedergegeben Bedingungen zu. An dieser Stelle sei auf die Inzuchtlinie Hiverna/1 hingewiesen, die in der mehrortigen Auswertung ertraglich die Ränge eins und zwei einnimmt und somit als relativ tolerant gegen die vorherrschenden Trockenstressbedingungen angesehen werden kann.

Zur Einordnung dieser drei Rain-Out-Shelter-Versuche in den Gesamtkontext wurden diese für die Merkmale Ertrag und TKG – je für beide Behandlungen und ihre Differenz – mehrortig ausgewertet. Die mehrortige Auswertung beschränkt sich nur auf die durchgeführten Rain-Out-Shelter-Versuche, weil die Induktion von Stress durch Kaliumjodidapplikation kaum Gemeinsamkeiten mit den Ergebnissen unter tatsächlichem Wassermangel zeigte. Bei dieser mehrortigen Betrachtung ergibt sich, wie schon in der Betrachtung der Einzelversuche, ein hoch signifikanter Einfluss des Faktors Genotyp. Die Heritabilität des TKG ist mit h^2 = 88,2 % (Stressbehandlung) und h^2 = 92,1 % (Kontrolle) erwartungsgemäß hoch. Für den Ertrag liegt sie mit h^2 = 61,4 % (Stressbehandlung) und h^2 = 62,7 % (Kontrolle) im mittleren Bereich (Tabelle 19). Es gibt in diesem Versuch für alle Merkmale einen (außer ΔTKG) signi-

fikanten Einfluss des Ortes als Faktor der Varianzanalyse. Aufgrund der unterschiedlichen geographischen Lage der Standorte aber auch wegen der unterschiedlichen Konstruktion der Rain-Out-Shelter, ist der Einfluss des Ortes nicht verwunderlich und züchterisch zudem von geringerer Bedeutung. Allerdings gibt es für alle Merkmale eine hoch signifikante Genotyp-Ort-Interaktion. Dies bedeutet, besonders in Hinblick auf die Heritabilität des Ertrags, dass es über die Orte kein einheitliches Reaktionsmuster der Genotypen gibt. Es findet sich also bei den Versuchen keine gleiche oder sehr ähnliche Rangierung der Genotypen. Dadurch können nicht mehrere Genotypen als „per se“ überlegen oder unterlegen bei Wassermangel identifiziert werden. Dennoch lassen sich bei pragmatischer Herangehensweise Inzuchtlinien wie etwa oben genannte Hiverna/1 finden, deren Ertrag unter Trockenstress- und Kontrollbedingungen auf den Rangplätzen eins resp. zwei lag. Außerdem sind die Inzuchtlinien Seif_265, Seif_069 und WAB-Fam159 hervorzuheben, die mit Hiverna/1 sowohl in Kontroll- und auch Stressvariante aller Rain-Out-Versuche innerhalb der obersten sechs Ränge liegen, wie im Anhang in Tabelle 32 wiedergeben. Hiverna/1 zeigt sich ferner auch auf dem dritten Rang in der Stressvariante des Sikkationsversuches in Roßleben 2012/2013 und liegt auf dem fünften Rang im Göttinger Rain-Out-Shelter-Versuch 2011/12, in dem es keine Kontrollvariante gab. In diesem Versuch zeigt WAB_EP_98_21 den höchsten Ertrag; eine Inzuchtlinie, die im Mittel der Stressbehandlungen der übrigen Rain-Out-Shelter-Versuche auf Rang zwei liegt. Hiverna/1 und WAB_EP98_21 nehmen im Rain-Out-Shelter-Versuch in Göttingen 2012/2013 die Ränge eins und zwei ein. In diesem Versuch rangiert Inzuchtlinie S_069 an vierter Stelle. Im Rain-Out-Shelter-Versuch in Groß Lüsewitz 2012 erreichten die Inzuchtlinien S_069 und S_265 die höchsten Einzelpflanzenerträge. WAB-Fam159 nimmt den vierten Platz ein. Hiverna/1 rangiert hier nicht unter den ersten sechs, sondern liegt ertraglich an siebter Stelle. Der Rain-Out-Shelter-Versuch in Groß Lüsewitz 2012/2013 zeigt eine geringfügig andere Rangierung im oberen Bereich, verdeutlicht aber die gleiche Tendenz für die mehrortig als ertragsstabil charakterisierten Genotypen: WAB_EP98_21 liegt auf Rang drei, WAB-Fam159 auf Rang sechs, Hiverna/1 auf Rang sieben und S_265 auf Rang zehn. Es zeigt sich also auch bei Betrachtung der Einzelversuche eine ertragliche Rangierung im oberen Bereich für die Inzuchtlinien, die im mehrortigen Vergleich schon als in beiden Behandlungen überlegen eingestuft werden konnten.

Neben den hier diskutierten Rain-Out-Shelter-Versuchen wurden in zwei Jahren an jeweils einem Standort Sikkationsversuche mit Kaliumjodid durchgeführt. Diese Möglichkeit wurde hinsichtlich ihres Potentials zur indirekten Selektion auf Trockenstresstoleranz untersucht. In Poaceaen schlagen verschiedene Autoren (vgl. u. a. Regan et al. (1993) und Mahalakshmi et al. (1994)) diese Technik zur Hochdurchsatzselektion auf Trockenstresstoleranz vor. Nach Vorversuchen mit Kaliumjodidapplikation wurde in Hohenlieth 2011/2012 ein Hauptversuch durchgeführt, der allerdings im Verlauf der Vegetationsperiode stark und heterogen auf der Versuchsfläche verteilt von *Botrytis fabae* befallen wurde. Die Behandlungen hatten signifikanten Einfluss auf alle nach der Applikation des Kaliumjodids erfassten Merkmale. Ebenso gab es einen hoch signifikanten Einfluss des Genotyps auf die Merkmalsausprägungen. Einzig für die Merkmale Reife, Verbräunung und TKG gab es eine signifikante Genotyp-Behandlungs-Interaktion. Allerdings sind Abreife und Verbräunung keine vollständig unabhängigen Merkmale und wurden mutmaßlich noch durch den Befall mit *B. fabae* beeinflusst. In diesem Versuch zeigte sich, dass die Genotypen je nach Behandlung ähnliche Reaktionsmuster für das entscheidende Merkmal Ertrag hatten.

Der zweite Sikkationsversuch war zunächst als Versuch mit tatsächlichem Freiland-Trockenstress an dem zur Frühsommertrockenheit neigenden Standort Roßleben geplant. Unglücklicherweise waren die Monate Mai und Juni 2013 außergewöhnlich regenreich mit 148 mm/m² im Mai und 92 mm/m² im Juni (Winterfeld, persönl. Mitteilung, 2013). Diese Regenmengen innerhalb der zwei Monate machten ca. 51 % des durchschnittlichen Jahresniederschlags am Standort aus. Daher war in der Folge kein echter Wassermangel zu erwarten und somit die geplante Durchführung des Versuchs nicht zu halten. Anstelle einer bewässerten und einer unbewässerten Variante wurde sodann eine der beiden Varianten mit einprozentiger Kaliumjodidlösung behandelt. Durch diese Kaliumjodidapplikation zeigte sich ein hoch signifikanter Einfluss der Behandlung auf das Merkmal Parzellenertrag und eine hoch signifikante Genotyp-Behandlungs-Interaktion für dieses Merkmal. Auffällig ist, dass das TKG keine signifikante Beeinflussung durch die Behandlung erfährt und ergo auch in Abbildung 14 nur sehr geringe Unterschiede sichtbar sind. Dieser Unterschied zum Sikkationsversuch in Hohenlieth im Jahr 2011/2012 ist sehr wahrscheinlich technisch bedingt: Wurden in Hohenlieth Kornproben händisch genommen und vorsichtig mittels eines Einzelpflanzendreschers ausgedroschen, um möglichst viel Kaliumjodid-bedingtes Kümmerkorn zu erfassen, wurde der Versuch in Roßleben 2012/2013 mit einem Parzellenmähdrescher geerntet. Hierbei wurde sicherlich das Kümmerkorn durch den Windsichter aussortiert oder ist über die Siebe des Mähdreschers verlorengegangen. Zur Beurteilung der Übertragbarkeit von Sikkationsversuchen auf die Ergebnisse von Trockenstressversuchen mittels Rain-Out-Sheltern sei hier der Vergleich des Ertrags in Roßleben mit dem Mittel des Ertrags der beiden Rain-Out-Shelter-Versuche in Abbildung 31 wiedergegeben.

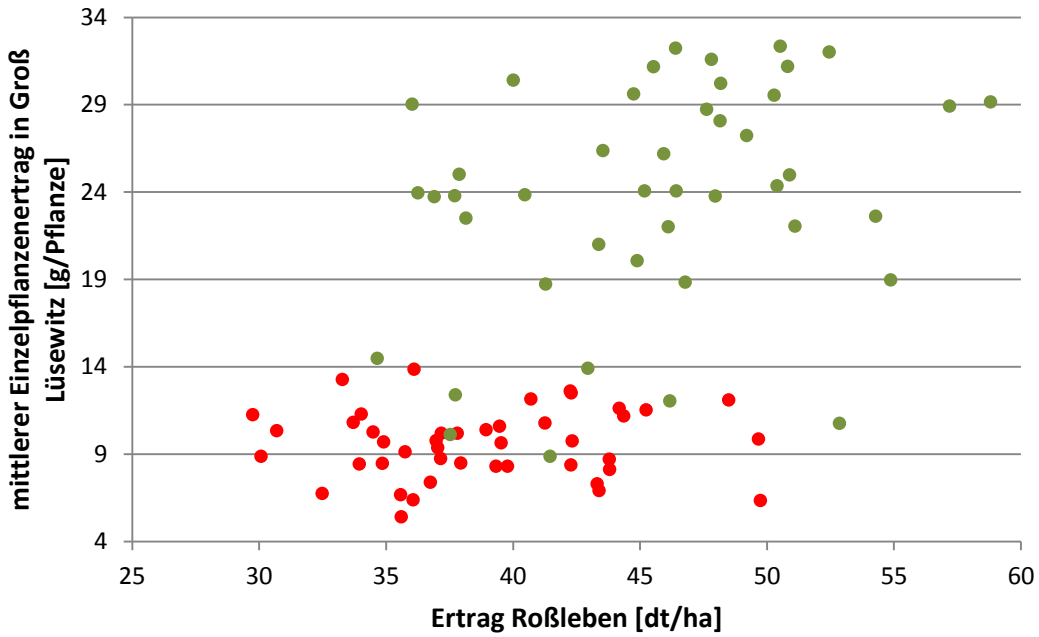


Abbildung 31: Mittlerer Einzelpflanzenertrag in Groß Lüsewitz (2012 und 2012/2013) in Abhängigkeit des Parzellenertrages in Roßleben 2012/2013. Die Werte der Kontrollvarianten sind in grün, die Werte der Stressvarianten sind in rot dargestellt. $r_{Spearman}$ (Kontrolle) = 0,313*; $r_{Spearman}$ (Stress) = 0,036.

In Abbildung 31 wird deutlich, dass es einen – wenn auch schwachen – Zusammenhang zwischen der Kontrollvariante in Roßleben 2012/2013 und dem arithmetischen Mittel der Kontrollvarianten in Groß Lüsewitz 2012 und 2012/2013 von $r_{Spearman}$ = 0,313* gibt. Dieser Zusammenhang findet sich so allerdings nicht in den Stressvarianten sondern bricht auf $r_{Spearman}$ = 0,036 zusammen. Anhand dieser Daten wird deutlich, dass im vorliegenden Material eine Simulation von Trockenstresssymptomen mittels chemischer Sikkation schwierig ist. Im Gegensatz zu Ergebnissen von Reichenberger et al. (2010) und Nicolas und Turner (1993), die Parallelen zwischen echtem Trockenstress und chemischer Sikkation mit Kaliumjodid bei Gerste (*Hordeum vulgare*) bzw. Weizen fanden, gilt dies anhand der vorliegenden Ergebnisse für Ackerbohnen weniger. Eine mögliche Erklärung hierfür kann der im Gegensatz zu Gerste und Weizen indeterminierte Wuchs der Ackerbohnen sein. Bildet Weizen an Haupt- und Seitentrieben eine Ähre aus, so entwickelt die Winterackerbohne die Ertragsorgane nacheinander von unten nach oben an Haupt- und Seitentrieben. Im unteren Bereich der Ackerbohnenpflanze sind schon Hülsen vorhanden, wenn im oberen Bereich sich noch Blüten öffnen. Es steht daher zu vermuten, dass Ackerbohnen dem durch eine einmalige Kaliumjodidbehandlung induzierten Stress entwachsen können. Dadurch bedingt scheint chemische Sikkation nicht erfolgversprechend zu sein, will man eine Selektion auf Trockenstress-tolerante Ackerbohnen vornehmen.

5.3. Physiologie, Trockenstress und Assoziationsanalyse

Die im Labor am Assoziationssatz erfassten physiologischen Merkmale dienen zusammen mit dem im Kapitel 5.1 diskutierten Ergebnissen der Markerkartierung und des Gametenphasenungleichgewichts als Grundlage der Assoziationsanalyse. Daher muss – nachdem die molekularen Marker bereits diskutiert wurden – zunächst die Phänotypisierung der Physiologie eingeordnet werden. Hier sei zunächst das Merkmal Glycinbetain herausgegriffen, für das QTL identifiziert werden konnten. Bergmann und Eckert (1984) konnten zeigen, dass künstlich appliziertes Glycinbetain die Wassernutzungseffizienz von Weizen positiv beeinflusst. Demnach könnten auch Genotypen, die vermehrt Glycinbetain unter Stress akkumulieren, eine höhere Wassernutzungseffizienz zeigen. Mäkelä et al. (1999) untersuchten die Reaktion trocken- und salzgestresster Tomaten (*Lycopersicon esculentum*) und Ölrübsen (*Brassica rapa* L. ssp. *oleifera*), auf deren Blätter sie Glycinbetain aufbrachten. Die Applikation von Glycinbetain führte zu verstärkter Photosynthese durch erhöhte Stomataleitfähigkeit. Die zitierten Ergebnisse machen deutlich, dass Glycinbetain eine Wirkung auf Pflanzen unter Wassermangel hat: Glycinbetain wirkt nach Bartels und Ingram (1996) ebenso wie Prolin als Osmotikum in Pflanzenzellen.

In dem hier untersuchten Material zeigte der Genotyp einen signifikanten Einfluss auf die Akkumulation von Glycinbetain in Kontroll- und Stressvariante und das Merkmal eine Wiederholbarkeit von h^2 = 61,9 % im Stress und h^2 = 63,0 % in der Kontrolle. Allerdings konnte, wie in Kapitel 4.4.2 dargelegt, nur eine einzige schwache Korrelation zwischen Glycinbetain und feldbasierten Merkmalen gefunden werden. Dies war die Korrelation von absoluter Differenz des Glycinbetaingehalts in Kontrolle und Stress mit dem Ertrag bei Sikkation mit zweiprozentiger Kaliumjodidlösung in Hohenlieth 2012/13. Darüber hinaus bilden die Versuche zur chemischen Sikkation das tatsächliche Verhalten der Genotypen unter Trockenstress nur mangelhaft ab (vgl. Kapitel 5.2). Ferner wurde das Merkmal Glycinbetain mittels NIRS bestimmt. Zunächst wurde eine NIRS-Kalibration auf Basis photometrisch gemessener Werte durchgeführt und anschließend kreuzvalidiert. Diese Kreuzvalidation ergab ein Bestimmtheitsmaß von R^2 = 0,70. Betrachtet man die Erfassung dieser Werte im Zusammenhang mit ihrer Korrelation zu feldbasierten Merkmalen, so erscheinen die beiden in der Assoziationsanalyse identifizierten – mit je einem QTL für GBabs und K_GB – assoziierten AFLP-Marker E36M48-279 und E41M55-282 vorerst als wenig geeignet zur markergestützten Selektion auf Trockenstresstoleranz. Auf Basis dieser Ergebnisse können aber weitere Untersuchungen in der Zukunft angestrebt werden, insbesondere hinsichtlich der weiteren Prüfung des Zusammenhangs der Glycinbetainakkumulation unter Wassermangel. Denkbar wären Feldversuche unter Wassermangelbedingungen mit Bestimmung der Glycinbetainakkumulation.

Außer den angeführten Marker-Merkmal-Assoziationen wurden außerdem vier AFLP-Marker gefunden, die mit QTL für Prolin assoziiert sind. Die Aminosäure Prolin wird verschiedentlich im Zusammenhang mit Toleranz gegen abiotischen Stress diskutiert. Nanjo et al. (1999) unterdrückten gentechnisch den Abbau von Prolin in verschiedenen Linien der Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*) und konnten zeigen, dass diese Linien frost- und salztoleranter als die Wildtypen waren. Farhad et al. (2011) beobachteten bei Kartoffeln (*Solanum tuberosum*), die im Gewächshaus unter Wassermangel wuchsen, eine erhöhte Prolinkonzentration in den Blättern. Im Rahmen der Phänotypisierung des Assoziationssat-

zes wurde ein hoch signifikanter Einfluss des Genotyps auf die Merkmale Prolin in der Kontrolle, im Stress und als Differenz zwischen Kontrolle und Stress gefunden. Allerdings war die Wiederholbarkeit in der Kontrollvariante mit h^2 = 34,1 % verhältnismäßig niedrig. Es sei angemerkt, dass der sehr geringe Prolingehalt in der Kontrollvariante überwiegend einen messtechnisch bedingten Grundfehler darstellt, welcher diese niedrige Wiederholbarkeit erklärt. Insofern ist die Reproduzierbarkeit in der Stressvariante mit h^2 = 84,3 % von größerer Bedeutung. Die absolute Differenz von Stress- und Kontrollvariante zeigte eine Wiederholbarkeit von 84,5 % und korrelierte mit dem Prolingehalt der Stressvariante mit $r_{Spearman}$ = 0,999**; diese absolute Differenz bildet also wegen des sehr niedrigen Prolingehalts und seiner geringen Variation in der Kontrolle vor allem die Variation der Stressvariante ab. Trotz dieser relativ hohen Wiederholbarkeiten konnte im vorliegenden Verifikationssatz keine bedeutsame Korrelation des Prolins zu feldbasierten Versuchsergebnissen gefunden werden. Die für eine Assoziation zu einem QTL der absoluten Differenz zwischen dem Prolingehalt in der Stress- und Kontrollbehandlung identifizierten AFLP-Marker E42M51-135, E36M48-279, E40M55-194, E41M62-459 können daher auf Basis der vorliegenden Daten zwar vermutlich für eine markergestützte Selektion zur Erhöhung der Prolinakkumulation, nicht aber auf Trockenstresstoleranz in Winterackerbohnen herangezogen werden. Die Ergebnisse zur Verwendbarkeit von Prolin als indirekte Selektionsmöglichkeit auf Trockenstresstoleranz decken sich mit den Ausführungen von Blum (2011).

Die physiologischen Merkmale sollen nun hinsichtlich ihrer Wechselbeziehungen diskutiert werden. Eine Übersicht dieser Korrelationen ist im Anhang in Tabelle 27 wiedergegeben. Zunächst werden die Korrelationen zwischen der Akkumulation freien Prolins und dem Gehalt an Glycinbetain erörtert. Hierbei sind Korrelationen der Merkmale unter Stressbedingungen von besonderer Bedeutung. So korrelieren die gemessenen Merkmale S_Prolin und S_GB mit $r_{Spearman}$ = 0,37**. Größer ist noch die Wechselbeziehung zwischen dem errechneten Merkmal GBabs und S_Prolin, korrelieren diese Merkmale doch mit $r_{Spearman}$ = 0,46**. S_GB wiederum korreliert mit $r_{Spearman}$ = 0,37** mit dem Merkmal Prolinabs. GBabs und Prolinabs korrelieren daher auch in dieser Größenordnung mit $r_{Spearman}$ = 0,45**. Es sind also signifikante Wechselbeziehungen dieser beiden Merkmale unter Stressbedingungen vorhanden. In der Kontrollvariante finden sich keine solchen Beziehungen.

In Tabelle 27 sind außerdem die zweijährigen Ergebnisse der $\Delta^{13}C$-Diskriminierung im F-Satz wiedergegeben. Zwischen diesen in den Rain-Out-Sheltern in Groß Lüsewitz 2012 und 2012/13 gewonnen Daten und den physiologischen Merkmalen lassen sich keine eindeutigen Wechselbeziehungen ausmachen. K_GB korreliert mit $\Delta^{13}C$ in der Stressvariante ($\Delta^{13}C$-Stress) mit $r_{Spearman}$ = 0,33* und mit der Differenz der $\Delta^{13}C$-Diskriminierung in Kontrolle und Stress ($\Delta^{13}C$-Differenz) mit $r_{Spearman}$ = -0,31*. Das negative Vorzeichen ergibt sich aus der Berechnung von $\Delta^{13}C$-Differenz. K_BWG und $\Delta^{13}C$-Stress korrelieren mit $r_{Spearman}$ = -0,38*. Diese drei Wechselbeziehungen sind unklaren Sinngehaltes, korrelieren hier doch die $\Delta^{13}C$-Diskriminierung in der Stressvariante der Groß Lüsewitzer Rain-Out-Shelter mit Kontrollmerkmalen der physiologischen Phänotypisierung. Ferner ist die Variation im Merkmal K_BWG außerordentlich gering (Tabelle 5). In den Stressvarianten korreliert der Gesamtgehalt löslicher Zucker mit dem Merkmal $\Delta^{13}C$-Stress mit $r_{Spearman}$ = 0,34*. Allerdings korreliert der Gesamtgehalt löslicher Zucker auch in der Kontrolle mit $\Delta^{13}C$-Stress mit $r_{Spearman}$ = 0,25, wenn auch dieser Wert nicht signifikant ist. Außerdem korrelieren $\Delta^{13}C$-Kontrolle und $\Delta^{13}C$-Differenz mit dem Merkmal S_GB.

Betrachtet man nun weitere physiologische Merkmale, so stechen die Korrelationen zwischen den Glycinbetainmerkmalen und den Merkmalen des Blattwassergehalts hervor: S_BWG und S_GB sind mit $r_{Spearman}$ = -0,60** hoch signfikant korreliert. Die absolute Differenz des Glycinbetaingehalts beider Behandlungen ist mit $r_{Spearman}$ = 0,51** ebenso hoch signifikant mit S_BWG korreliert. Entsprechend sind BWGabs und GBabs auch mit $r_{Spearman}$ = 0,50** korreliert. Zusammenfassend sind daher die Prolinmerkmale mittels der Glycinmerkmale im Stress auch korrelativ mit den Blattwassergehaltsmerkmalen verbunden. Alle Wechselbeziehungen dieser Merkmale sind im Anhang in Tabelle 27 wiedergegeben.
Der Blattwassergehalt misst im Gegensatz zu Merkmalen wie Glycinbetain, Prolin oder dem Gehalt an löslichen Zuckern keine Inhaltsstoffe, sondern eine direkt unter Wassermangel entscheidende Komponente. Blattwassergehaltsmerkmale sind daher von besonderer Bedeutung, versprechen sie doch direktere Übertragbarkeiten ins Feld. Vergleichbare Merkmale sind der Spad-Wert und der Membranstabilitätsindex. Allerdings fanden sich für diese beiden Merkmale im vorliegenden Datensatz keine relevant starken Wechselbeziehungen mit anderen Merkmalen. Im folgenden Kapitel werden die Potentiale eines Merkmals wie Blattwassergehalt im Sinne einer explorativen Analyse der verfügbaren Daten untersucht.

5.4. Explorative Analyse der physiologischen Merkmale

Neben der Messung von Metaboliten wie löslichen Zuckern, Prolin oder Glycinbetain, wurde mit dem Merkmal des Blattwassergehalts auch eine Pflanzeneigenschaft erfasst, die nicht nur als mögliche physiologische Komponente von Trockenstresstoleranz angesehen werden kann: Die Regulation des Blattwassergehalts bei Trockenstress kann vielmehr als direktes phänotypisches Merkmal einer Trockenstresstoleranz angesehen werden.
Bartels und Ingram (1996) sowie Blum (2011) verweisen auf die osmotische Wirksamkeit, Membranschutzfunktionen sowie die antioxidative Wirkung hier untersuchter Merkmale wie Prolin und Glycinbetain. Daher sollten solche Merkmale mit dem Blattwassergehalt unter Stressbehandlung korrelieren. In den vorliegenden Untersuchungen korrelierte etwa der Glycinbetaingehalt im Stress hochsignifikant mit dem Blattwassergehalt (siehe 5.3 Physiologie, Trockenstress und Assoziationsanalyse).

Um die gewonnenen Daten möglichst umfassend zu nutzen, wurde mittels multipler Regression versucht, den Blattwassergehalt im Stress aus den übrigen physiologischen Merkmalen vorherzusagen. Es wurden dazu folgende Merkmale benutzt: K_GLZ, S_Spad, S_GLZ, SPD%, GLZ%, GBabs, GB%, SPADabs, GLZabs. Außerdem wurde von allen Merkmalen auch ihr quadrierter Wert als weitere mögliche Variable benutzt. Es wurde also zunächst eine multiple Regression mit 18 Variablen durchgeführt und anschließend wurden diejenigen, deren t-Wert unter eins lag, nicht mehr berücksichtigt. Das Bestimmtheitsmaß des ersten, vollständigen Modells betrug $R^2 = 0{,}4507$, das schlussendlich benutzte Modell führte mit 16 Variablen zu einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0{,}4505$. Die verwendeten Regressionskoeffizienten sind in Tabelle 28 wiedergegeben.

Das so berechnete Merkmal S_BWG_MR [%] wurde in Tassel (Bradbury et al., 2007) einer Assoziationsanalyse unterzogen. Hierbei war bei einer „false discovery rate“ von 0,2 der SNP-Marker Vf_Mt3g086210 signifikant mit einem QTL assoziiert. Der Marker erklärt 9,987 % der phänotypischen Variation des Merkmals und hat einen Effekt des Allels Cytosin von 5 % im Vergleich zur Variante, an der Adenin an diesem Locus eingebaut ist.
Die hier verwendeten SNP-Marker sind an Genen des Modellorganismus *Medicago truncatula* annotiert. Der Marker Vf_Mt3g086210 entstammt dem Gen Medtr3g086210 (Noble Foundation, 2014), das für eine Enoyl-Acyl-Carrier Reductase codiert. Lohse et al. (2005) fanden einen Einfluss eines solchen Proteins auf die Fettsäuresynthese bei der Bildung arbuskulärer Mykorrhiza bei *Medicago truncatula*. In der Umgebung von Medtr3g086210 konnten keine Gene gefunden werden, die klare Annotationen im Zusammenhang mit Trockenstresseigenschaften in *Medicago truncatula* haben. Es kann derzeit nicht geklärt werden, ob der mit dem QTL für S_BWG_MR assoziierte Marker Vf_Mt3g086210 ebenfalls bei Ackerbohnen mit einem Gen, welches Einfluss auf die Fettsäuresynthese hat, assoziiert ist. Dennoch verdeutlicht dieses Beispiel den großen Nutzen der verwendeten SNP-Marker für weitere Analysen und Forschungen.

6. Fazit und Ausblick

In der Analyse des LD im A-Satz konnte ein rascher Abfall bei einer Markerdistanz von mehr als zwei Zentimorgan gezeigt werden. Außerdem zeigt die Häufigkeitsverteilung der kartierten Marker, dass der deutlich überwiegende Teil der nun vorhandenen Marker sehr geringe Distanzen von weniger als drei Zentimorgan zum je nächsten Markerlocus aufweist. Daher bieten diese Marker für weitere Assoziationsanalysen sehr großes Potential. Grundsätzlich wäre eine weitere Erhöhung der Markeranzahl – auch vor dem Hintergrund des sehr niedrigen mittleren LD – dennoch sinnvoll, um alle Bereiche des Genoms noch stärker mit Markern abdecken zu können. Allerdings wäre dabei eine Erhöhung des SNP-Marker-Anteils im Sinne einer angewandten markergestützten Selektion wünschenswert, da SNP-Marker – anders als AFLP-Marker (Patent: EP0534858, Europäisches Patentamt, 2014) – keinem Patentschutz unterliegen.

Hinsichtlich der Phänotypisierung der in der Assoziationsanalyse verwendeten physiologischen Merkmale ist eine weitere Prüfung ihrer Relevanz mittels feldbasierter Forschung notwendig. Hierbei sind Versuche mit besonderem Fokus auf die Merkmale unter Stressbedingungen denkbar. Im Fall von Saatgutknappheit könnten beispielsweise Versuche auch ohne zusätzliche Parzellen mit Bewässerung in regenarmen Regionen mit dennoch guten Böden, auf denen Ackerbohnen anbauwürdig sind, durchgeführt werden. Außerdem sind weitere mehrortige und mehrjährige Rain-Out-Shelter-Versuche mit bewässerter Kontrollvariante sinnvoll, um Genotypen mit hohem Ertragspotential unter beiden Bedingungen selektieren zu können. Gleichzeitig bieten sich bei der Art und Gestaltung der Rain-Out-Shelter weitere Verbesserungsmöglichkeiten. So könnten beispielsweise durch Pufferreihen zwischen den Prüfgliedern Randeffekte verringert werden oder durch eine andere technische Konstruktion der Rain-Out-Shelter die Effekte auf Bestäuberinsekten minimiert werden. Ein solcher Einfluss wurde in Göttingen beobachtet als sich verschiedenste Insekten unter den Rain-Out-Sheltern verirrten.

7. Zusammenfassung

7.1. Deutsch

In dieser Arbeit zu genetischen Analysen für die Vorbereitung eine markergestützten Selektion auf Trockenstresstoleranz bei der Winterackerbohne wurden 196 Winterackerbohnen-Inzuchtlinien und vier Sommerackerbohnen-Inzuchtlinien genotypisiert. Diese Inzuchtlinien wurden außerdem hinsichtlich der Physiologie-Merkmale Spad-Wert, Membranstabilitätsindex, Blattwassergehalt, Gesamtgehalt löslicher Zucker sowie Prolin- und Glycinbetaingehalt in je einer Kontroll- und einer Stressbehandlung phänotypisiert. Anhand eines Verifikationssatzes von 40 der 196 Winterackerbohnen-Inzuchtlinien wurden korrelative Verbindungen zwischen den physiologischen Merkmalen sowie feldbasierten und züchterisch relevanten Merkmalen wie bspw. Ertrag gesucht. Diese feldbasierten Merkmale wurden mit Hilfe von Rain-Out-Sheltern an den Standorten Göttingen und Groß Lüsewitz in den Jahren 2010/2011, 2012 und 2012/2013 erfasst. Ferner wurden die Möglichkeiten einer Simulation von Trockenstressreaktionen anhand dieses Verifikationssatzes durch Sikkationsversuche mit Kaliumjodidapplikation untersucht. Es konnten keine eindeutigen Beziehungen zwischen der Stressreaktion induziert durch Wassermangel und durch Kaliumjodidapplikation ermittelt werden. Außerdem wurden keine eindeutigen Beziehungen der physiologischen Merkmale zu den feldbasierten Trockenstressresultaten gefunden.

Mittels einer Kartierungspopulation von 101 RIL wurde eine genetische Karte der Ackerbohne mit zwölf Kopplungsgruppen bestehend aus insgesamt 1451 Markern und einer Länge von 1633,2 cM erstellt. Fünf dieser Kopplungsgruppen konnten als Fragmente identifiziert werden. Die verbleibenden sieben Kopplungsgruppen wurden mit den verwendeten SNP-Markern mittelbar den sechs Chromosomen der Ackerbohne zugeordnet. Hierbei stellen z. B. die erste und vierte Kopplungsgruppe gemeinsam eine Kopplungsgruppe dar. Die so kartierten Marker wurden hinsichtlich ihres Spaltungsverhältnisses innerhalb des A-Satzes – bestehend aus 189 der 196 phänotypisierten Winterackerbohnen-Inzuchtlinien – überprüft und für eine Assoziationsanalyse mit den Physiologiemerkmalen ausgewählt. Das Gametenphasenungleichgewicht zwischen 323 610 Markerpaaren wurde ihrer jeweiligen Distanz auf der genetischen Karte gegenübergestellt. Es konnte gezeigt werden, dass in der Entstehungsgeschichte des untersuchten Materials das Gametenphasenungleichgewicht durch Rekombination stark abgebaut wurde.

In die Assoziationsanalyse flossen insgesamt 1322 Marker ein. Mittels dieser molekularen Marker konnten insgesamt sechs QTL für Physiologie-Merkmale identifiziert werden. Dabei entfiel je ein QTL auf die Merkmale absolute Differenz im Glycinbetaingehalt zwischen Stress- und Kontrollbehandlung und Glycinbetaingehalt in der Kontrollbehandlung. Vier QTL konnten für die absolute Differenz zwischen dem Prolingehalt in der Stress- und Kontrollbehandlung identifiziert werden. Die gefundenen QTL können anhand der vorliegenden feldbasierten Verifikationsdaten nicht als markergestützte Selektionsmöglichkeit auf Trockenstresstoleranz empfohlen werden. Der nächste Schritt ist demzufolge, mittels feldbasierter Prüfungen der Inzuchtlinien in realen, relevanten Trockenstresslagen über ausreichend viele Orte und Jahre die Bedeutung der physiologischen Merkmale weiter zu prüfen.

7.2. Englisch

In this analysis, aiming to prepare for marker-assisted selection of drought tolerance in autumn sown faba bean (*Vicia faba* L.), 196 winter-type and four spring-type inbred lines were genotyped. Physiological traits such as spad, membrane stability index, leaf water content, total content of soluble sugars as well as proline and glycine betaine accumulation were assessed in control and stress treatments. 40 out of 196 inbred lines were phenotyped in the field to elucidate correlations between physiological traits and field-assessed traits, such as yield. Rain-Out-Shelters were used in Göttingen and Groß Lüsewitz in 2010/2011, 2012 and 2012/2013. Chemical desiccation with potassium iodide solution was used to test such indirect means of drought stress simulation. Yet, no trustworthy relations were found between drought and desiccation induced stress symptoms. Furthermore, no clear correlations were proven between physiological traits and field-based drought stress results.

Using a mapping population of 101 RIL a genetic map comprising 1451 molecular markers, 12 linkage groups and a total length of 1633.2 cM was constructed. Five of these linkage groups were identified as fragments. The seven remaining ones were indirectly assigned to the six chromosomes of faba bean via SNP-markers, e.g. linkage group one and four represent one shared linkage group. Mapped markers were selected upon their segregation pattern in the A-set – comprising 189 of the phenotyped 196 winter-type inbred lines – and used in association analysis of physiological traits. Linkage disequilibrium between 323 610 marker pairs was compared to their map distance. Decay of linkage disequilibrium is shown to be reduced by recombination during genetic material's development.

Using 1322 molecular markers in association mapping, six QTL for physiological traits were identified. One QTL each for absolute difference in glycine betaine content between controll and stress treatment and glycine betaine in control treatment were found. Further, four markers were identified to be related to absolute difference in proline content between stress and control treatment. Yet, the QTL identified cannot be recommended for marker-assisted selection on drought stress tolerance as traits' relevance could not be verified in the field. In a next step, inbred lines could be field-phenotyped in naturally drought prone environments using multiple years and locations. Such results could be used for further evaluation of the above mentioned physiological traits.

Literaturverzeichnis

Arbaoui, M., 2007. Detailed genetic analysis of faba bean (*Vicia faba* L.) winter hardiness and related traits*, eDiss Georg-August-Universität Göttingen.*

Balko, C. und Jansen, G., 2013. *persönliche Mitteilung.*

Bates, C., Waldren, R. und Teare, I., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil,* 39, 205-207.

Benjamini, Y. und Hochberg, Y., 1995. Controlling the False Discovery Rate: A practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological),* 1(57), 289-300.

Bergmann, H. und Eckert, H., 1984. Einfluss von Glycinbetain auf die Wasserausnutzung von Winterweizen *Triticum aestivum* L.. *Biologica Plantarum,* 5(26), 384-387.

Blum, A., 2005. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential - are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? *Australian Journal of Agricultural Research,* 56, 1159-1168.

Blum, A., 2009. Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Research*, 112, 119-123.

Blum, A., 2011. Plant Breeding for Water-Limited Environments*. Springer*, New York.

Bradbury, P. Zhang, Z., Kroon, D.E., Casstevens, T.M., Ramdoss, Y., Buckler, E.S., 2007. TASSEL: Software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics ,* 23, 2633-2635.

Cavanagh, C., Chao, S., Wang, S., Huang, B.E., Stephen, S., Kiani, S., Forrest, K., Saintenac, C., Brown-Guedira, G.L., Akhunova, A., See, D., Bai, G., Pumphrey, M., Tomar, L., Wong, D., Kong, S., Reynolds, M., Lopez da Silva, M., Bockelman, H., Talbert, L., Anders, J.A., Dreisigacker, S., Baenziger, S., Carter, A., Korzun, V., Morrell, P.L., Dubcovsky, J., Morell, M.K., Sorrells, M.E., Hayden, M.J., Akhunov, E., 2013. Genome-wide comparative diversity uncovers multiple targets of selection for improvement in hexaploid wheat landraces and cultivars. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* Onlineveröffentlichung, 1-6.

Chandrasekar, V., Sairam, R., Srivastava, G., 2000. Physiological and biochemical responses of hexaploid and tetraploid wheat to drought stress. *Journal of Agronomy and Crop Science,* 185(4), 219-227.

Condon, A., Richards, R., Rebetzke, R. Farquhar, G.D., 2002. Improving intrinsic water-use efficiency and crop yield. *Crop Science,* 42, 122-131.

Cottage, A., Gostkiewicz, K., Thomas, J.E., Borrows, R., Torres, A.M., O'Sullivan, D., 2012. Heterozygosity and diversity analysis using mapped single nucelotide polymorphisms in a faba bean inbreeding programme. *Molecular Breeding,* 4(30), 1799-1809.

Cruz-Izquierdo, S., Avila, C.M., Satovic, Z., Palomino, C., Gutierrez, N., Ellwood, S.R., Phan, H.T.T., Cubero, J.I., Torres, A.M., 2012. Comparative genomics to bridge *Vicia faba* with model and closely-related legume species: stability of QTLs for flowering and yield-related traits. *Theoretical and Applied Genetics,* 125, 1767-1782.

Deutscher Wetterdienst, 2013. Station Göttingen Geismar, *persönliche Mitteilung.*

Ecke, W., 2014. *persönliche Mitteilung*.

Ecke, W., Clemens, R., Honsdorf, N., Becker, H. C., 2010. Extent and structure of linkage disequilibrium in canola quality winter rapeseed (*Brassica napus* L.). *Theoretical and Applied Genetics,* 120, 921-931.

Ehlers, W., Müller, U., Grimme, K., 1986. Untersuchungen zum Wasserhaushalt der Ackerbohne II. Wasserpotential, stomatatäre Leitfähigkeit und Ertragsbildung. *Kali-Briefe,* 18(3), 189-210.

Ellwood, S. R., Phant, H.T.T., Jordan, M., Hane, J., Torres, A.M., Avila, C.M., Cruz-Izquierdo, S., Oliver, R.P., 2008. Construction of a comparative genetic map in faba bean (*Vicia faba* L.); conservation of genome structure with *Lens culinaris*. *BMC Genomics,* 9, 380-391.

Eurostat, 2012. *Eurostat.*

FAOstat, 2012. *FAOstat*.

Farhad, M.-S., Babak, A.M., Reza, Z.M., Mir Hassan, R.S., Afshin, T., 2011. Response of proline, soluble sugars, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes in potato (*Solanum tuberosum* L.) to different irrigation regimes in greenhouse conditions. *Australian Journal of Crop Science,* 1(5), 66-60.

Farquhar, G., O'Leary, M., Berry, J., 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology,* 9, 121-137.

Farquhar, G., Richards, R., 1984. Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use effiency of wheat genotypes. *Autralian Journal of Plant Physiology,* 11, 539-552.

Flint-Garcia, S. A., Thornsberry, J. M., Buckler, E. S., 2003. Structure of linkage disequilibrium in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 54, 354-374.

Fuchs, J., Strehl, S., Brandes, A., Schweizer, D., Schubert, I., 1998. Molecular-cytogenetic characterization of the *Vicia faba* genome - heterochromatin differentiation, replication patterns and sequence localization. *Chromosome Research,* 6, 219-230.

Fujiwara, T., Mitsuya, S., Miyake, H., Hattori, T., Takabe, T., 2010. Characterization of a novel glycinebetaine/proline transporter gene expressed in the mestome sheath and lateral root cap cells in barley. *Planta,* 232, 133-143.

Giesemann, A., 2005. Changes in soil C-isotopic composition in an agroecosystem under Free Air Carbon dioxide Enrichment (FACE) treatment during a crop rotation period. *Rapid Communications in Mass Spectrometry,* 19, 1373-1380.

Golding, G., Strobeck, C., 1980. Linkage Disequilibrium in a finite population that is partially selfing. *Genetics,* 94, 777-789.

Grasshoff, C., 1990. Effect of pattern of water supply on *Vicia faba* L. 1. Dry matter partitioning and yield variability. *Netherlands Journal of Agricultural Science,* 38, 21-44.

Grieve, C., Grattan, S., 1983. Rapid assay for determination of water soluble quaternary-amino compounds. *Plant and Soil,* 70, 303-307.

Haldane, J., Waddington, C., 1930. Inbreeding and linkage. *Genetics,* 16(357).

Honsdorf, N., Becker, H. C., Ecke, W., 2010. Association mapping for phenological, morphological and quality traits in canola quality winter rapeseed (*Brassica napus* L.)*, NRC Research Press.*

JMP 9.0.0., 2010, *SAS Institute.*

Katrij, N., Mastrorilli, M., Lahmer, F.Z., Maalouf, F., Oweis, T., 2011. Faba bean productivity in saline-drought conditions. *European Journal of Agronomy,* 35, 2-12.

Khan, H.R., Link, W., Hocking, T., Stoddard, F. L., 2007. Evaluation of physiological traits for improving drought tolerance in faba bean (*Vica faba* L.). *Plant and Soil,* 292, 205-217.

Khazaei, H., Stoddard, F., Street, K., 2012. Leaf temperature as a promising tool for evaluating drought adaptation in faba bean (*Vicia faba* L.)*. Helsinki, ESA*.

Khazaei, H., Street, K., Santanen, A., Bari, A., Stoddard, F.L., 2013. Do faba bean (*Vicia faba* L.) accessions from environments with contrasting seasonal moisture availabilities differ in stomatal characteristics and related traits. *Genetic Ressources and Crop Evolution. Published online August 1st 2013*

Kosambi, D. D., 1944. The estimation of map distances from recombination values. *Annals of Eugenics. 172-175*

Link, W., Arbaoui, M., 2005. Neues von der Göttinger Winter-Ackerbohne. *Raumberg-Gumpenstein, Irdning, Österreich, 56. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs. 1-8*

Link, W., Balko, C., Stoddard, F. L., 2010. Winter hardiness in faba bean: Physiology and breeding. *Field Crops Research,* 115, 287-296.

Lohse, S., Schliemann, W., Ammer, C., Kopka, J., Strack, D., Fester, T., 2005. Organization and metabolism of plastids and mitochondria in arbuscular mycorrhizal roots of *Medicago truncatula*. *Plant Physiology,* 139, 329-340.

Loss, S., Siddique, K., 1997. Adaptation of faba bean (*Vicia faba* L.) to dryland Mediterranean-type environments I. Seed yield and yield components. *Field Crops Research,* 52, 17-28.

Lucretti, S., Dolezel, J., 1997. Bivariate Flow Caryotyping in Broad Bean (*Vicia faba* L.). *Cytometry,* 28, 236-242.

Ma, J., Bennetzen, J., 2005. Recombination, rearrangement, reshuffling, and divergence in a centromeric region of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 103(2), 383-388.

Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Mafakheri, A., Siosemardeh, A., 2010. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Australian Journal of Crop Science,* 4(8), 580-585.

Mahalakshmi, V., Bidinger, F., Rao, K.P., Wani, S.P., 1994. Use of the senescing agent potassium iodide to simulate water deficit during flowering and grainfilling in pearl millet. *Field Crops Research,* 36, 103-111.

Mäkelä, P., Kontturi, M., Pehu, E., Somersalo, S., 1999. Photosynthetic response of drought- and salt-stressed tomato and turnip rape plants to foliar-applied glycinebetaine. *Physiologia Plantarum,* 109, 45-50.

Müller, U., Ehlers, W., 1986. Untersuchungen zum Wasserhaushalt der Ackerbohne I. Wurzelwachstum, Wasseraufnahme und Wasserverbrauch. *Kali-Briefe,* 18(3), 167-187.

Mwanamwenge, J., Loss, S., Siddique K., Cocks, P.S., 1999. Effect of water stress during floral inititation, flowering and podding on the growth and yield of faba bean. *European Journal of Agronomy,* 11, 1-11.

Myles, S., Peiffer, J., Brown, P.J., Ersoz, E.S., Zhang, Z., Costic, C.E., Buckler, E.S., 2009. Association mapping: critical considerations shift from genotyping to experimental design. *The Plant Cell,* 21, 2194-2202.

Nanjo, T., Kobayashi, M., Yoshiba, Y., Kakubari, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., 1999. Antisense suppression of proline degradation improves tolerance to freezing tolerance and salinity in Arabidopsis thaliana. *Federation of European Biochemical Societies Letters,* 461, 205-210.

Neumann, K., Kobiljski, B., Dencic, S., Varshney, R.K., Börner A., 2011. Genome-wide association mapping: a case study in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Molecular Breeding,* 27, 37-58.

Nicolas, M., Turner, N., 1993. Use of chemical desiccants and senescing agents to select wheat lines maintaining stable grain size during post-anthesis drought. *Field Crops Research,* 31, 155-171.

Noble Foundation, 2014. *Medicago truncatula* Gene Expression Atlas, *mtgea.noble.org* (Zugriff am 09.03.2014).

O'Sullivan, D., 2012. *persönliche Mitteilung*.

Regan, K., Whan, B., Turner, N., 1993. Evaluation of chemical desiccation as a selection technique for drought resistance in a dryland wheat breeding program. *Australian Journal of Agricultural Research,* 44, 1683-1691.

Reichenberger, G., Aschenbach, B., Schweizer, G., Schön, C.C., Schmidthalter, U., Herz, M., 2009. Untersuchungen zur genetischen Variabilität von Parametern im Zusammenhang mit Trockenstressresistenz bei Gerste. *Raumberg-Gumpenstein, Irdning, Österreich, 60. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs. 159-161*

Riazi, A., Matsuda, K., Arslan, A., 1985. Water-Stress Induced Changes in Concentrations of Proline and Other Solutes in Growing Regions of Young Barley Leaves. *Journal of Experimental Botany,* 36(172), 1716-1725.

Román, B., Satovic, Z., Avila, C.M., Rubiales, D., Moreno, M.T., Torres, A.M., 2003. Locating genes associated with *Ascochyta fabae* resistance in *Vicia faba*. *Australian Journal of Agricultural Research,* 54, 85-90.

Ruiz-Rodriguez, M.D., Avila, C.M., Torres, A.M., Fuchs, J., Schubert, I.,2014. Anchoring of genetic linkage maps to the chromosome complement of *Vicia faba* L.. *Molecular Breeding,* 33, 743-748.

Sanchez, F., Manzanares, M., de Andres, E.F., Tenorio, J.L., Ayerbe, L., 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Research,* 59, 225-235.

Satovic, Z., Avila, C.M., Cruz-Izquierdo, S., Diaz-Ruiz, R., Garcia-Ruiz, G.M., Palomino, C., Gutierrez, N., Vitale, S., Ocana-Moral, S., Gutierrez, M.V., Cubero, J.I., Torres, A.M., 2013. A

reference concensus genetic map for molcular markers and economically important traits in faba bean (*Vicia faba* L.). *BMC Genomics,* 14(932), 1-15.

Sayed, M.A., Schumann, H., Pillen, K., Naz, A.A., Léon, J., 2012. AB-QTL analysis reveals new alleles associated to proline accumulation and leaf wilting under drought stress conditions in barley (*Hordeum vulgare* L.). *BMC Genetics,* 13(61). 1-12

Torres, A. M., Roman, B., Avila, C.M., Satovic, Z., Rubiales, D., Sillero, J.C., Cubero, J.I., Moreno, M.T., 2006. Faba bean breeding for resistance against biotic stresses: Towards application of marker technology. *Euphytica,* 147, 67-80.

Utz, H., 1974. Zum Problem der Informationswichtung bei der Auslese von Stämmen. *Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft e. V.*

Utz, H., 2005. Plabstat Version 3A.

Voorrips, R., 2002. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *The Journal of Heredity,* 93(1), 77-78.

Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M., 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research,* 21(23), 4407-4414.

Winterfeld, W., 2013. *persönliche Mitteilung.*

Yemm, E., Willies, A., 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical Journal,* 57, 508-514.

Zhu, C., Gore, M., Buckler, E. S., Yu, J., 2008. Status and prospects of association mapping in plants. *The Plant Genome,* 1, 5-20.

Anhang

Tabelle 21: Liste aller Genotypen mit Hintergrundinformationen.

Name und Pedigree		Zugehörigkeit
BPL4628	Winterackerbohne	Elter RIL-Population
Côte d'Or/1-1-3-1-2-1-1-2-2(2)	Winterackerbohne	Elter RIL-Population, V-Satz, F-Satz, P-Satz, Elter GWAP
Hiverna/1-1-2 EP3-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, V-Satz, F-Satz, Elter GWAP
Webo/1-1-1 EP 10-1_2	Winterackerbohne	P-Satz, V-Satz, F-Satz, Elter GWAP
Wibo/1	Winterackerbohne	Elter GWAP
L79/79/1	Winterackerbohne	Elter GWAP
L977/88/S1wn EP5	Winterackerbohne	Elter GWAP
L979/S1/1/1sn EP10	Winterackerbohne	Elter GWAP
Bourdon/1 EP5 EP1	Winterackerbohne	Elter GWAP
Arrisot/1 EP1	Winterackerbohne	Elter GWAP
Banner/1 EP1	Winterackerbohne	Elter GWAP
Bulldog/1-4 EP3 EP1	Winterackerbohne	Elter GWAP
(CxBPL.1)-1-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-2-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-3-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-4-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-5-4-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-6-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-7-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-8-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-9-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-10-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-11-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-12-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-13-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-14-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-15-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-16-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-17-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.1)-18-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz, V-Satz, F-Satz
(CxBPL.1)-19-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.2)-20-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.2)-21-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.2)-22-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.2)-23-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.2)-24-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.2)-25-3-...-3	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.2)-26-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.2)-27-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.2)-28-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.2)-29-4-...-1-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.2)-30-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-31-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-32-3-...-2	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-33-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-34-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-35-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-36-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-37-3-...-2	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-38-3-...-3	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-39-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-40-3-...-1-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-41-3-1-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-42-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-43-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-44-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-45-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-46-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.3)-47-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.4)-48-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.4)-49-4-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.4)-50-4-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.4)-51-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.4)-52-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz

Name und Pedigree		Zugehörigkeit
(CxBPL.4)-53-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.4)-54-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.4)-55-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.4)-56-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.4)-57-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.4)-58-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.4)-59-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.4)-60-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.4)-61-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.4)-62-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-63-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-64-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-65-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-66-4-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-67-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-68-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-69-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-70-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-71-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-72-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-73-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-74-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-75-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-76-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-77-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-78-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-79-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-80-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-81-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-82-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-83-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-84-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.5)-85-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.6)-86-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.6)-87-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.6)-88-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.6)-89-4-...-2-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.6)-90-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.6)-91-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.6)-92-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.6)-93-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.6)-94-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.6)-95-4-...-1	Winterackerbohne	K-Satz, V-Satz, F-Satz
(CxBPL.6)-96-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.6)-97-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.6)-98-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.6)-99-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.6)-100-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
(CxBPL.6)-101-3-...-1	Winterackerbohne	K-Satz
S_002-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_003-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_4-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_005-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_008-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_009-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_010-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_012-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_013-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_015-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_016-1-1-3	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_019-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_020-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_021-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_022-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_025-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_027-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_028-1-3-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_029-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_030-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_033-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, (V-Satz, F-Satz; teilw. Substitut für S_213)

Name und Pedigree		Zugehörigkeit
S_034-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_035-1-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_036-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_038-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_039-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_040-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_043-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_045-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_046-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_048-3	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_050-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_052-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_054-1-3-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_055-1-3-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_059-1-2-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_060-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_062-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_064-1-3-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_065-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_066-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_067-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_069-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_070-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_072-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_076-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_077-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_079-1-2-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_081-1-3-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_082-2-2-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_083-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_084-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_085-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_093-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_097-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_100-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_102-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_104-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_106-1-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_108-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_111-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_115-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_116-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_119-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_120-1-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_122-1-1-4-2-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_123-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_125-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_126-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_129-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_131-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_132-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_133-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_134-1-2-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_142-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_145-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_147-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_150-1-2-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_151-1-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_153-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_158-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_160-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_161-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_162-1-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_163-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_165-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_166-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_167-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_168-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_169-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_170-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz

Name und Pedigree		Zugehörigkeit
S_172-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_173-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_174-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_175-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_176-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_177-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_181-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_182-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_185-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_186-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_189-1-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_190-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_191-1-3-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_192-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_194-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_195-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_196-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_197-1-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_198-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_199-1-3-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_201-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_202-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_209-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_210-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_213-1-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_217-1-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_218-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_220-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_221-1-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_226-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_227-1-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_231-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_232-1-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_233-1-2-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_235-1-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_236-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_238-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_240-1-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_241-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_242-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_243-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_245-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_246-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_249-1-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_252-1-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_253-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_254-2-2-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_258-1-3	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_259-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_264-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_265-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_267-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_268-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_269-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_271-1-2-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_272-1-3-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_274-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_275-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_277-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_279-2-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_280-1-3-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_281-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_282-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_284-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_285-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_286-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_287-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_289-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_290-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_291-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz

Name und Pedigree		Zugehörigkeit
S_295-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_298-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_299-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_300-1-3-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_301-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_302-1-2-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_303-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_304-1-3-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_307-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_308-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_309-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_310-1-2-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_312-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_314-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_315-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_319-1-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_322-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_326-1-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
S_328-1-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_329-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_330-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
S_331-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz
29H(Ascochyta-resistent)-1-3	Winterackerbohne	P-Satz, V-Satz, F-Satz
Hiverna/2-5 EP1-1-8-1-3-3	Winterackerbohne	P-Satz, F-Satz
WAB_EP98_21-2-1 EP4-1-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
WAB_EP98_98-3-1 EP4-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
WAB98_98-4-1-2	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
WAB_EP98_267-11-1 EP1-1-3	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
WAB-EP02-Fam/S1_157-1-2-4-3-1-1-2-1	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
WAB-EP02-Fam/S1_159-1-2-4-1-1-3-1-3	Winterackerbohne	P-Satz, A-Satz, V-Satz, F-Satz
Limbo-7	Sommerackerbohne	P-Satz, F-Satz
Mélodie-7	Sommerackerbohne	P-Satz, F-Satz
Hedin/2-	Sommerackerbohne	P-Satz, F-Satz
Minica-	Sommerackerbohne	P-Satz, F-Satz

Protokoll der Multiplex-PCR

Restriktion:

Während der Restriktion wird die genomische DNS von zwei Restriktionsenzymen EcoRI und MseI geschnitten. Zunächst wird eine DNS-Konzentration von 50 µg/ml eingestellt. Pro DNS-Probe wurden 0,08 µl EcoRI und MseI à 50 Units/µl, 22 µl H_2O und 3 µl Restriktions-Ligations-Puffer bestehend aus 1 ml 1 M TrisAc, 1 ml 1 M MgAc, 5 ml 1 M KAc, 500 ml 1 M DTT und 2,5 ml H_2O. Die Restriktion der DNS findet bei 37 °C über 1,5h im Thermocycler statt. Anschließend werden die Proben bei 4°C gelagert.

Ligation:

Während der Ligation werden designte Adapter an die Restriktionsstellen der Enzyme angehängt. Hierzu werden zu jeder Probe 1 µl des Restriktions-Ligations-Puffer (s.o.), des EcoRI-Adapters à 5 pmol (EA), 2 µl des MseI-Adapters à 25 pmol (MA), 0,2 µl T4-Ligase à 5 Units/µl, 0,1 µl ATP 100mM sowie 5,7 µl H_2O zu als Mischung hinzugegeben. Die Sequenz der Adapter ist in Tabelle 25 dargestellt.

Für die Ligation werden folgende Temperaturdauern im Thermocycler verwendet:

Tabelle 22: PCR-Programm für Ligation.

Temperatur	Dauer
37 °C	3 Std. 10 Min.
33,5 °C	3 Min.
30 °C	3 Min.
26 °C	4°Min.
22 °C	15 Min.

Präamplifikation:

In der Präamplifikation werden gezielt DNS-Fragmente mittels designter Primer (vgl. Tabelle 25) amplifiziert. Hierzu werden die Proben nach der Ligation zunächst im Verhältnis 1:5 mit H_2O verdünnt. Anschließend werden pro Probe 0,68 µl H_2O, 2 µl PCR Puffer (Solis Biodyne), 2,5 µl $MgCl_2$, 1 µl EcoRI+1-Primer à 10 pmol/µl (E01), 0,87 µl MseI+1 à 10 pmol/µl (M02), 4,5 µl 2 mM dNTP sowie 0,45 µl Taq-Polymerase (FIREpol, Solis Biodyne) à 5 Units/µl.

Tabelle 23: PCR-Programm der Präamplifikation.

Schritt	Temperatur	Zeit	Wiederholungen
Start	94 °C	30 Sek.	
Denaturierung	94 °C	30 Sek.	
Annealing	56 °C	30 Sek.	19 Zyklen
Elongation	72 °C	2 Min.	
Ende	72 °C	5 Min.	

Anschließend wurden die Proben bei 4 °C gelagert.

Hauptamplifikation:

In der Hauptamplifikation wird die Anzahl zu amplifizierender Fragmente weiter reduziert, indem designte Primer mit 3 selektiven Basen an die Adapter angehängt werden (vgl. Tabelle 25) Die EcoRI-Primer sind fluoreszenzmarkiert. Hierzu wird das Produkt der Präamplifikation zunächst im Verhältnis 1:5 verdünnt. Anschließend werden zu jeder Probe 3,6 µl H_2O, 2 µl PCR Puffer (Solis Biodyne), 2,5 µl $MgCl_2$, je 0,4 µl der 6FAM™-, VIC®-, PET™-markierten Primer à 10 pmol/µl, 0,6 µl des NED™-markierten Primers à 10 pmol/µl (alle Applied Biosystems, vgl. Tabelle 25), 0,8 µl des MseI-Primers (Eurofins MWG), 3,6 µl dNTP 2mM sowie 0,2 µl Taq-Polymerase à 5 Units/µl (FIREpol, Solis Biodyne). Die PCR-Schritte der Hauptamplifikation sind in Tabelle 24 dargestellt.

Tabelle 24: PCR-Programm der Hauptamplifikation.

Schritt	Temperatur	Zeit	Wiederholungen
Denaturierung	94 °C	1 Min.	
	65 °C	30 Sek.	
	72 °C	2 Min.	
	94 °C	30 Sek.	
	64,2 °C	30 Sek.	11 Zyklen
	72 °C	2 Min.	
Denaturierung	94 °C	30 Sek.	
Annealing	56 °C	30 Sek.	24 Zyklen
Elongation	72 °C	2 Min.	
Ende	72 °C	5 Min.	

Tabelle 25: Verwendete Primer mit Hersteller, Kurzname und Sequenz.

Primer	Hersteller	Name	Sequenz
Adapter	*Eurofins MWG*		
EcoRI		EA1	5‘-CTC GTA GAC TGC GTA CC-3‘
		EA2	5‘-AAT TGG TAC GCA GTC-3‘
MseI		MA1	5‘-GAC GAT GAG TCC TGA G-3‘
		MA2	5’-TAC TCA GGA CTC AT-3‘
Selektive Primer	*Eurofins MWG*		
EcoRI-01		E01	5‘-CTG CGT ACC AAT TCA-3‘
MSeI-02		M02	5‘-GAT GAG TCC TGA GTA AC-3‘
MseI+3 –Primer	*Eurofins MWG*		
MseI+CAA		M47	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACA A-3’
MseI+CAC		M48	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACA C-3’
MseI+CCA		M51	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACC A-3’
MseI+CCG		M53	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACC G-3’
MseI+CCT		M54	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACC T-3’
MseI+CGA		M55	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACG A-3’
MseI+CGC		M56	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACG C-3’
MseI+CGT		M58	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACG T-3’
MseI+CTA		M59	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACT A-3’
MseI+CTC		M60	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACT C-3’
MseI+CTG		M61	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACT G-3’
MseI+CTT		M62	5’-GAT GAG TCC TGA GTA ACT T-3’
EcoRI+3-Primer	*Applied Biosystems*		
EcoRI+ACA markiert mit 6FAM™		E35	5’-CTG CGT ACC AAT TCA CA-3’
EcoRI+AGC markiert mit VIC®		E40	5’-CTG CGT ACC AAT TCA GC-3’
EcoRI+AGG markiert mit NED™		E41	5’-CTG CGT ACC AAT TCA GG-3’
EcoRI+AAC markiert mit PET™		E32	5’-CTG CGT ACC AAT TCA AC-3’
EcoRI+AGT markiert mit 6FAM™		E42	5’-CTG CGT ACC AAT TCA GT-3’
EcoRI+AGA markiert mit VIC®		E39	5’-CTG CGT ACC AAT TCA GA-3’
EcoRI+ACC markiert mit NED™		E36	5’-CTG CGT ACC AAT TCA CC-3’
EcoRI+ATC markiert mit PET™		E44	5’-CTG CGT ACC AAT TCA TC-3’

Tabelle 26: Korrelationen zwischen Ertragsmerkmalen der Rain-Out-Shelter untereinander und mit dem Merkmal $\Delta^{13}C$.

		Ertrag Stress				Ertrag Kontrolle			Mittelwerte Ertrag[a]		Ertragsreduktion			Gewichtete Mittelwerte[b]				$\Delta^{13}C$					
		Göttingen 11	Göttingen 12/13	Lüsewitz 12	Lüsewitz 12/13	Göttingen 12/13	Lüsewitz 12	Lüsewitz 12/13	Stress	Kontrolle	Göttingen 12/13	Lüsewitz 12	Lüsewitz12/13	Mittelwert	Stress	Kontrolle	Reduktion	Stress 12	Kontrolle 12	Stress 12/13	Kontrolle 12/13	Stress zweijährig[c]	Kontrolle zweij.[c]
Ertrag Stress	Göttingen 12/13	0,48**																					
	Lüsewitz 12	0,53**	0,46**																				
	Lüsew. 12/13	0,21	0,24	0,27																			
Ertrag Kontrolle	Göttingen 12/13	0,43**	0,76**	0,44**	0,28																		
	Lüsewitz 12	0,19	-0,01	0,41**	0,39**	0,11																	
	Lüsew. 12/13	0,46**	0,30*	0,66**	0,26	0,34*	0,40**																
Mittel. Ertr.[a]	Stress	0,64**	0,80**	0,70**	0,54**	0,68**	0,28	0,52**															
	Kontrolle	0,46**	0,39**	0,65**	0,36*	0,52**	0,67**	0,84**	0,62**														
Ertragsreduktion	Göttingen 12/13	0,02	0,07	0,13	0,18	0,66**	0,17	0,22	0,15	0,41**													
	Lüsew 12	0,07	-0,14	0,15	0,36*	-0,01	0,94**	0,23	0,10	0,52**	0,12												
	Lüsew. 12/13	0,46**	0,26	0,58**	0,00	0,32*	0,30*	0,95**	0,38*	0,78**	0,22	0,15											
	Mittelwert	0,26	0,07	0,43**	0,23	0,31*	0,73**	0,75**	0,31*	0,90**	0,46**	0,66**	0,73**										
Gewichtete Mittelwer-	Stress	0,72**	0,68**	0,86**	0,57**	0,61**	0,37*	0,62**	0,90**	0,66**	0,15	0,15	0,48**	0,37*									
	Kontrolle	0,43**	0,38**	0,61**	0,45**	0,55**	0,84**	0,65**	0,59**	0,90**	0,44**	0,70***	0,57**	0,83**	0,65**								
	Reduktion	0,21	0,01	0,35*	0,30*	0,30*	0,86**	0,61**	0,25	0,82**	0,48**	0,82**	0,57**	0,93**	0,32*	0,88**							
$\Delta^{13}C$	Stress 12	0,02	0,21	0,22	-0,18	0,31*	-0,04	0,16	0,13	0,08	0,25	-0,13	0,21	0,03	0,12	0,12	0,05						
	Kontrolle12	-0,09	0,16	-0,09	-0,20	0,27	-0,25	-0,14	0,02	-0,15	0,29	-0,32	-0,08	-0,15	-0,06	-0,08	-0,12	0,47**					
	Stress 12/13	0,11	0,50**	0,21	0,25	0,33*	-0,04	0,19	0,43**	0,22	0,07	-0,09	0,13	0,07	0,35*	0,17	-0,02	0,36*	0,08				
	Kontrolle 12/13	0,16	0,45**	0,16	0,29	0,44**	-0,11	0,19	0,49**	0,20	0,25	-0,17	0,11	0,04	0,36*	0,17	0,01	0,30*	0,36*	0,53**			
	Stress zweijährig[c]	0,08	0,42**	0,27	0,05	0,36*	-0,04	0,17	0,35*	0,16	0,15	-0,11	0,16	0,05	0,29	0,16	0,00	0,77**	0,29	0,85**	0,50**		
	Kontrolle zweij.[c]	0,05	0,34*	0,03	0,03	0,41**	-0,22	0,03	0,27	0,01	0,31*	-0,30*	0,03	-0,07	0,16	0,03	-0,07	0,46**	0,85**	0,32*	0,78**	0,43**	
	Diff. zweijährig[c]	0,08	0,06	0,23	0,04	-0,07	0,20	0,19	0,08	0,20	-0,15	0,20	0,17	0,17	0,16	0,15	0,13	0,19	-0,61**	0,40**	-0,32*	0,42**	-0,58**

[a]arithmetisches Mittel der Erträge, [b]nach Utz (1974) anhand des Versuchsfehlers gewichtet, [c]arithmetisches Mittel beider Jahre

Tabelle 27: Korrelationen der physiologischen Merkmale im A-Satz. Außerdem sind die Korrelation der $\Delta^{13}C$-Merkmale zu den Physiologiemerkmalen im F-Satz mit wiedergegeben. Die entsprechenden Zeilen und Spalten sind grau hinterlegt.

Merkmal	K_SPAD	K_MSI	K_BWG	K_GLZ	K_Prolin	K_GB	S_SPAD	S_MSI	S_BWG	S_GLZ	S_Proli	S_GB	SPADabs	MSIabs	BWGabs	GLZabs	Proabs	GBabs	SPD%	BWG%	GLZ%	$\Delta^{13}C$ Str[a]	$\Delta^{13}C$ Kon[b]
K_MSI	0,07																						
K_BWG	-0,18*	-0,09																					
K_GLZ	0,17*	0,13	-0,63**																				
K_Prolin	0,15*	0,03	-0,32**	0,19**																			
K_GB	-0,03	-0,06	-0,28**	0,03	0,01																		
S_SPAD	0,82**	0,05	-0,17*	0,15*	0,13	0,10																	
S_MSI	0,13	-0,01	-0,01	0,14*	0,05	0,00	0,13																
S_BWG	-0,09	-0,03	0,11	0,07	-0,12	-0,29**	-0,06	0,18**															
S_GLZ	0,09	0,13	-0,61**	0,90**	0,16*	0,10	0,06	0,17*	0,01														
S_Proli	0,14	0,09	-0,01	-0,08	0,21**	-0,08	0,04	0,04	-0,07	-0,13													
S_GB	0,20**	-0,05	-0,35**	0,08	0,29**	0,47**	0,11	0,02	-0,60**	0,13	0,37**												
SPADabs	0,32**	0,01	-0,05	0,04	0,05	-0,20**	-0,22*	-0,02	-0,05	0,04	0,18*	0,13											
MSIabs	-0,13	0,15*	-0,01	-0,12	-0,03	-0,01	-0,14	-0,99**	-0,17*	-0,15*	-0,02	-0,03	0,02										
BWGabs	0,07	0,04	-0,03	-0,13	0,09	0,26**	0,04	-0,19**	-1,00**	-0,06	0,07	0,57**	0,04	0,18*									
GLZabs	-0,11	0,06	-0,24**	0,27**	0,00	0,15*	-0,11	0,15*	-0,09	0,64**	-0,17*	0,10	-0,02	-0,14*	0,07								
Proabs	0,14	0,09	0,00	-0,09	0,19**	-0,08	0,04	0,04	-0,06	-0,14	1,00**	0,37**	0,18*	-0,02	0,06	-0,17*							
GBabs	0,19**	-0,03	-0,22**	0,04	0,30**	-0,05	0,02	0,01	-0,51**	0,06	0,46**	0,83**	0,27**	-0,01	0,50**	0,02	0,45**						
SPD%	-0,11	0,00	0,01	0,00	-0,02	0,20**	0,42**	0,07	0,02	-0,02	-0,15*	-0,09	-0,97**	-0,07	-0,02	0,00	-0,15*	-0,22**					
BWG%	-0,08	-0,04	0,08	0,10	-0,10	-0,28**	-0,05	0,18**	1,00**	0,03	-0,07	-0,59**	-0,05	-0,17*	-1,00**	-0,09	-0,06	-0,50**	0,02				
GLZ%	-0,19**	-0,08	0,51**	-0,86**	-0,17*	0,04	-0,18*	-0,08	-0,12	-0,60**	0,02	-0,05	-0,04	0,07	0,17*	0,14	0,02	-0,03	-0,01	-0,14*			
GB%	0,16*	-0,02	-0,09	0,08	0,19**	-0,42**	-0,03	0,02	-0,30**	0,06	0,36**	0,51**	0,28**	-0,02	0,29**	-0,04	0,36**	0,86**	-0,2**5	-0,29**	-0,11		
$\Delta^{13}C$ Str[a]	0,12	0,18	-0,38*	0,25	0,12	0,33*	0,24	-0,10	0,07	0,34*	-0,13	0,17	-0,24	0,11	-0,11	0,23	-0,13	-0,12	0,24	0,09	-0,17		
$\Delta^{13}C$ Kon[b]	-0,07	0,25	-0,03	0,04	-0,09	-0,05	0,00	-0,14	0,10	0,07	-0,15	-0,29	-0,10	0,17	-0,12	-0,02	-0,14	-0,29	0,06	0,11	-0,05	0,43**	
$\Delta^{13}C$ Diff[c]	-0,16	0,18	0,28	-0,19	-0,15	-0,31*	-0,18	-0,06	0,04	-0,18	-0,12	-0,49**	0,08	0,09	-0,03	-0,10	-0,12	-0,29	-0,12	0,04	0,14	-0,42**	0,58**

[a]zweijähriges Mittel der $\Delta^{13}C$-Werte in der Stressvariante der Groß Lüsewitzer Rain-Out-Shelter-Versuche, [b]zweijähriges Mittel der $\Delta^{13}C$-Werte in der Kontrollvariante der Groß Lüsewitzer Rain-Out-Shelter-Versuche, [c]Differenz aus $\Delta^{13}C$ Stress[a] und $\Delta^{13}C$[b] Kontrolle

Tabelle 28: Regressionskoeffizienten der multiplen Regressionsanalyse zur Vorhersage eines errechneten Blattwassegehalts.

Variable	Merkmal[a]	Regressionskoeffizient
Y	S_BWG	-443,2222290
X1	K_GLZ²	-0,0000696
X2	GLZabs	-0,1503615
X3	SPD%²	-0,0671768
X4	GBabs	-5,0453467
X5	SPADabs	-8,3902474
X6	S_Spad²	-0,0330126
X7	GB%²	-0,0019222
X8	GBabs²	-0,2368196
X9	K_GLZ	-0,0292979
X10	S_GLZ	0,0349840
X11	GLZabs²	0,0000741
X12	S_Spad	2,3191160
X13	S_GLZ²	0,0000321
X14	GB%	0,9251220
X15	SPD%	10,7591289
X16	SPADabs²	0,6753050

[a]Merkmalsbezeichnungen siehe Tabelle 2.

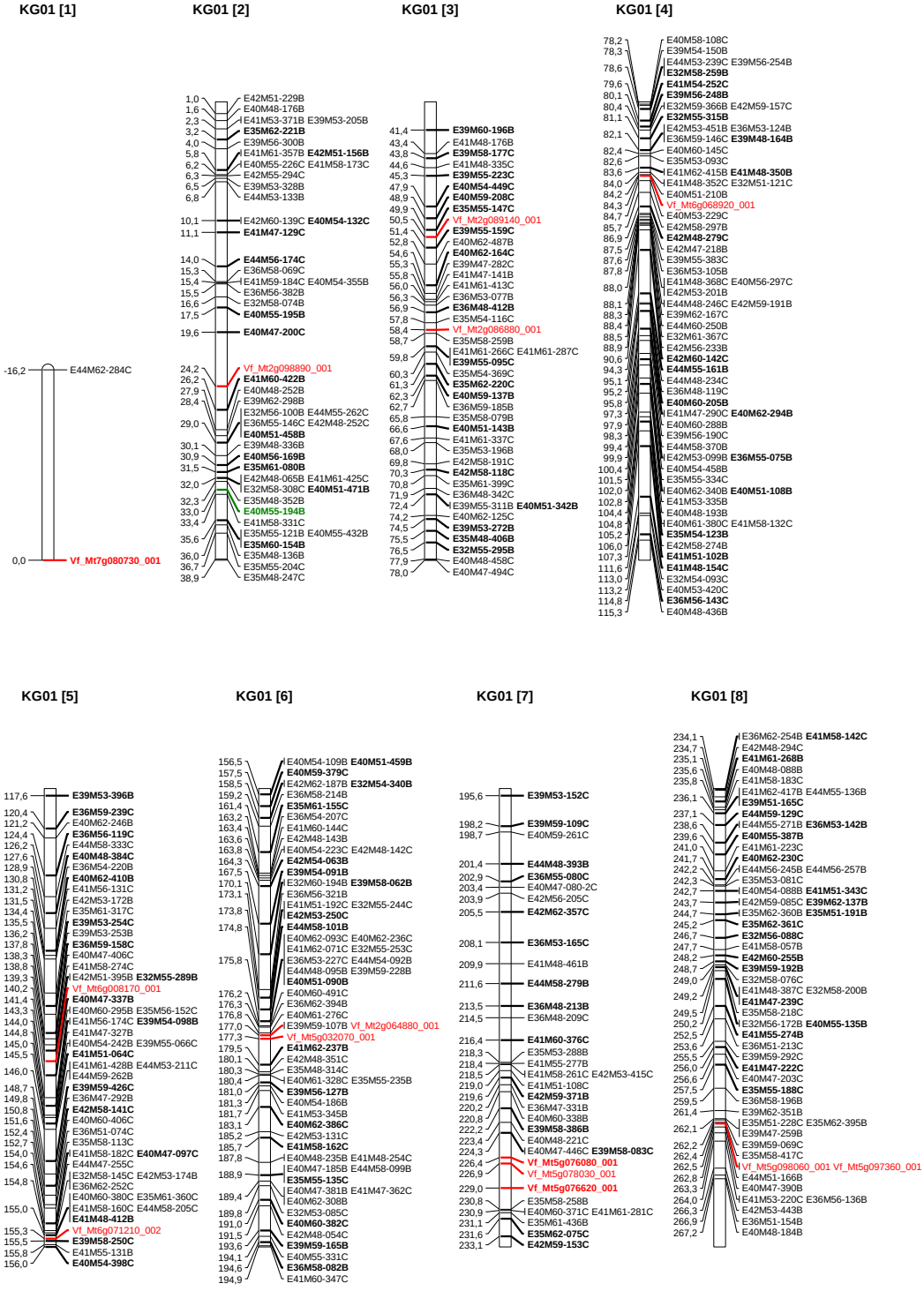
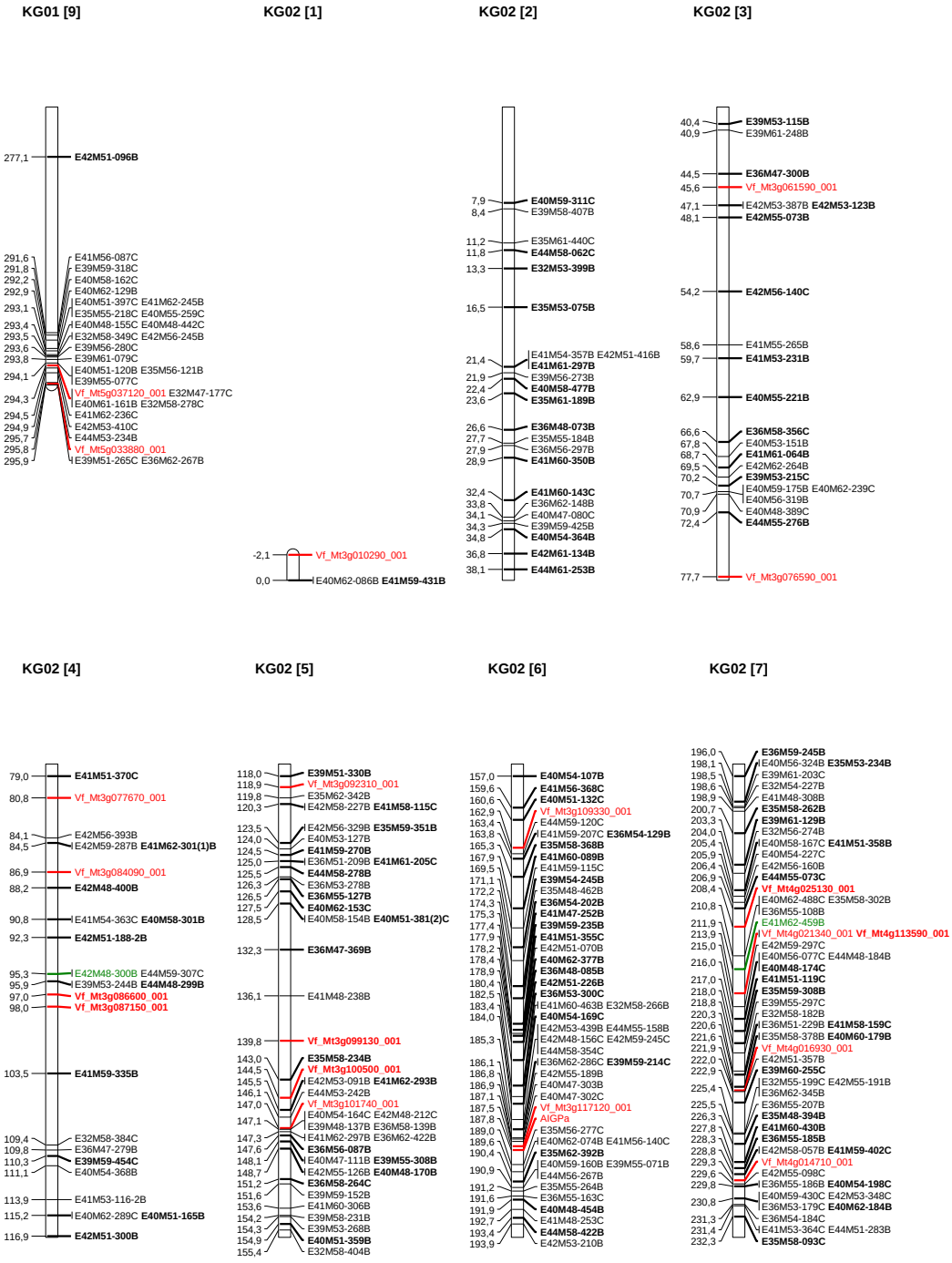


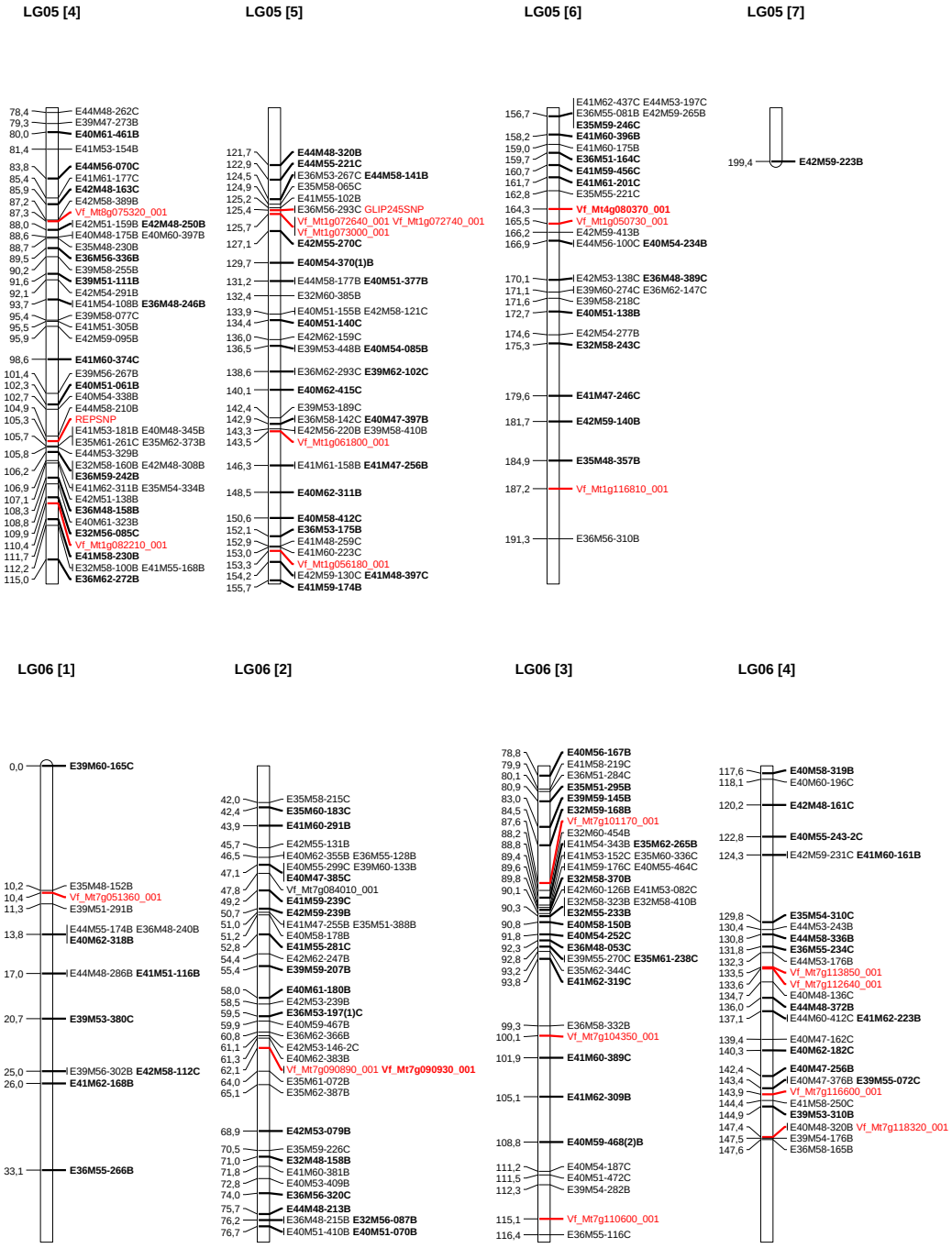
Abbildung 32: Graphische Darstellung der Kopplungsgruppen der erstellten GW-Karte. Marker, die auf der High-Fidelity-Map kartiert sind in Fettdruck hervorgehoben. SNPs sind rot dargestellt, AFLP schwarz, QTL grün. Darstellung mit MapChart 2.2 (Voorrips, 2002) realisiert.



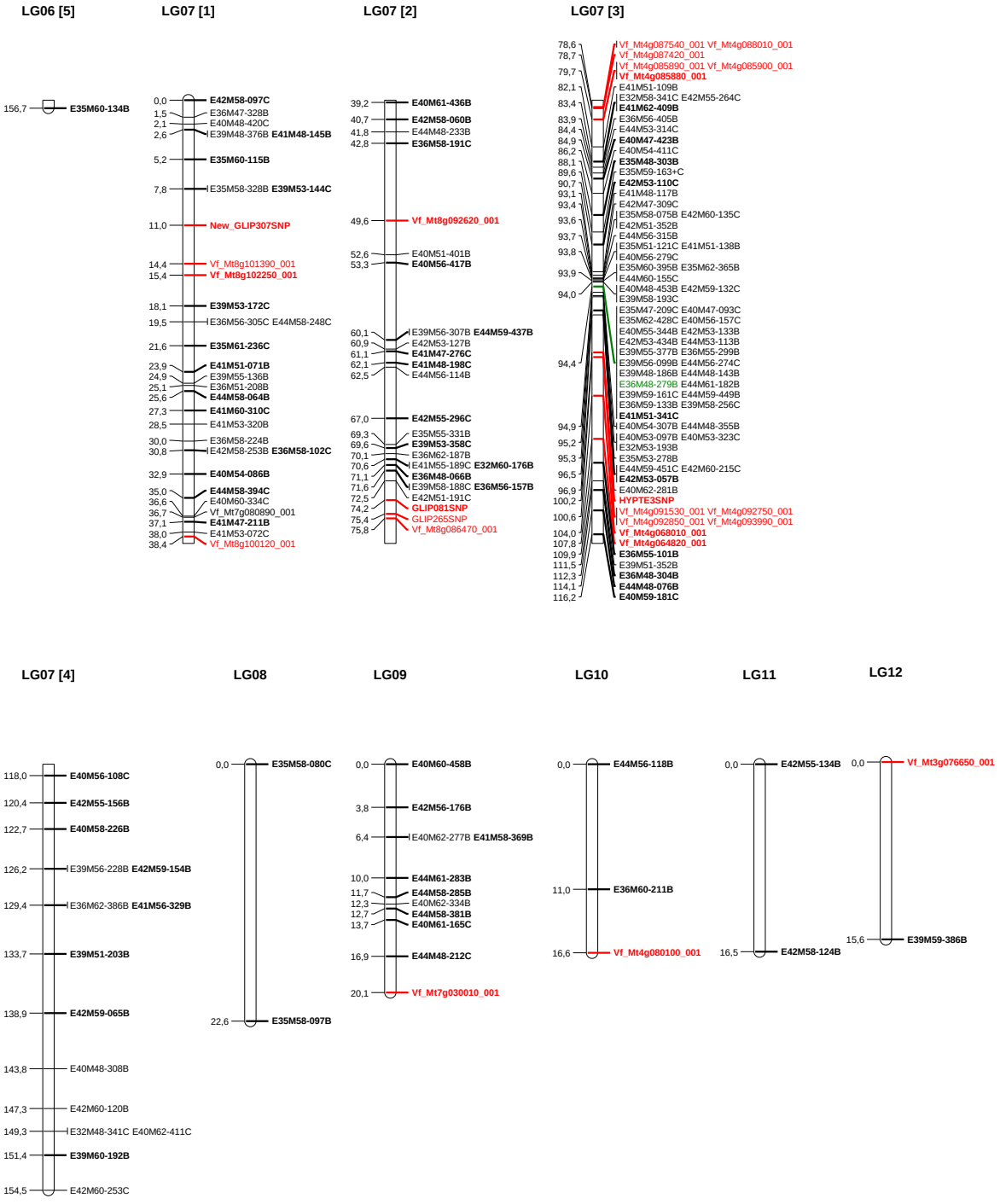
Fortsetzung Abbildung 32: Graphische Darstellung der Kopplungsgruppen der erstellten GW-Karte. Marker, die auf der High-Fidelity-Map kartiert sind in Fettdruck hervorgehoben. SNPs sind rot dargestellt, AFLP schwarz, QTL grün. Darstellung mit MapChart 2.2 (Voorrips, 2002) realisiert.

Fortsetzung Abbildung 32: Graphische Darstellung der Kopplungsgruppen der erstellten GW-Karte. Marker, die auf der High-Fidelity-Map kartiert sind in Fettdruck hervorgehoben. SNPs sind rot dargestellt, AFLP schwarz, QTL grün. Darstellung mit MapChart 2.2 (Voorrips, 2002) realisiert.

Fortsetzung Abbildung 32: Graphische Darstellung der Kopplungsgruppen der erstellten GW-Karte. Marker, die auf der High-Fidelity-Map kartiert sind in Fettdruck hervorgehoben. SNPs sind rot dargestellt, AFLP schwarz, QTL grün. Darstellung mit MapChart 2.2 (Voorrips, 2002) realisiert.



Fortsetzung Abbildung 32: Graphische Darstellung der Kopplungsgruppen der erstellten GW-Karte. Marker, die auf der High-Fidelity-Map kartiert sind in Fettdruck hervorgehoben. SNPs sind rot dargestellt, AFLP schwarz, QTL grün. Darstellung mit MapChart 2.2 (Voorrips, 2002) realisiert.



Fortsetzung Abbildung 32: Graphische Darstellung der Kopplungsgruppen der erstellten GW-Karte. Marker, die auf der High-Fidelity-Map kartiert sind in Fettdruck hervorgehoben. SNPs sind rot dargestellt, AFLP schwarz, QTL grün. Darstellung mit MapChart 2.2 (Voorrips, 2002) realisiert.

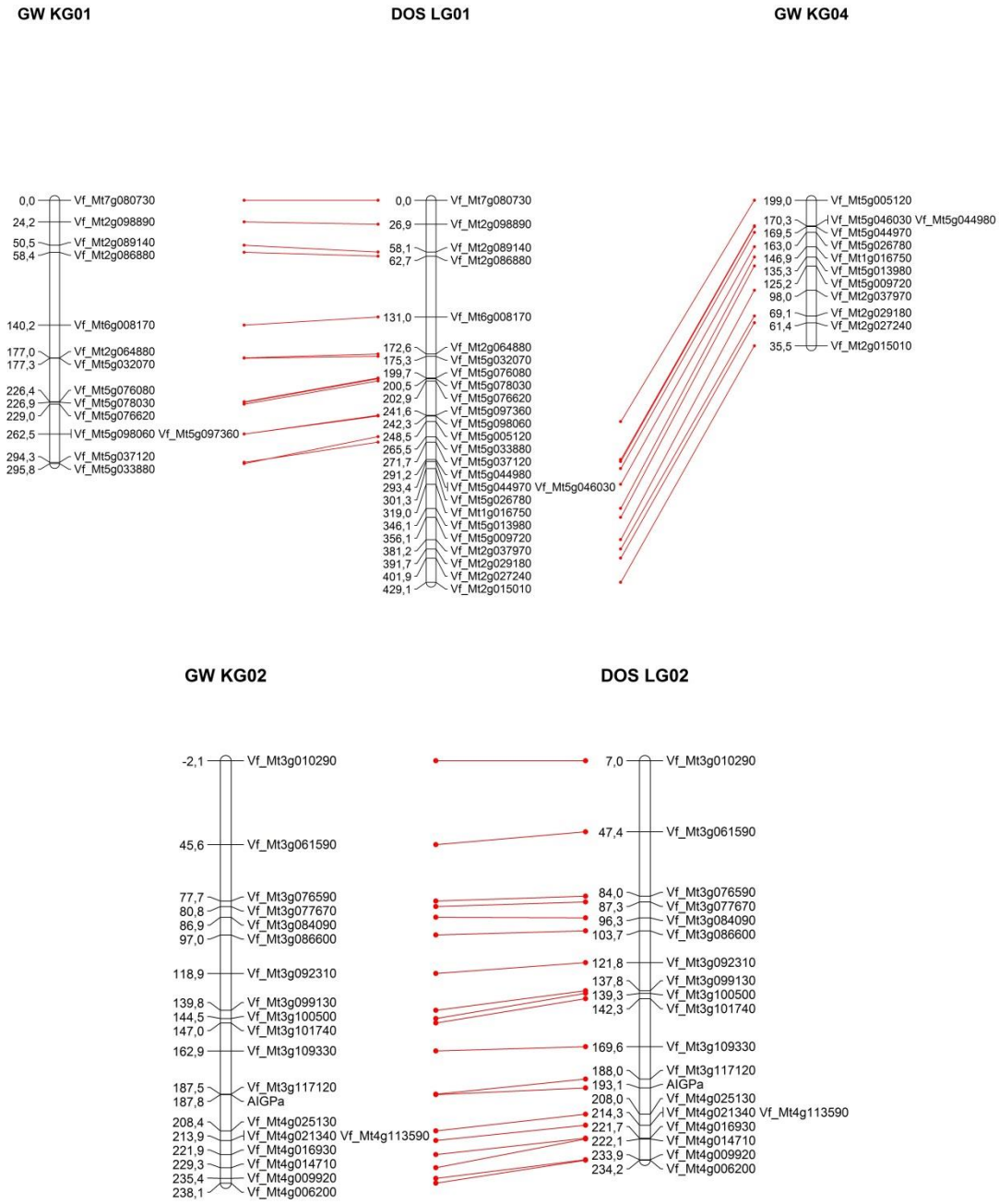
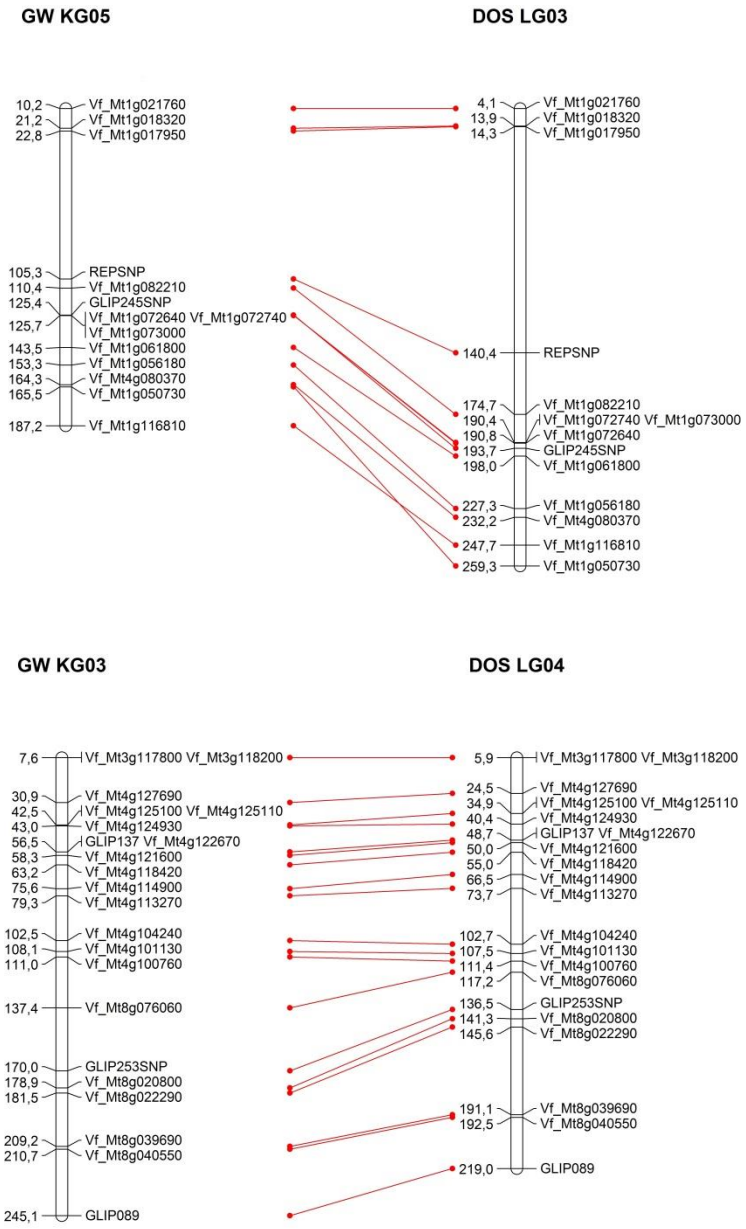
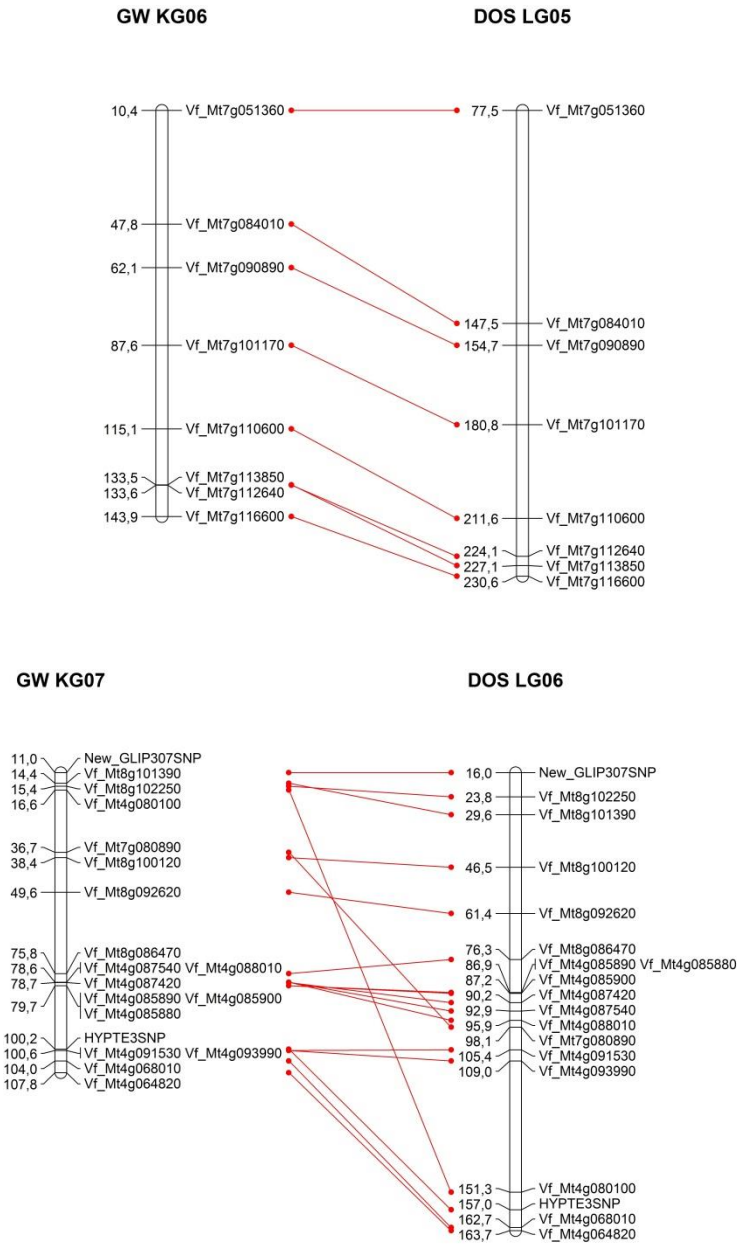


Abbildung 33: Vergleich der Kopplungsgruppen der GW-Karte dieser Arbeit mit der unveröffentlichten DOS-Karte auf Basis der gemeinsam verwendeten 111 SNP-Marker (O'Sullivan, persönl. Mitteilung, 2012). Darstellung mit MapChart 2.2 (Voorrips, 2002) realisiert.



Fortsetzung Abbildung 33: Vergleich der Kopplungsgruppen der GW-Karte dieser Arbeit mit der unveröffentlichten DOS-Karte auf Basis der gemeinsam verwendeten 111 SNP-Marker (O'Sullivan, persönl. Mitteilung, 2012). Darstellung mit MapChart 2.2 (Voorrips, 2002) realisiert.



Fortsetzung Abbildung 33: Vergleich der Kopplungsgruppen der GW-Karte dieser Arbeit mit der unveröffentlichten DOS-Karte auf Basis der gemeinsam verwendeten 111 SNP-Marker (O'Sullivan, persönl. Mitteilung, 2012). Darstellung mit MapChart 2.2 (Voorrips, 2002) realisiert.

Tabelle 29: Wiederholbarkeit von Merkmalen in Kontrollbehandlung und Stressbehandlungen in den Sikkationsversuchen Hohenlieth 2011/2012 und Roßleben 2012/2013.

Merkmal	Sikkationsversuch Hohenlieth 2011/2012			
	Kontrolle	**0,5 % KJ**	**1 % KJ**	**2 % KJ**
Blühbeginn[a]	97,9	97,9	95,6	94,8
Reife[b]	92,9	92,3	86,6	86,9
Lager[c]	65,7	89,6	77,8	75,0
Pflanzenlänge[d]	87,3	93,9	76,1	90,5
Verbräunung[e]	56,3	84,3	91,8	91,1
Ertrag[f]	46,1	62,4	69,6	60,3
TKG[g]	84,5	73,7	77,8	76,8
	Sikkationsversuch Roßleben 2012/2013			
Lager[c]	88,7	-	78,4	-
Ertrag[h]	92,0	-	90,7	-
TKG[g]	92,5	-	96,4	-

[a]Blühbeginn [Tage nach 01.01.2012], [b]Reife [Tage nach 01.01.2012], [c][Boniturnote 1-9], [d]Pflanzenlänge am 18.07.2012 [cm], [e]Verbräunung durch Kaliumjodid am 17.07.2012 [Boniturnote 1-9], [f]Ertrag von 12 Pflanzen im Parzellenkern [g], [g][g], [h]Parzellenertrag[dt/ha]

Tabelle 30: Wiederholbarkeit von Merkmalen in Kontrollbehandlung und Stressbehandlung in den Rain-Out-Shelter-Versuchen Göttingen 2012/2013, Groß Lüsewitz 2012 und Groß Lüsewitz 2012/2013.

Merkmal	Rain-Out-Shelter-Versuch Göttingen 2012/2013	
	Kontrolle	**Stress**
Blühbeginn[a]	98,6	98,6
Pflanzenlänge[b]	71,4	85,1
Blühe.[c]	81,9	84,2
Spad[d]	79,7	85,7
Welke[e]	24,2	85,5
Reife[f]	78,8	91,6
Ertrag[g]	81,7	84,8
TKG[h]	92,9	88,9
	Rain-Out-Shelter-Versuch Groß Lüsewitz 2012	
Pflanzenlänge [cm]	89,1	89,2
Hülsen/Pflanze[i]	87,3	85,5
Ertrag[g]	91,1	84,4
TKG[h]	94,7	96,3
	Rain-Out-Shelter-Versuch Groß Lüsewitz 2012/2013	
Pflanzenlänge [cm]	86,2	91,2
Körner/Pflanze[j]	68,9	81,6
Hülsen/Pflanze[i]	72,7	61,9
Ertrag[g]	76,6	74,2
TKG[h]	94,5	77,8

[a]Blühbeginn [Tage nach 01.01.2013], [b]Pflanzenlänge am 05.07.2013 [cm], [c]Blühende [Boniturnote 1-9], [d]Spad 27.06.2013 [dimensionslos], [e]Welkebonitur 08.07.2013 [Boniturnote 1-9], [f]Reife [Tage nach 01.01.2013], [g]durchschnittlicher Einzelpflanzenertrag [g], [h]TKG [g], [i]durchschnittliche Anzahl Hülsen pro Pflanze, [j]durchschnittliche Anzahl Körner pro Pflanze

Tabelle 31: Mittlerer Ertrag pro Einzelpflanze je Behandlung, mittlere Ertragsreduktion, mittleres Tausendkorngewicht je Behandlung und seine mittlere Reduktion für die Rain-Out-Shelter-Versuche in Göttingen 2012/2013, Groß Lüsewitz 2012 und 2012/2013 sowie im Mittel aller drei Versuche.

	Mittlerer Ertrag		**Ertragsreduktion**	**Mittleres TKG**		**TKG Reduk-**
	Kontrolle	**Stress**		**Kontrolle**	**Stress**	
Göttingen	19,58 g	15,28g	21,9 %	575,53 g	537,38 g	6,6 %
Groß Lüsewitz	23,23 g	11,62 g	50,0 %	620,88 g	525,02 g	15,4 %
Groß Lüsewitz	24,19 g	7,51 g	69,0 %	529,45 g	400,48 g	24,4 %
Mittel aller Orte	22,24 g	11,49 g	48,3 %	574,38 g	487,17 g	15,2 %

Tabelle 32: Mehrortige Ergebnisse des Einzelpflanzenertrages [g] des V-Satzes in den Rain-Out-Shelter-Versuchen in Göttingen 2012/2013, Groß Lüsewitz 2012 und 2012/2013 für Kontroll- und Stressbehandlung, die relative Reduktion bezogen auf die Kontrollbehandlung [%] und die Rangierung der Inzuchtlinien je für Stress- und Kontrollbehandlung. Inzuchtlinien, die innerhalb der ersten sechs Ränge in beiden Behandlungen liegen, sind in zwei Graustufen hinterlegt.

Inzuchtlinie	Stress	Kontrolle	Reduktion	Rangierung Stress	Rangierung Kontrolle
Hiverna/1	15,98	29,64	46,09	1	2
WAB_EP98_021	15,38	22,55	31,8	2	28
Seif_265	15,27	29,63	48,46	3	3
Minica	15,19	22,26	31,72	4	31
Seif_069	15,01	27,8	46,01	5	6
WAB-Fam159	14,91	29,78	49,93	6	1
Seif_253-1	13,95	23,87	41,52	7	19
WAB_EP98_98-4	13,78	27,98	50,75	8	4
Seif_221-1	13,76	27,85	50,59	9	5
WAB_EP98_267	13,05	27,02	51,67	10	8
WAB-Fam157	12,64	23,6	46,44	11	21
Seif_046-1	12,61	15,88	20,59	12	38
Seif_033-1	12,57	24,51	48,71	13	16
Melodie	12,5	24,89	49,78	14	13
Seif_227-1	12,32	22,92	46,29	15	27
Limbo	12,17	22,3	45,43	16	30
Webo/1	12	26,21	54,25	17	12
Seif_295-1	11,85	24,21	51,01	18	17
Seif_054-1	11,81	24,79	52,32	19	14
Hiverna/2	11,53	23,25	50,45	20	25
Seif_038-1	11,52	22,96	49,83	21	26
Seif_213	11,47	22,33	48,63	22	29
Seif_268-1	11,42	22,18	48,56	25	32
Seif_029-1	11,42	23,53	51,47	24	23
WAB_EP98_98-3	11,42	24,12	52,61	23	18
Seif_232-1	11,39	16,42	30,63	26	37
Seif_175-1	11,38	27,7	58,92	27	7
Seif_197-1	11	19,5	43,59	28	33
Seif_122-1	10,54	23,84	55,79	29	20
Seif_217-1	10,47	23,36	55,18	30	24
Seif_151-1	10,45	18,85	44,56	31	35
Seif_191-1	10,38	26,58	60,91	32	11
Seif_252-1	10,18	19,46	47,74	33	34
Coted'Or_1	10,1	26,9	62,45	34	9
Seif_025	9,71	23,54	58,75	35	22
Seif_028-1	9,66	17,47	44,71	36	36
Seif_081-2	9,48	26,89	64,75	37	10
29H	9,47	12,8	25,94	38	42
Seif_326-1	9,39	12,65	25,69	39	43
Seif_254-2	9,25	24,57	62,39	40	15
CxB-95	9,02	15,16	40,44	41	40
Hedin/2	8,3	8,65	4,046	42	45
Seif_062-2	7,61	15,4	50,65	43	39
Seif_050-1	7,16	14,32	50,07	44	41
CxB-18	6,48	10,82	40,11	45	44

Tabelle 33: Ergebnisse des Sikkationsvorversuchs am Standort Göttingen Reinshof 2011.

Spad am 20.06.2011					
Prüfglied	EC75	EC75 & EC81	EC 81	Kontrolle	Durchschnitt
Karl/5	49,2	49,1	49,6	49,95	49,46
(Côte D`OrxBPL4628)-18	31	33,55	49,45	43,79	39,45
Seif_122	41,8	36,15	37,2	42,15	39,33
Seif_029	49,4	48	44,45	45,6	46,86
Espresso	41,9	42,15	41,45	41	41,63
Tangenta	45,25	43,5	46,85	45,85	45,36
Durchschnitt	43,09	42,08	44,83	44,72	43,68
GD 5 % für Genotypen			6,08		
GD 5 % für Behandlungen			3,79		

Spad am 25.06.2011					
Prüfglied	EC75	EC75 & EC81	EC 81	Kontrolle	Durchschnitt
Karl/5	41,05	37,9	50,2	50,9	45,01
(Côte D`OrxBPL4628)-18	22,3	26,8	51,35	51,7	38,04
Seif_122	29,75	30,75	41,4	39,7	35,4
Seif_029	38,3	38,25	48,55	46,2	42,83
Espresso	48,55	47,95	48,9	48,8	48,55
Tangenta	50,7	48,35	53,05	50,95	50,76
Durchschnitt	38,44	38,33	48,91	48,04	43,43
GD 5 % für Genotypen			8,33		
GD 5 % für Behandlungen			5,17		

Spad am 29.06.2011					
Prüfglied	EC75	EC75 & EC81	EC 81	Kontrolle	Durchschnitt
Karl/5	29,45	29,6	50,15	49,3	39,63
(Côte D`OrxBPL4628)-18	13,65	14,8	47,65	47,55	30,91
Seif_122	19,85	20,6	42,65	41	31,02
Seif_029	26,75	25,9	46,1	43,85	35,65
Espresso	43,3	40,2	49,7	46,7	44,97
Tangenta	42,35	39,95	51,85	51,65	46,45
Durchschnitt	29,23	28,51	48,02	46,67	38,11
GD 5 % für Genotypen			8,28		
GD 5 % für Behandlungen			7,50		

Wuchshöhe [cm] am 15.06.2011					
Prüfglied	EC75	EC75 & EC81	EC 81	Kontrolle	Durchschnitt
Karl/5	107,5	102,5	107,5	105	105,63
(Côte D`OrxBPL4628)-18	82,5	77,5	90	85	83,75
Seif_122	112,5	110	115	112,5	112,5
Seif_029	112,5	100	115	117,5	111,25
Espresso	95	97,5	100	102,5	98,75
Tangenta	92,5	92,5	92,5	97,5	93,75
Durchschnitt	100,42	96,67	103,33	103,33	100,94
GD 5 % für Genotypen			4,96		
GD 5 % für Behandlungen			11,50		

Wuchshöhe [cm] am 20.06.2011					
Prüfglied	EC75	EC75 & EC81	EC 81	Kontrolle	Durchschnitt
Karl/5	107,5	102,5	107,5	102,5	105
(Côte D`OrxBPL4628)-18	85	82,5	90	85	85,63
Seif_122	112,5	110	115	112,5	112,5
Seif_029	112,5	105	117,5	112,5	111,88
Espresso	95	100	102,5	105	100,63
Tangenta	92,5	92,5	90	97,5	93,13
Durchschnitt	100,83	98,75	103,75	102,5	101,46
GD 5 % für Genotypen			4,72		
GD 5 % für Behandlungen			11,09		

Wuchshöhe [cm] am 25.06.2011

Prüfglied	EC75	EC75 & EC81	EC 81	Kontrolle	Durchschnitt
Karl/5	100	100	110	100	102,5
(Côte D`OrxBPL4628)-18	82,5	77,5	85	80	81,25
Seif_122	112,5	110	115	110	111,88
Seif_029	112,5	100	112,5	110	108,75
Espresso	95	92,5	102,5	105	98,75
Tangenta	105	100	97,5	95	99,38
Durchschnitt	101,25	96,67	103,75	100	100,42
GD 5 % für Genotypen			5,96		
GD 5 % für Behandlungen			21,16		

Wuchshöhe [cm] am 29.06.2011

Prüfglied	EC75	EC75 & EC81	EC 81	Kontrolle	Durchschnitt
Karl/5	100	97,5	107,5	100	101,25
(Côte D`OrxBPL4628)-18	80	80	85	80	81,25
Seif_122	110	107,5	112,5	112,5	110,63
Seif_029	110	105	112,5	115	110,63
Espresso	105	95	102,5	102,5	101,25
Tangenta	95	87,5	97,5	97,5	94,38
Durchschnitt	100	95,42	102,92	101,25	99,9
GD 5 % für Genotypen			3,57		
GD 5 % für Behandlungen			7,08		

Wuchshöhe [cm] am 06.07.2011

Prüfglied	EC75	EC75 & EC81	EC 81	Kontrolle	Durchschnitt
Karl/5	102,5	97,5	107,5	97,5	101,25
(Côte D`OrxBPL4628)-18	77,5	80	80	80	79,38
Seif_122	107,5	107,5	115	107,5	109,38
Seif_029	110	105	110	112,5	109,38
Espresso	95	95	102,5	100	98,13
Tangenta	87,5	87,5	95	90	90
Durchschnitt	96,67	95,42	101,67	97,92	97,92
GD 5 % für Genotypen			3,77		
GD 5 % für Behandlungen			7,66		

Wuchshöhe [cm] am 12.07.2011

Prüfglied	EC75	EC75 & EC81	EC 81	Kontrolle	Durchschnitt
Karl/5	102,5	97,5	105	97,5	100,63
(Côte D`OrxBPL4628)-18	77,5	80	80	80	79,38
Seif_122	107,5	107,5	115	107,5	109,38
Seif_029	110	105	112,5	112,5	110
Espresso	97,5	97,5	105	107,5	101,88
Tangenta	90	92,5	95	95	93,13
Durchschnitt	97,5	96,67	102,08	100	99,06
GD 5 % für Genotypen			4,16		
GD 5 % für Behandlungen			9,97		

Anzahl Samen von 12 im Parzellenkern geernteten Pflanzen (kaufmännisch gerundet)

Prüfglied	EC75	EC75 & EC81	EC 81	Kontrolle	Durchschnitt
Karl/5	422	293	636	456	452
(Côte D`OrxBPL4628)-18	291	288	448	502	382
Seif_122	307	331	623	529	447
Seif_029	261	233	674	545	428
Espresso	430	410	652	763	564
Tangenta	509	345	718	759	583
Durchschnitt	370	316	625	592	476
GD 5 % für Genotypen			105		
GD 5 % für Behandlungen			202		

Ertrag des Parzellenkerns (12 Pflanzen) [g]

Prüfglied	EC75	EC75 & EC81	EC 81	Kontrolle	Durchschnitt
Karl/5	130,13	84,1	304,4	209,48	182,02
(Côte D`OrxBPL4628)-18	124,08	115,22	238,23	250,52	182,01
Seif_122	98,48	104,63	277,48	246,3	181,72
Seif_029	72,57	59,65	299,95	276,48	177,16
Espresso	113,72	110,1	214,75	248,57	171,79
Tangenta	127,35	78,47	226,5	244,57	169,23
Durchschnitt	111,05	92,03	260,22	245,99	177,32
GD 5 % für Genotypen			45,93		
GD 5 % für Behandlungen			103,48		

Durchschnittlicher Ertrag pro Einzelpflanze des Parzellenkerns [g]

Prüfglied	EC75	EC75 & EC81	EC 81	Kontrolle	Durchschnitt
Karl/5	35,17	24,42	52,96	37,96	37,63
(Côte D`OrxBPL4628)-18	24,21	24	37,29	41,83	31,83
Seif_122	25,58	27,54	51,88	44,04	37,26
Seif_029	21,75	19,42	56,17	45,38	35,68
Espresso	35,83	34,13	54,33	63,54	46,96
Tangenta	42,42	28,71	59,83	63,21	48,54
Durchschnitt	30,83	26,37	52,08	49,33	39,65
GD 5 % für Genotypen			8,75		
GD 5 % für Behandlungen			16,81		

Tausendkornmasse im Parzellenkern [g]

Prüfglied	EC75	EC75 & EC81	EC 81	Kontrolle	Durchschnitt
Karl/5	306,4	287,02	479,64	459,48	383,14
(Côte D`OrxBPL4628)-18	426,26	400,14	532,24	498,57	464,3
Seif_122	320,61	315,36	443,96	466,53	386,61
Seif_029	277,48	253,73	444,52	505,69	370,36
Espresso	264,47	269,63	331,99	328,93	298,76
Tangenta	249,12	227,89	315,15	322,1	278,56
Durchschnitt	307,39	292,29	424,58	430,22	363,62
GD 5 % für Genotypen			53,75		
GD 5 % für Behandlungen			76,00		

Tabelle 34: Ergebnisse des Sikkationsvorversuchs am Standort Hohenlieth 2011.

Blühbeginn

Prüfglied	0,5 %KJ	1 %KJ	2 %KJ	Kontrolle	Durchschnitt
09.7640	9,0	8,5	8,5	9,0	8,8
Taifun	7,0	7,5	7,0	7,0	7,1
00.7001	8,0	8,0	7,5	8,0	7,9
Fuego	9,0	8,5	9,0	8,5	8,8
Espresso	7,5	8,0	8,5	8,0	8,0
Tangenta	7,0	8,0	8,0	7,5	7,6
Durchschnitt	7,9	8,1	8,1	8,0	8,0
GD 5 % für Genotypen			0,5		
GD 5 % für Behandlungen			1,1		

Reife in Tagen nach 01.01.2011

Prüfglied	0,5 %KJ	1 %KJ	2 %KJ	Kontrolle	Durchschnitt
09.7640	221,0	221,5	221,0	224,0	221,9
Taifun	233,0	229,0	225,5	233,5	230,3
00.7001	229,0	225,5	225,5	231,5	227,9
Fuego	226,0	228,5	225,5	231,5	227,9
Espresso	228,5	227,5	224,5	236,5	229,3
Tangenta	223,5	223,0	221,0	228,0	223,9
Durchschnitt	226,8	225,8	223,8	230,8	226,8
GD 5 % für Genotypen			2,6		
GD 5 % für Behandlungen			2,9		

Welkebonitur am 11.07.2011 (1 = keine Symtome; 9 = Pflanze tot)

Prüfglied	0,5 %KJ	1 %KJ	2 %KJ	Kontrolle	Durchschnitt
09.7640	4,5	4,0	6,0	1,5	4,0
Taifun	2,5	4,5	6,5	1,0	3,6
00.7001	2,5	3,5	4,5	1,0	2,9
Fuego	3,0	3,5	5,5	1,0	3,3
Espresso	3,5	3,0	5,5	1,0	3,3
Tangenta	3,0	4,5	6,5	1,0	3,8
Durchschnitt	3,2	3,8	5,8	1,1	3,5
GD 5 % für Genotypen			0,8		
GD 5 % für Behandlungen			1,5		

Welkebonitur am 15.07.2011 (1 = keine Symtome; 9 = Pflanze tot)

Prüfglied	0,5 %KJ	1 %KJ	2 %KJ	Kontrolle	Durchschnitt
09.7640	5,0	4,0	6,5	1,5	4,3
Taifun	3,5	5,5	7,0	1,0	4,3
00.7001	2,5	4,0	6,0	1,0	3,4
Fuego	3,5	3,5	6,5	1,0	3,6
Espresso	3,5	4,5	6,5	1,0	3,9
Tangenta	4,0	4,5	7,5	1,0	4,3
Durchschnitt	3,7	4,3	6,7	1,1	3,9
GD 5 % für Genotypen			0,8		
GD 5 % für Behandlungen			1,0		

Welkebonitur am 21.07.2011 (1 = keine Symtome; 9 = Pflanze tot)

Prüfglied	0,5 %KJ	1 %KJ	2 %KJ	Kontrolle	Durchschnitt
09.7640	5,5	5,0	7,0	2,5	5,0
Taifun	3,5	6,0	7,5	1,0	4,5
00.7001	3,5	5,0	7,0	1,5	4,3
Fuego	4,5	4,5	7,5	1,5	4,5
Espresso	4,0	4,5	7,5	1,0	4,3
Tangenta	5,0	5,5	8,0	1,5	5,0
Durchschnitt	4,3	5,1	7,4	1,5	4,6
GD 5 % für Genotypen			0,9		
GD 5 % für Behandlungen			0,3		

Welkebonitur am 26.07.2011 (1 = keine Symtome; 9 = Pflanze tot)

Prüfglied	0,5 %KJ	1 %KJ	2 %KJ	Kontrolle	Durchschnitt
09.7640	7,0	7,0	7,5	3,5	6,3
Taifun	4,0	7,5	8,0	1,0	5,1
00.7001	5,0	6,5	8,0	2,0	5,4
Fuego	6,5	6,5	8,0	2,0	5,75
Espresso	5,5	5,5	7,5	1,0	4,9
Tangenta	6,5	7,0	9,0	2,0	6,1
Durchschnitt	5,8	6,7	8,0	1,9	5,6
GD 5 % für Genotypen			1,02		
GD 5 % für Behandlungen			1,12		

Welkebonitur am 02.08.2011 (1 = keine Symtome; 9 = Pflanze tot)

Prüfglied	0,5 %KJ	1 %KJ	2 %KJ	Kontrolle	Durchschnitt
09.7640	8,0	8,0	9,0	7,0	8,0
Taifun	6,5	8,0	8,5	3,0	6,5
00.7001	5,5	8,0	8,5	4,5	6,6
Fuego	7,0	8,0	9,0	5,0	7,3
Espresso	7,0	7,5	8,5	3,0	6,5
Tangenta	7,0	8,0	9,0	4,5	7,1
Durchschnitt	6,8	7,9	8,8	4,5	7,0
GD 5 % für Genotypen			1,10		
GD 5 % für Behandlungen			0,53		

Welkebonitur am 08.08.2011 (1 = keine Symtome; 9 = Pflanze tot)

Prüfglied	0,5 %KJ	1 %KJ	2 %KJ	Kontrolle	Durchschnitt
09.7640	9,0	9,0	9,0	8,5	8,9
Taifun	8,5	9,0	9,0	6,0	8,1
00.7001	8,0	9,0	9,0	7,0	8,3
Fuego	9,0	9,0	9,0	7,5	8,6
Espresso	9,0	9,0	9,0	5,0	8,0
Tangenta	9,0	9,0	9,0	8,5	8,9
Durchschnitt	8,8	9,0	9,0	7,1	8,5
GD 5 % für Genotypen			1,07		
GD 5 % für Behandlungen			1,02		

Wuchshöhe [cm] am 04.07.2011

Prüfglied	0,5 %KJ	1 %KJ	2 %KJ	Kontrolle	Durchschnitt
09.7640	100,00	107,50	97,50	92,50	99,38
Taifun	112,50	115,00	107,50	100,00	108,75
00.7001	112,50	112,50	112,50	100,00	109,38
Fuego	107,50	115,00	107,50	95,00	106,25
Espresso	105,00	115,00	110,00	100,00	107,50
Tangenta	97,50	110,00	102,50	95,00	101,25
Durchschnitt	105,83	112,50	106,25	97,08	105,42
GD 5 % für Genotypen			3,99		
GD 5 % für Behandlungen			15,08		

Wuchshöhe [cm] am 11.07.2011

Prüfglied	0,5 %KJ	1 %KJ	2 %KJ	Kontrolle	Durchschnitt
09.7640	90,00	97,50	92,50	92,50	93,13
Taifun	107,50	110,00	102,50	100,00	105,00
00.7001	110,00	102,50	105,00	102,50	105,00
Fuego	100,00	112,50	102,50	105,00	105,00
Espresso	107,50	107,50	102,50	102,50	105,00
Tangenta	92,50	110,00	95,00	95,00	98,13
Durchschnitt	101,25	106,67	100,00	99,58	101,88
GD 5 % für Genotypen			6,05		
GD 5 % für Behandlungen			23,57		

Wuchshöhe [cm] am 15.07.2011

Prüfglied	0,5 %KJ	1 %KJ	2 %KJ	Kontrolle	Durchschnitt
09.7640	90,00	97,50	92,50	92,50	93,13
Taifun	110,00	112,50	100,00	97,50	105,00
00.7001	105,00	105,00	105,00	107,50	105,63
Fuego	100,00	107,50	105,00	95,00	101,88
Espresso	107,50	105,00	100,00	100,00	103,13
Tangenta	95,00	107,50	97,50	92,50	98,13
Durchschnitt	101,25	105,83	100,00	97,50	101,15
GD 5 % für Genotypen			6,05		
GD 5 % für Behandlungen			15,11		

Wuchshöhe [cm] am 21.07.2011

Prüfglied	0,5 %KJ	1 %KJ	2 %KJ	Kontrolle	Durchschnitt
09.7640	90,00	100,00	92,50	92,50	93,75
Taifun	107,50	110,00	97,50	97,50	103,13
00.7001	107,50	105,00	105,00	105,00	105,63
Fuego	100,00	110,00	100,00	100,00	102,50
Espresso	102,50	110,00	102,50	102,50	104,38
Tangenta	97,50	100,00	100,00	97,50	98,75
Durchschnitt	100,83	105,83	99,58	99,17	101,35
GD 5 % für Genotypen			4,68		
GD 5 % für Behandlungen			20,1		

Wuchshöhe [cm] am 26.07.2011

Prüfglied	0,5 %KJ	1 %KJ	2 %KJ	Kontrolle	Durchschnitt
09.7640	87,50	97,50	87,50	95,00	91,88
Taifun	102,50	110,00	100,00	97,50	102,50
00.7001	102,50	97,50	102,50	100,00	100,63
Fuego	97,50	105,00	102,50	100,00	101,25
Espresso	105,00	102,50	97,50	97,50	100,63
Tangenta	92,50	105,00	97,50	97,50	98,13
Durchschnitt	97,92	102,92	97,92	97,92	99,17
GD 5 % für Genotypen			5,84		
GD 5 % für Behandlungen			18,47		

Ertrag des Parzellenkerns (12 Pflanzen [g])

Prüfglied	0,5 %KJ	1 %KJ	2 %KJ	Kontrolle	Durchschnitt
09.7640	59,10	76,25	71,50	142,75	87,40
Taifun	125,35	49,85	49,95	183,90	102,26
00.7001	114,35	96,90	54,95	178,10	111,07
Fuego	92,65	93,40	47,40	140,95	93,60
Espresso	86,40	84,30	67,80	271,50	127,50
Tangenta	76,75	85,40	51,85	172,85	96,71
Durchschnitt	92,43	81,02	57,24	181,68	103,09
GD 5 % für Genotypen			42,76		
GD 5 % für Behandlungen			38,30		

Durchschnittlicher Ertrag pro Einzelpflanze des Parzellenkerns [g]

Prüfglied	0,5 %KJ	1 %KJ	2 %KJ	Kontrolle	Durchschnitt
09.7640	4,93	6,36	5,96	11,90	7,28
Taifun	10,44	4,15	4,16	15,32	8,52
00.7001	9,53	8,08	4,58	14,84	9,26
Fuego	7,72	7,78	3,95	11,75	7,80
Espresso	7,20	7,03	5,66	22,63	10,63
Tangenta	6,40	7,12	4,32	14,41	8,06
Durchschnitt	7,70	6,75	4,77	15,14	8,59
GD 5 % für Genotypen			3,56		
GD 5 % für Behandlungen			3,19		

Tausendkornmasse im Parzellenkern [g]

Prüfglied	0,5 %KJ	1 %KJ	2 %KJ	Kontrolle	Durchschnitt
09.7640	344,97	287,58	256,33	569,66	364,63
Taifun	359,17	262,14	243,55	547,15	353,00
00.7001	384,91	290,23	203,90	585,22	366,07
Fuego	304,23	333,60	222,82	575,64	359,07
Espresso	324,69	273,73	246,68	517,18	340,57
Tangenta	327,08	314,35	227,02	582,65	362,77
Durchschnitt	340,84	293,61	233,38	562,91	357,69
GD 5 % für Genotypen			40,75		
GD 5 % für Behandlungen			41,6		

Danksagung

Prof. Dr. Wolfgang Link danke ich für die Überlassung des Themas, die Betreuung und besonders für seine vielen, geduldigen Erklärungen sowie anregenden Diskussionen und Ideen.

Die Durchführung der Feldversuche und Laboranalysen wäre ohne Regina Martsch nicht möglich gewesen. Ihr gilt mein Dank für ihr außergewöhnliches Engagement. Auch sei allen Kollegen der Georg-August-Universität Göttingen gedankt, die an dieser Arbeit in den vergangenen drei Jahren beteiligt waren.

Dr. Olaf Sass und seinen Mitarbeitern bei der Norddeutschen Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke danke ich für die Durchführung der Feldversuche und kritische Diskussionen. Bei Dr. Christiane Balko und ihren Mitarbeitern am Julius-Kühn-Institut in Groß Lüsewitz bedanke ich mich für die physiologischen Analysen im Labor und die Anlage und Durchführung der Rain-Out-Shelter-Versuche. Dr. Anette Giesemann und ihren Mitarbeitern am Johann-Heinrich-von-Thünen-Institut gilt mein Dank für die $\Delta^{13}C$-Analysen. Ebenso danke ich Björn Gebser, Friedrich-Schiller-Universität Jena, und Gisela Jansen, Julius-Kühn-Institut Groß Lüsewitz, für ihre Unterstützung bei den Glycinbetain-Analysen.

Das Verbundprojekt „Vorbereitung einer markergestützten Verbesserung der Trockenstress-Toleranz bei der Ackerbohne“, innerhalb dessen diese Arbeit entstanden ist, wurde finanziert im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung in der Pflanzenzüchtung des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz. Allen beteiligten Institutionen und ihren Mitarbeitern danke ich hierfür.

Für hilfreiche Anmerkungen und Korrekturen im Text danke ich Antonia Wilch, Dörte Kruse und Hauke Fischer.

Der größte Dank gilt meinen Eltern und Antonia. Ihre Unterstützung, ihr Zureden, ihr Verständnis und ihre gelegentlich nötige Nachsicht haben diese Arbeit ermöglicht.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Gregor Christian Welna
Geburtsdatum	02. Oktober 1985
Geburtsort	Preetz in Holstein

Ausbildung & beruflicher Werdegang

04/2011 bis 4/2014	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung Pflanzenzüchtung, Georg-August-Universität Göttingen
10/2009 bis 03/2011	Studium der Agrarwissenschaften Christian-Albrechts-Universität zu Kiel Abschluss: Master of Science
09/2007 bis 06/2008	Studium der Agrarwissenschaften AgroParisTech, Paris
10/2005 bis 10/2009	Studium der Agrarwissenschaften Christian-Albrechts-Universität zu Kiel Abschluss: Bachelor of Science
1996 bis 2005	Friedrich-Schiller-Gymnasium, Preetz Abschluss: Abitur

Erklärung

1. Hiermit erkläre ich, dass diese Arbeit weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits anderen Prüfungsbehörden vorgelegen hat.

   Weiter erkläre ich, dass ich mich an keiner anderen Hochschule um einen Doktorgrad beworben habe.

   Göttingen, den 19.03.2014

   _____

   (Gregor Christian Welna)

2. Hiermit erkläre ich eidesstattlich, dass diese Dissertation selbständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt wurde.

   Göttingen, den 19.03.2014

   _____

   (Gregor Christian Welna)