

Schlussbericht

Zuwendungsempfänger (Förderkennzeichen)

Saatzucht Bauer GmbH & Co KG (2814EPS025)

Freiherr von Moreau Saatzeit GmbH (2814EPS026)

Saatzeit Streng-Engelen GmbH & Co. KG (2814EPS027)

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (2814EPS028)

Vorhabensbezeichnung

Prüfung und Entwicklung von Sojabohnenzuchtmaterial für die Fütterung mit dem Ziel der Implementierung mittelständischer Züchtungsaktivitäten unter besonderer Berücksichtigung der Merkmale Frühzeitigkeit, Kältetoleranz und Proteinertrag

Laufzeit des Vorhabens

01.04.2015 bis 31.05.2018

Kooperationspartner

Landessaatzeitanstalt (LSA) der Universität Hohenheim

Gefördert durch:



Bundesministerium
für Ernährung
und Landwirtschaft



Projektträger Bundesanstalt
für Landwirtschaft und Ernährung

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Prüfung und Entwicklung von Sojabohnenzuchtmaterial für die Fütterung mit dem Ziel der Implementierung mittelständischer Züchtungsaktivitäten unter besonderer Berücksichtigung der Merkmale Frühzeitigkeit, Kältetoleranz und Proteinertrag

Christine Riedel, Grit Schwertfirm, Bianca Büttner, Stefanie Gellan, Günther Schweizer, Joachim Eder
Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung
Am Gereuth 8, 85354 Freising
Christine.Riedel@LfL.Bayern.de

Peter Weigold (Freiherr von Moreau Saatzeit GmbH)
Uwe Stephan, Elena Ripberger (Saatzeit Bauer GmbH & Co KG)
Peter Greif, Carsten Renner (Saatzeit Streng-Engelen GmbH & Co. KG)

Kurzfassung

Mit dem Vorhaben soll im Rahmen der Eiweißstrategie des BMEL durch die Stärkung der Züchtungswirtschaft eine Ausweitung und Verbesserung des Sojabohnenanbaus und damit der Produktion von gentechnikfreiem, heimischem Eiweißfutter unterstützt werden. An der Landesanstalt wird ein Soja-Zuchtprogramm neu aufgebaut. Im Verbund mit privaten bayerischen Züchtungsunternehmen werden Methoden zur Selektion von Zuchtstämmen bezüglich der Merkmale Frühreife, Kornertrag, Proteinertrag und Kältetoleranz entwickelt, sowie die Grundlage für eine markergestützte Selektion geschaffen.

In den drei Vegetationsperioden (2015-2017) wurden aus über zwölftausend Kreuzungsnachkommen interessante Zuchtstämmen selektiert und in einer Leistungsprüfung mit aktuellen Sorten in Ertrag, Proteingehalt und Abreife verglichen. Dabei konnten mehrere Zuchtstämmen identifiziert werden, die bei hohem Ertrag früher abreifen als aktuelle Vergleichssorten bzw. höhere Proteinerträge liefern. Das entwickelte Zuchtmaterial fand Eingang in die Zuchtprogramme bei den privaten Verbundpartnern und wird auf die Sortenzulassung vorbereitet.

Die molekulargenetischen Analysen auf der Basis von 6000 SNP-Markern zeigten eine nur geringe genetische Diversität im aktuell genutzten Sortenpanel. Die in Clusteranalysen nachgewiesene große genetische Diversität in weltweiten Genbankkzessionen kann als wertvoller Genpool für die Züchtung genutzt werden. Die aufwändige phänotypische Selektion soll langfristig durch molekulare Marker effizienter gestaltet werden. Der erste Schritt wurde mit der Etablierung und Anwendung publizierter Marker für die Merkmale Blüte und Reife gemacht.

Testing and development of soybean breeding material for animal feed with the objective of implementation of small-scale breeding activities with particular focus on the quality traits early ripening, cold tolerance and protein yield

Christine Riedel, Grit Schwertfirm, Bianca Büttner, Stefanie Gellan, Günther Schweizer, Joachim Eder
Bavarian State Research Center for Agriculture, Institute for Crop Science and Plant Breeding
Am Gereuth 8, 85354 Freising, Germany
Christine.Riedel@LfL.Bayern.de

Peter Weigold (Freiherr von Moreau Saatzucht GmbH)
Uwe Stephan, Elena Ripberger (Saatzucht Bauer GmbH & Co KG)
Peter Greif, Carsten Renner (Saatzucht Streng-Engelen GmbH & Co. KG)

Abstract

In the scope of the protein strategy of BMEL, the extension and improvement of soybean cultivation shall be enhanced by strengthening the private breeding sector. Thereby it is possible to support the production of domestic, GM-free protein feed. A new breeding program is set up at the state institute in collaboration with private Bavarian breeding companies. Together, methods for the selection of breeding strains regarding early maturity, grain yield, protein yield and cold tolerance will be developed, as well as a basis for a marker assisted selection.

Throughout the last three vegetation periods (2015-2017) more than twelve thousand crossing offspring were selected for significant breeding strains and afterwards compared to current varieties in the characteristics of yield, protein content and maturity. It was possible to identify (a certain number of) breeding strains reaching i. e. a high total yield at early maturity or a higher protein yield than current varieties. The developed breeding material got included into the breeding programs of the private partners and is to some extent prepared for variety approval.

Molecular genetic analyses based on 6000 SNP-markers showed a low genetic diversity of the currently used variety panel. In contrast large genetic diversity of global gene bank accessions can be used as valuable gene pool for further breeding programs. Under the application of molecular markers, the elaborate phenotypic selection can be achieved more efficiently in the long term. The first step was already taken with the establishment and practical application of published markers for the characteristics of flowering and maturity.

Inhaltsverzeichnis

1	Einführung	9
1.1	<i>Gegenstand des Vorhabens</i>	9
1.2	<i>Ziele und Aufgabenstellung</i>	9
1.3	<i>Planung und Ablauf</i>	10
2	Wissenschaftlicher und technischer Stand zu Projektstart	11
3	Durchführung und Ergebnisse	13
3.1	<i>Kreuzungsmethodik (AP1)</i>	13
3.1.1	Optimierung der Anzuchtbedingungen der Kreuzungspflanzen	13
3.1.2	Durchführen von Kreuzungen	13
3.2	<i>Kältetoleranz (AP2)</i>	15
3.2.1	Kühle zur Blüte	15
3.2.2	Feldversuch Ranzin.....	19
3.2.3	Kühle zum Auflaufen	21
3.3	<i>Selektion und Prüfung von Zuchtmaterial (AP3)</i>	21
3.3.1	Beobachtungsanbau (TA1)	21
3.3.2	Ertragsprüfungen von selektierten Linien (TA2)	25
3.3.3	Aufbau eines Sojazuchtprogramms bei den beteiligten Verbundpartnern	33
3.4	<i>Qualität (AP4)</i>	35
3.4.1	Proteingehalt (TA1)	35
3.4.2	Aminosäurezusammensetzung (TA2).....	37
3.4.3	Aktivitätsbestimmung von Trypsininhibitoren (TA3)	39
3.5	<i>Erweiterung der genetischen Basis (AP5)</i>	40
3.5.1	Evaluierung von Genbankakzessionen (TA1)	40
3.5.2	Molekulare Charakterisierung (TA2)	43
3.5.3	Planung und Durchführung von Kreuzungen (TA3).....	46
3.6	<i>Molekulargenetische Arbeiten (AP6)</i>	47
3.6.1	Validierung publizierter Marker für Kandidatengene (TA1).....	47
3.6.2	Kandidatengenbasierte Assoziationsstudie und Markervalidierung (TA2)	49
3.6.3	Umsetzung und Validierung der SNP-Marker auf der Fluidigm-Plattform (TA3)	55
4	Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse	56
5	Gegenüberstellung geplante und erreichte Ziele	57
6	Zusammenfassung	59
7	Literaturverzeichnis	60
8	Veröffentlichungen von Projektergebnissen	63
9	Anhang zu „Durchführung und Ergebnisse“	65

Abkürzungsverzeichnis

AP	Arbeitspaket
AQU	Abteilung Qualitätssicherung und Untersuchungswesen (Abteilung der LfL)
BBCH(-Skala)	Skala zur Einordnung der morphologischen Entwicklungsstadien einer Pflanze der Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie
BMEL	Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft
BPZ	Bayerische Pflanzenzuchtgesellschaft eG & Co KG
CRS	Costa Rica Seeds (Dienstleister)
DNA	DesoxyriboNucleic Acid (dt. Desoxyribonukleinsäure)
FTA	Fast Technology for Analysis of nucleic acids
GRIN	Germplasm Resources Information Network
Hd	Haplotypdiversität
ILT	Institut für Landtechnik und Tierernährung (Institut der LfL)
IPK	Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung
IPZ	Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung (Institut der LfL)
JKI	Julius Kühn-Institut
LfL	Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
LSA	Landessaatzuchtanstalt der Universität Hohenheim
MAS	marker assisted selection (dt. markergestützte Selektion)
NIR(S)	Nahinfrarotreflexion(sspektroskopie)
PGR	Pflanzengenetische Ressourcen
QTL	Quantitative Trait Locus (dt. Region eines quantitativen Merkmals)
SNP	Single nucleotid polymorphism
sp.	species / Art (zoologisch/botanisch)
SSD	Single Seed Descent (dt. Ein-Korn-Ramsch)
(Bay)StMELF	Bayerisches Staatsministerium für Ernährung Landwirtschaft und Forsten
SZ Bauer	Saatzucht Bauer
SZ Moreau	Freiherr von Moreau Saatzeit
SZ StrengE	Saatzeit Streng-Engelen
TA	Teilaufgabe
TIA	Aktivität der Trypsininhibitoren
TKG/TKM	Tausendkorngewicht
α	Irrtumswahrscheinlichkeit
π	Nukleotiddiversität

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Anzuchtbereich der Kreuzungspflanzen im geschützten Außenbereich; mit Watte geschützte bearbeitete Knospe; gut ausgebildete Blüten an Feldpflanzen (bereits zu weit entwickelt zum Kreuzen)	14
Abb. 2: Klimakammern an der LfL in Freising mit automatischer Temperatur und Licht-Regelung	15
Abb. 3: Sorten im ersten Kühletest 2015 und Linien der Ertragsprüfung im Test 2017	16
Abb. 4: Mittlere Hülsenanzahl der Kühle- und Kontroll-Variante an den verschiedenen Nodien bei den Vergleichssorten Malaga, Merlin, ES Mentor, Amarok und Fiskeby V im Kühletest T-IV am Ende der Kühlephase	18
Abb. 5: Mittlere Hülsenanzahl der Kühle- und Kontroll-Variante an den verschiedenen Nodien bei den Vergleichssorten Malaga, Merlin, ES Mentor, Amarok und Fiskeby V im Kühletest T-IV zur Reife	19
Abb. 6: Mittlere Hülsenanzahl der Vergleichssorten Merlin, ES Mentor, Amarok, Sultana, SY Eliot, Malaga Fiskeby V und zweier Prüflinien an den verschiedenen Nodien im Feldversuch in Ranzin zur Reife	20
Abb. 7: Keine sichtbaren Kälteschäden an den Keimlingen am Ende des Tests zu BBCH 11.	21
Abb. 8: Blick auf den Beobachtungsanbau mit jeweils zwei Einzelreihen pro Genotyp am Standort Oberhummel am 1. Juli 2016	22
Abb. 9: Ausschnitt aus dem Beobachtungsanbau mit Reihen von erntereifen Nachkommenschaften aus Kreuzungen der LSA (Mitte) und sehr spät bis nicht abreifenden Genbankakzessionen am 21. September 2015 am Standort Oberhummel	22
Abb. 10: Verteilungen der Genotypen in der Abreife (Reife Hülsen in Tagen nach der Saat) im Beobachtungsanbau der LfL in Hummel 2015; links: Genbank-Akzessionen, mittig: Linien von der LfL, rechts: Linien von der LSA, welche durch einen einjährigen Anbau bereits vorselektiert waren; Rot eingezeichnet ist der gewünschte Reifebereich zwischen der sehr frühen Sorte Merlin und der späteren Sorte ES Mentor	24
Abb. 11: Bonitur des Datums erste Blüte wurde erschwert durch Erdanhaftung durch Regen auf offenen Boden; bei genaueren Betrachten muss hier bereits der Hülsenansatz festgestellt werden (Hummel 22.6.15)	24
Abb. 12: Ertragsprüfung 2016 am Standort Frankendorf mit starken Mängeln im Aufgang bei den meisten Zuchtstämmen (mitte 31.5., rechts 18.07.) im Vergleich zu den Vergleichssorten (links 18.7.), deren Saatgut nicht in Costa Rica vermehrt wurde	26
Abb. 13: Monatsmittelwerte für Lufttemperatur und Niederschlagssumme für Wetterstationen an den Versuchsorte oder der näheren Umgebung von Januar 2016 bis Dezember 2017; Ergänzte Darstellung der Agrarmeteorologie Bayern	27
Abb. 14: Mittlere Kornerträge und Trockensubstanzgehalte (TS) der Prüflinien und Vergleichssorten in der Ertragsprüfung 2016 am Standort Osterhofen; die Linien im markierten Bereich sind aufgrund der frühen Reife (hohes TS) und überdurchschnittlicher Kornerträge interessant für die weitere Züchtung	28
Abb. 15: Mittlere Protein- und Ölgehalte der Prüflinien und Vergleichssorten in der Ertragsprüfung 2016 am Standort Aspachhof; Linien im markierten Bereich sind aufgrund des hohen Proteingehaltes interessant für die weitere Züchtung	28
Abb. 16: Boxplot-Darstellungen zur Verteilung (links) der mittleren Kornerträge (dt/ha TM86%) und (rechts) des Proteingehalts (Mischprobe aus Wiederholungen; 0.30=30%) an den vier Versuchsorten Aspachhof (AH), Frankendorf (FRA), Niedertraubling (NT) und Osterhofen (OH)	30
Abb. 17: Boxplot-Darstellungen zur Verteilung der mittleren Proteinerträge (dt/ha) an den vier Versuchsorten Aspachhof (AH), Frankendorf (FRA), Niedertraubling (NT) und Osterhofen (OH)	30
Abb. 18: Boxplot-Darstellungen zur Verteilung (links) des mittleren Tausendkorngewichts (g) und (rechts) der Reife der Hülsen (Tage nach der Saat) an den vier Versuchsorten Aspachhof (AH), Frankendorf (FRA), Niedertraubling (NT) und Osterhofen (OH)	31
Abb. 19: Mittleres Reifedatum der Hülsen sowie mittlerer Kornertrag der Prüflinien und Vergleichssorten der Ertragsprüfung 2017 an vier Orten; interessant ist der markierte Bereich mit frühreifen und gleichzeitig ertragsstarkem Material	32
Abb. 20: Mittlerer Kornertrag sowie mittlerer Proteingehalt der Prüflinien (n=100) und Vergleichssorten (n=6) der Ertragsprüfung 2017 an vier Orten	32
Abb. 21: Ausschnitt aus Parzellen der Ertragsprüfung am Standort Frankendorf in beginnender Abreife am 29. August 2017	33
Abb. 22: Anzucht der F ₁ -Pflanzen aus den Kreuzungsaufträgen im Topf beim Servicepartner Costa Rica (links) und Saatguttüten mit den F ₅ -Nachkommenschaften aus SSD, wie sie jeweils im April an die LfL geliefert werden (rechts)	34

Abb. 23: Ablauf des Zuchtprogramms an der LfL mittels SSD und des Dienstleisters CRS in Costa Rica für die Nachkommenschaften im Beobachtungsanbau 2015 und Ertragsprüfung 2016	35
Abb. 24: Anordnung zur Messung der NIR-Spektren im Futtermittellabor Grub mit automatischer Probeneinspeise-Einheit (links)	36
Abb. 25: Gegenüberstellung der mit NIRS ermittelten Rohproteingehalte mit den nasschemisch gemessenen Gehalten an unbehandelten Kornproben des Landessortenversuches 2015 als Mittelwerte der Sorten von den Orten Großaiting, Köfering, Oberhummel, Rothalmünster und Günzing	36
Abb. 26: Mittlere Werte und Variation der Gehalte an Gesamtprotein, sowie der essentiellen Aminosäuren Lysin, Methionin und Cystein in der Trockenmasse in den unterschiedlichen Material-Gruppen PGR (2015+2017, n=157), Zuchtmaterial (Ertragsprüfung Frankendorf 2017, n=220) und Sorten (2017, n=15).....	39
Abb. 27: Trypsininhibitoraktivität (TIA) und Proteingehalt ausgewählter Sorten und Genbank-Akzessionen der Ernte 2016 aus dem Beobachtungsanbau 2016 in Hummel	40
Abb. 28: Beispiele für die Variation der Akzessionen in der Farbe und Größe des Saatgutes (links) und Wildtyp der Sojabohne <i>Glycine soja</i> (rechts außen) neben einer asiatischen Akzession von <i>Glycine max</i>	41
Abb. 29: links: Verteilung (%) der 2015 beobachteten Genbankakzessionen (n=210) mit Datum der Reife der Hülsen und mit eingezeichneten optimalen Reifebereich zwischen den Sorten Merlin und ES Mentor (orange); rechts: Gehalte an Rohprotein und Rohfett in der Trockenmasse bei den Genbankakzessionen (n=100, blau) und aktuellen LSV-Sorten (n=15, rot) der Ernte 2015	42
Abb. 30: Zusammenstellung des GB100 Sortiments mit der Anzahl an Akzessionen aus den einzelnen geographischen Herkünften bzw. Reifegruppen	44
Abb. 31: Ergebnis der Stammbaumanalyse für das GB100 Sortiment basierend auf 4.867 SNP-Markern. Die vier verschiedenen Gruppen sind durch die unterschiedliche Farbgebung der Äste gekennzeichnet, die geographischen Herkünfte der Akzessionen sind durch verschiedene Farben der Beschriftung markiert	44
Abb. 32: Ergebnis der STRUCTURE Analyse mit K-Untergruppen und deren Wahrscheinlichkeit Ln(K) nach Pritchard et al. (2000, schwarz) bzw. ΔK nach Evanno et al. (2005, blau).....	45
Abb. 33: Säulendiagramm der STRUCTURE Analyse für K=2 Untergruppen, wobei K=1 (rot) überwiegend japanische und K=2 (blau) überwiegend chinesische Akzessionen repräsentiert. Die Zugehörigkeitswahrscheinlichkeiten (Ln(K)) der einzelnen Akzessionen (x-Achse) für die jeweilige Untergruppe sind entlang der y-Achse abgetragen	45
Abb. 34: Boxplots der adjustierten Mittelwerte des GB100 Sortiments (N=104) für die phänotypischen Merkmale Blühzeitpunkt, Hülsenreife und Blattreife gemessen in Tagen nach der Aussaat, Pflanzenhöhe gemessen in cm sowie Rohprotein- und Rohölgehalt gemessen in % der Trockenmasse	50
Abb. 35: Korrelationen zwischen den adjustierten Merkmalsmittelwerten und Pearson Moment Korrelationskoeffizienten mit Signifikanzniveaus ***: 0,001 **: 0,01 *: 0,05 . : 0,1 ns: nicht signifikant	52
Abb. 36: Korrelation zwischen Rohproteingehalt (Crude protein content) und Rohölgehalt (Crude oil content) in % Trockenmasse unter Berücksichtigung aller Genotypen (links) und nach Ausschluss der Ausreißer GB100_17, GB100_53 und GB100_56 (rechts). Der Korrelationskoeffizient verändert sich deutlich von r=-0,28 (links) auf r=-0,78 (rechts).....	53
Abb. 37: Manhattan-Plots der SNP-Assoziationen für die Merkmale Blühzeitpunkt, Hülsenreife, Blattreife, Pflanzenhöhe, Rohproteingehalt, Rohölgehalt und die schwefelhaltigen Aminosäuren Cystein und Methionin. Negative log ₁₀ p-Werte des genomweiten Assoziationssscans wurden gegen die SNP-Positionen auf den 20 Chromosomen des Sojabohnengenoms abgetragen. Das Signifikanzniveau von $\alpha=0,001$ (-log ₁₀ = 3,00) ist als waagerechte Linie dargestellt. SNP-Marker oberhalb dieser Linie zeigen eine signifikante Assoziation.	54
Abb. 38: Mittlere Hülsenanzahl (X-Achse) der Kühle (blau)- und Kontroll (rot)-Variante an den verschiedenen Nodien (Y-Achse) bei den Prüflinien im Kühletest T-IV am Ende der Kühlephase (Auswahl)	66
Abb. 39: Mittlere Hülsenanzahl (X-Achse) der Kühle (blau)- und Kontroll-Variante (rot) an den verschiedenen Nodien (Y-Achse) bei den Prüflinien im Kühletest T-IV zur Reife (Auswahl)	67

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: In den Kühletests verwendete Vergleichs- bzw. Elternsorten mit der Einschätzung zur Kühlereaktion aus Literatur und persönlichem Kontakt	16
Tab. 2: Saat und Erntetermine an den Standorten der Ertragsprüfung 2016 und 2017	25
Tab. 3: Spanne und mittlere Gehalte der Aminosäuren in der Trockenmasse (% TM) bei den im Projekt über das Futtermittellabors der LfL in Grub untersuchten unbehandelten Sojaprobe (Sorten, Zuchtmaterial, PGR; n=1045; AminoNIR über Evonik) inklusive Rohprotein- und Rohfettgehalte; sortiert absteigend nach dem Mittelwert	38
Tab. 4: Bezugsquellen der Genbankakzessionen im Projekt	41
Tab. 5: Durchschnitt und Schwankungsbreite der erfassten Merkmale im Sortiment GB100 am Standort Oberhummel 2016	42
Tab. 6: Sequenzidentität der kodierenden Gensequenz (cds) der Glyciningenfamilie (<i>GmGy6</i> ist ein Pseudogen und kodiert kein Protein)	48
Tab. 7: Haplotypsequenz der Kandidatengene <i>GmGy1</i> und <i>GmGy2</i> , die Zahlen der polymorphen Stellen (PS) bezeichnen deren Position im Gen bezüglich des Startcodons ATG (A=1, T=2, G=3, usw.); Angegeben sind die Position der polymorphen Stelle im Gen sowie etwaige Aminosäureaustausche (IUPAC Code)	49
Tab. 8: Varianzanalyse der erhobenen Merkmale in den Umwelten Oberhummel 2015, Oberhummel 2016, Osterhofen 2016 und Uffenheim (2016)	51
Tab. 9: Sorten als Kreuzungseltern der beobachteten Nachkommenschaften; Informationen zur Reifegruppierung und Zulassung aus Beschreibenden Sortenlisten Deutschland und Österreich	65
Tab. 10: Übersicht über Kühletoleranzversuche in der Klimakammer 2016 bis 2018	65
Tab. 11: Geringste signifikante Differenzen aus der Varianzanalyse (t-Test, $\alpha=0,05$) für eine Auswahl der 2017 erhobenen Merkmale aus der Verrechnung über alle Orte für die Faktoren Prüflinie und Umwelt	67
Tab. 12: Rangfolge der Prüflinien der Ertragsprüfung 2017 in der statistischen Verrechnung der Proteinertages über alle Orte; Vergleichsorten sind grau hinterlegt; Mittelwerte mit demselben Buchstaben sind nicht signifikant verschieden (t-Test, $\alpha=0,05$)	68
Tab. 13: Rangfolge der Prüflinien der Ertragsprüfung 2017 in der statistischen Verrechnung der Reife der Hülsen in Tagen nach der Saat über alle Orte; Vergleichsorten sind grau hinterlegt; Mittelwerte mit demselben Buchstaben sind nicht signifikant verschieden (t-Test, $\alpha=0,05$)	70
Tab. 14: Ergebnisse der Genotypisierung der Kandidatengene zu Blüte/Reife (<i>E1</i> , <i>E3</i> , <i>E4</i>) im GB100 Sortiment 72	
Tab. 15: Signifikante Assoziationen für die Merkmale Blühzeitpunkt, Hülsen- und Blattreife, Pflanzenhöhe, Rohprotein- und Rohölgehalt sowie zu den elf essentiellen Aminosäuren. Es wurde ein Signifikanzniveau von $\alpha=0,001$ bzw. für Blühzeitpunkt von $\alpha=0,01$ verwendet (Chr: Chromosom, FG: Freiheitsgrad, p: Signifikanzwert)	73

1 Einführung

1.1 Gegenstand des Vorhabens

Die Sojabohne gilt als hochwertiger Eiweißlieferant in der heimischen Fütterung von Nutztieren. Obwohl die Anbaufläche in Deutschland in den letzten Jahren bereits zugenommen hat, kann nur ein sehr kleiner Teil des Bedarfs mit heimischer Soja gedeckt werden und der überwiegende Teil wird häufig als gentechnisch verändertes Sojaschrot aus Übersee importiert.

Das Sortenspektrum der Sojabohne, das für den Anbau im vergleichsweise kühlen Deutschland zur Verfügung steht, ist sehr eingeschränkt, so dass es noch Optimierungspotential in der Stabilität, Höhe und Qualität der Erträge gibt. Der im Vergleich zu anderen Kulturen geringe Anbauumfang bremst auch die Züchtungsbemühungen und damit die Entwicklung besser angepasster und ertragsstärkerer Sorten.

Die in Deutschland und Europa zunehmende Nachfrage nach gentechnikfreien Sojaprodukten vor dem Hintergrund des weltweit steigenden Anbaus gentechnisch veränderter Sorten spricht für den Aufbau und die Ausweitung nationaler Züchtungsaktivitäten zur Entwicklung heimischer Sojabohnensorten.

Das geplante Vorhaben soll helfen, die Grundlagen für eine leistungsfähige Sortenentwicklung durch die Optimierung der Züchtungs- und Selektionsmethodik unter dem Einsatz züchtungstechnischer als auch molekulargenetischer Verfahren zu schaffen.

1.2 Ziele und Aufgabenstellung

Mit dem Vorhaben soll eine Ausweitung und Verbesserung des Sojabohnenanbaus und damit der Produktion von gentechnikfreien, heimischen Eiweißfuttermitteln unterstützt werden. Bislang wird die Züchtung angepasster Sojabohnensorten für den süd- und mitteldeutschen Raum von einer einzigen Landeseinrichtung, der Landessaatzuchtanstalt der Universität Hohenheim, getragen. Um die gebotenen Züchtungsaktivitäten auf breiterer und auch privatwirtschaftlicher Ebene zu verankern, sind an dem Vorhaben neben der LfL auch drei private Züchtungsunternehmen beteiligt. In diesem Zusammenhang soll das Vorhaben die bestehende Lücke zwischen Züchtungsforschung und Sortenpraxis anwendungsorientiert und nachhaltig schließen helfen.

Das Ziel soll insbesondere durch die Stärkung der Züchtungswirtschaft im Bereich der Auswahl der Kreuzungseltern und Selektion von Zuchtstämmen für die sehr frühen bis frühen Formenkreise der Sojabohne erreicht werden, unterstützt durch die molekulargenetische Beschreibung des PreBreeding-Materials als auch der Entwicklung und technischen Bereitstellung molekularer Marker für markergestützte Selektionsschritte.

Die Basis hierzu stellt der Aufbau von Zuchtmaterial aus dem frühen bis sehr frühen Genpool der Reifegruppen „0“ bis „000“ dar. Als Ausgangsmaterial standen dem Verbund unselektierte Sojabohnen-Linien nordamerikanischer/kanadischer Herkunft sowie Zuchtmaterial aus Deutschland, Österreich und der Schweiz zur Verfügung. An diesen Nachkommenschaften soll bei jedem Verbundpartner eine Selektion von relevantem Zuchtmaterial durchgeführt werden. Die vermutlich enge genetische Basis in dem vorliegenden Elitematerial soll phänotypisch wie molekular analysiert und in einem zweiten Schritt durch Einkreuzung von Sorten und Landrassen aus Ostasien erweitert werden. Die genetische Diversität des Ausgangsmaterials an Sojabohnen-Linien wird dazu parallel auf

molekularer Ebene bezüglich genetischer Struktur und züchtungsrelevanter Kandidatengene untersucht. Die Ergebnisse fließen in die geplanten Kreuzungspläne und eine Assoziationsstudie ein.

1.3 Planung und Ablauf

In der Vorhabensbeschreibung zum Projektantrag wurden die nötigen Arbeiten zum Erreichen des Projektzieles in sechs Arbeitspaketen zusammengefasst:

- AP1: Optimierung der Kultur von Sojabohnen in der Klimakammer durch Variation in Temperatur und Tageslänge mit dem Ziel für spätere Kreuzungen eine Blühsynchronisation zwischen verschiedenen Genotypen zu erreichen und den Kornansatz zu optimieren. Kreuzungen wurden abweichend von der Planung im Topf unter Freilandbedingungen durchgeführt.
- AP2: Zur Bestimmung der Kältetoleranz des zu Projektbeginn selektieren Zuchtmaterials wurde in der Klimakammer (kontrollierter Kältestress) und im Freilandversuch (Mecklenburg-Vorpommern) der Hülsenansatz bonitiert.
- AP3: Mit dem Ziel verbessertes Zuchtmaterial zu identifizieren wurden jährlich mehrere tausend Nachkommenschaften aus Kreuzungen in der F_4/F_5 -Generation angebaut, beobachtet und frühreife Linien selektiert. Nach Zwischenvermehrung wurden die selektierten Linien in einem mehrortigen Parzellenversuch auf Wuchsparemeter, Kornertrag und Futterqualität geprüft. Abweichend von der Planung wurde zusätzliches Zuchtmaterial aus dem LfL-Zuchtprogramm in das Projekt mit eingebracht. Die Abgabe von vielversprechenden Zuchtstämmen der LfL an die Verbundpartner wurde über die Bayerische Pflanzenzüchtungsgesellschaft organisiert.
- AP4: Analysen zur Futterqualität wurden zur Charakterisierung von Zuchtstämmen und Genbankmaterial (Pflanzengenetische Ressourcen) eingesetzt. Es wurde unter anderem der Proteingehalt, sowie die Aminosäurezusammensetzung mittels Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) und an ausgewählten Proben die Aktivität der Trypsininhibitoren (TIA) bestimmt. Zwei der Verbundpartner haben eigene NIRS-Messungen durchgeführt bzw. eine Kalibration für ganze Körner entwickelt.
- AP5: Zur Erweiterung der genetischen Basis wurden Pflanzengenetische Ressourcen aus Genbanken weltweit geordert, ausgiebig phänotypisch beobachtet und futtermitteltechnisch sowie molekulargenetisch analysiert. Anhand der Ergebnisse eines SNP-Chips wurden die genetische Diversität in dem Genpool aus Genbankakzessionen und aktuellen Sorten analysiert und für züchtungsrelevante Kandidatengene Haplotypenanalysen durchgeführt. Auf dieser Datengrundlage sollten Kreuzungspläne erstellt und Kreuzungen durchgeführt werden. Ein Sortiment von Mikrosatellitenmarkern für die molekulare Verifikation des Kreuzungserfolgs wurde etabliert.
- AP6: Im AP5 erhobene Daten sollen genutzt werden um mit Hilfe von Assoziationsstudien die Grundlage für eine markergestützte Selektion (MAS) für züchtungsrelevante Merkmale wie Abreife, Eiweißgehalt/-zusammensetzung und Kältetoleranz für das Zuchtmaterial zu schaffen. DNA-Marker sollen etabliert und angewandt werden. Eine Umsetzung auf die Fluidigm-Plattform für einen praxisrelevanten Hochdurchsatz von SNP-Markern ist geplant.

2 Wissenschaftlicher und technischer Stand zu Projektstart

Die aus China stammende und dort domestizierte Sojabohne (*Glycine max* (L.) Merr.) ist wegen ihres hohen Eiweiß- und Ölgehalts die weltweit am häufigsten angebaute Leguminose. Ihr Samen dient überwiegend der Herstellung von Speise- und Industrieöl, nach dessen Extraktion das anfallende Schrot als hochwertiges Futtermittel genutzt wird. Für die Verwendung als Tierfuttermittel und für die Herstellung von Nahrungsmitteln (z. B. Tofu) werden hohe Proteingehalte und -qualitäten angestrebt.

Der Anbau selbst früher Sorten der Sojabohne ist derzeit wegen ihres hohen Wärmebedarfs nur in günstigen Lagen Süddeutschlands empfehlenswert und erfordert eine Wärmesumme von mindestens 1.400°C zwischen Mai und September (Reifegruppe „000“). Wärmeliebendere Sorten der Reifegruppe „0“ benötigen bereits eine Wärmesumme von mindestens 1.700°C. In Bayern liegen begünstigte Anbauregionen im Rottal, an der unteren Donau und Isar sowie in einigen Regionen Mittel- und Unterfrankens.

Eine frühe Jugendentwicklung (im Kurztag) führt auch bei angepassten Sorten zu höheren Erträgen. Jedoch muss selbst in Gunstlagen wegen Kaltlufteinbrüchen während der Keimung, aber besonders aufgrund kühler Temperaturen zur Blüte und Hülsenentwicklung (< 8°C) mit Ertragseinbußen in Folge von Auflaufschäden, Blüten- und Hülsenfall gerechnet werden. Im BÖLN-Projekt „Ausweitung des Sojaanbaus in Deutschland durch züchterische Anpassung und pflanzenbauliche Optimierung“ (2011-2013) wurden unter anderem Kenntnisse zur Kühletoleranz von Sojabohnensorten gewonnen und ein Kühletoleranztest für die Klimakammer entwickelt (Balko et al. 2014).

Aufgrund der geringen Auskreuzungsrate von <1% (Carlson und Lersten 1987) wird die Sojabohne als strikter Selbstbefruchter gezüchtet. Diese Kreuzungsarbeiten gestalten sich aufgrund der komplexen Ansprüche an die benötigten Anzuchtbedingungen für eine gute Blütenentwicklung sowie der äußerst geringen Blüten- und Antherengröße (6-7 mm bzw. 1 mm) sehr schwierig. Die Kreuzungserfolgsrate liegt im Freiland selbst bei geschultem Personal nur bei 20 bis 30%. Die Linienentwicklung (Pedigree- oder SSD-Methode) kann durch Einbeziehung von Zwischenvermehrungen in den Tropen (Süd- oder Mittelamerika) beschleunigt werden.

Nordamerikanisches Zuchtmaterial gilt aufgrund der Züchtungshistorie im Vergleich zum chinesischen Genpool als eingengt. Nur etwa zwanzig Ausgangslinien repräsentieren 85% der dortigen genetischen Basis (Gizlice et al. 1994) und die Vererbung einzelner Elitezuchtlinien konnten im Zuchtprogramm mit Hilfe von Markeranalysen eindrucksvoll nachgewiesen werden (Grainger und Rajcan 2014). Die Diversität in europäischem Material ist nur geringfügig höher (Tavaud-Pirra et al. 2009), jedoch sind die verwandtschaftlichen Beziehungen der im frühreifen Bereich („0“ bis „000“) einsetzbaren Sorten weitestgehend unbekannt.

Eine große Anzahl an Akzessionen ist in verschiedenen Genbanken weltweit eingelagert, welche aber zu weniger als 1% in Züchtungsprogrammen genutzt wird (Qiu et al. 2013).

Die Sojabohne ist auf molekularer Ebene (Genom, Transkriptom) eingehend untersucht und ihr Genom sequenziert (Schmutz et al. 2010). Es wurde bereits eine Resequenzierung von 31 Sojabohnenlinien durchgeführt, wodurch DNA-Abschnitte mit starker Genkonservierung und hoher molekularer Diversität identifiziert werden konnten (Lam et al. 2010). Für die gezielte Nutzung

genetischer Sequenzinformationen auf agronomisch wichtige Merkmale liegt eine Vielzahl molekularer Marker, vor allem Mikrostelliten- und SNP-Marker vor (Cregan 2008; Katayose 2012; web: SoyBase.org; Joshi et al. 2014). Entsprechende Marker sollen nach einer Validierung der Auswahl von Kreuzungseltern und der Charakterisierung von Genbankmaterial vor allem für eine markergestützte Selektion (Walker et al. 2010; Gai et al. 2012; Qiu et al. 2013) eingesetzt werden. Neuartige Fingerprinting-Methoden wie der Illumina 50K Array erlauben eine schnelle und detaillierte molekulare Beschreibung des Zuchtmaterials (Song et al. 2013 PLOSone). Für den Praxiseinsatz in der Züchtung soll die Umsetzung der markergestützten Selektion (MAS) durch flexible SNP-Markertechniken wie die der Fluidigm Plattform (Vuong 2013) zum Einsatz kommen.

Um die Ertragsleistung der Sojabohne für nördliche Breiten zu adaptieren, wurde zunächst der Einfluss essentieller Major-Gene für Tageslänge und Wuchstyp und über umfangreiche QTL- und Genomikstudien zudem deren komplexe Wechselwirkungen auf die Ertragsbildung (Han et al. 1998, Egli 2011) untersucht. Die Abreife der Samen hängt wesentlich von der Blühzeit und deren Terminierung ab. Entsprechende Major-Gene wurden bereits von Bernard (1971) beschrieben und in aktuellen Reviews u. a. Xia et al. (2012a) weiter ausgeführt. Vier Major-Gene konnten mit modernen molekularbiologischen Methoden bereits analysiert und ihre Funktion aufgeklärt werden. Hierbei kodiert das Gen „E1“ für einen sojabohnenspezifischen Transkriptionsfaktor (Xia et al. 2012b, Xu et al. 2013), „E2“ ist ein GIGANTEA-homolog von *GmGla* (Watanabe et al. 2011) und „E3“ und „E4“ sind die Phytochrome *GmPhyA3* und *GmPhyA2* (Liu et al. 2008). Während „e3“ die Abreife beschleunigt, wird sie durch „E4“ verzögert (Jia et al. 2014). Einzelne Allele reagieren dabei unterschiedlich auf die Tageslänge (Buzzell 1971, 1980, Cober et al. 1996a,b), so dass sich Genotypen mit bestimmten Genkombinationen auch für kurze Vegetationsperioden (Cober et al. 2010) unter Langtagbedingungen eignen (tagneutrale Sorten). Für den Merkmalskomplex Photoperiodenabhängigkeit der Blüte konnten bereits mehrere QTL und Kandidatengene u. a. für *GmFT2a* (Sun et al. 2011, Watanabe 2012, Jiang et al. 2013) beschrieben werden.

Die Züchtung auf hohen Proteinertrag erfordert eine kostengünstige, schnelle und hinreichend genaue Quantifizierungsmethode für den Proteingehalt. Mit der Nahinfrarot-Reflexionsspektroskopie (NIRS) bei der Sojabohne wurde solch eine Methode entwickelt, die bereits im Laborbereich der LfL etabliert ist und für das Projekt genutzt werden kann (AminoNIR®). Für das Screening der genetischen Variabilität der Aktivität der Trypsininhibitoren sind in externen Labors spezielle Analyseverfahren verfügbar (z. B. TIA AOCS).

Die Verbundpartner im Projekt haben zum Vorhabensbeginn unterschiedliche Züchtungshintergründe und bearbeiten im Hauptgeschäft züchterisch vor allem Winter- und Sommergetreide sowie Mais. Im kleinen Umfang besteht teilweise bereits Erfahrung mit Sojabohne oder anderen Körnerleguminosen. Die LfL hat ebenso umfangreiche Kompetenzen in der praktischen Züchtung und den unterstützenden molekulargenetischen Analysen verschiedenster Kulturarten. Die Landessaatzuchtanstalt der Universität Hohenheim (LSA) fungiert als assoziierter Partner im vorliegenden Projekt.

3 Durchführung und Ergebnisse

3.1 Kreuzungsmethodik (AP1)

3.1.1 Optimierung der Anzuchtbedingungen der Kreuzungspflanzen

Zur Optimierung der ganzjährigen Kultur der Sojabohne zur Anzucht von Kreuzungspflanzen, mit dem Ziel einen schnellen und hohen Blütenansatz, Blühsynchronisation und eine gute Blütenentwicklung zu erreichen, wurden 2015 an der LfL mehrere Versuche durchgeführt. Dafür wurden die Anzuchtbedingungen in verschiedenen Parametern in zwei vorhandenen Klimakammern und im Gewächshaus variiert. Es wurden Tageslängen von 12h, 15h und 16h und Tagestemperaturen zwischen 25°C und 28°C getestet. Zur Verbesserung der Lichtqualität in den Klimakammern wurden die vorhandenen Leuchtmittel, gegen spezielle Pflanzenlampen mit angepassten Wellenlängen (Rot- und Gelb-Licht-Anteil, erhöhter Blaulichtanteil, 2000K) ausgetauscht.

Aus den Beobachtungen der Klimakammerversuche in Kombination mit Informationen aus der Literatur und persönlichen Empfehlungen anderer Forschungsinstitutionen wurden für die Anzucht und Blühinduktion folgende Einstellungen für eine optimierte Anzucht von Sojabohnen abgeleitet: 16h Tageslänge bei 25°C mit 5°C Nachtabsenkung und ca. 70% Luftfeuchte. Die verlängerte Tageslänge bewirkte zwar einen späteren Übergang der Pflanzen in die generative Phase, die Blühdauer, die Blütenanzahl und die Blütenentwicklung war aber gleichzeitig deutlich verbessert gegenüber einer Tageslänge von 12h. Nach der Veränderung der Lichtqualität durch neue Leuchtmittel wurde eine allgemein verbesserte Pflanzenentwicklung und -qualität beobachtet.

Dennoch blieb die Blütenqualität bei Anzucht in der Klimakammer weit hinter der von unter Freilandbedingungen gewachsenen Pflanzen zurück. Die dort angezogenen Pflanzen haben vergleichsweise kleinere und weichere Blüten, wodurch die Kreuzungsbemühungen zusätzlich erschwert werden. Vermutet wird, dass die Lichtintensität nicht ausreicht. Ein Versuch zur Anzucht in einem Niedrigenergiegewächshaus unter LED-Lampen mit unterschiedlichen Lichtanteilen, welches Teil eines Forschungsprojektes an der LfL ist (BayStMELF EW/13/64), hat einen verbesserten Habitus und Blütenausbildung bei der Sorte ES Mentor im Vergleich zu Pflanzen aus der Klimakammer bewirkt. In diesem Gewächshaus wurden als Teil des dazugehörigen Projektes über den Jahresverlauf 2016 und 2017 verschiedenste Kulturen mit unterschiedlichen Temperaturansprüchen kultiviert. Unter optimierten Temperaturbedingungen und der Unterstützung des Tageslichtes durch die installierte LED-Beleuchtung, welche entsprechend der pflanzlichen Entwicklungsphasen angepasst werden kann, erscheint eine jahreszeitlich ausgedehnte Anzucht der Sojabohne für Kreuzungszwecke möglich. Da dies während der Laufzeit des vorliegenden Projekts noch nicht realisierbar war, wurden ab 2016 die Kreuzungspflanzen vorerst im Topf im Außenbereich unter natürlichem Licht angezogen (Abb. 1).

3.1.2 Durchführen von Kreuzungen

In der Arbeitsgruppe der LfL war zu Projektstart keine Erfahrung zur Durchführung von Kreuzungen bei der Sojabohne vorhanden. Daher wurden 2015 und 2016 die Landessaatzuchtanstalt der Universität Hohenheim und Agroscope (Schweiz) besucht, um eine Einweisung in die dort praktizierte Technik zu erhalten.

Zum Üben und für die Etablierung der aufwändigen und Erfahrung benötigenden Kreuzungstechnik wurden im ersten Schritt aktuell zugelassene Sorten mit guter Blütenausbildung verwendet. Nach dem Aufbau einer gewissen Kreuzungsroutine wurden 2017 erste gezielte Kreuzungen durchgeführt. Es stellte sich heraus, dass die Herstellung von Kreuzungen bei Sojapflanzen technisch aufwendiger ist als vorhergesehen und vom Personal nur mit viel Erfahrung zu handhaben ist. Durch ein 2017 gestartetes separates Projekt (BayStMELF; FKZ E/17/03), das sich der Optimierung der Kreuzungstechnik bei Sojabohne und Lupine widmet und eine zusätzliche Arbeitskraft bereitstellt, war es möglich 2017 die Kreuzungsarbeiten zu intensivieren und 2018 fortzuführen.

Beim Kreuzen von Sojabohnen ist unter anderem der richtige Zeitpunkt der Kastration der Blüten entscheidend um eine vorherige Selbstung durch bereits reifen Pollen zu verhindern, denn bereits in der noch geschlossenen Knospe kann die Befruchtung stattfinden (ausgeprägte Kleistogamie). In diesem frühen Stadium sind die Blütenorgane noch sehr empfindlich und können leicht beschädigt werden, was u. U. zur Folge hat, dass keine Hülse oder Körner gebildet werden. Die Anzucht der Kreuzungspflanzen erfolgt mehrmals zeitversetzt um kontinuierlich kreuzen zu können und Sortenunterschiede abzudecken. Die gekreuzten Knospen müssen markiert und der freiliegende Fruchtknoten geschützt werden, z. B. durch Watte (Abb. 1). Um die Kreuzungsarbeiten durchführen zu können wird eine ruhige Hand, eine filigrane Pinzette, Fingerfertigkeit, gute Sehkraft und eine gezielte Beleuchtung (schwenkbare Tageslichtlampe), sowie eine zusätzliche optische Vergrößerung (Lupe) benötigt.

Aus denen im Sommer 2016 durchgeführten 22 Kreuzungen konnten drei Hülsen geerntet, aber aus den sehr kleinen Kreuzungskörnern keine Pflanzen herangezogen werden. Von den 67 Kreuzungen, die 2017 durchgeführt wurden, konnten zwei Hülsen aus zwei verschiedenen Kreuzungen geerntet werden. Aus einem der Kreuzungskörner konnte eine Pflanze gezogen und auch Blattmaterial für eine anstehende DNA-Analyse genommen werden. Die Analysen zum Kreuzungsnachweis werden im Rahmen des separaten Kreuzungsprojektes fortgeführt werden.



Abb. 1: Anzuchtbereich der Kreuzungspflanzen im geschützten Außenbereich; mit Watte geschützte bearbeitete Knospe; gut ausgebildete Blüten an Feldpflanzen (bereits zu weit entwickelt zum Kreuzen)

3.2 Kältetoleranz (AP2)

Zur Charakterisierung des Zuchtmaterials bezüglich Kühletoleranz wurden 2015, 2016 und 2017 Versuche mit Kühlestress in den zwei an der LfL vorhandenen Klimakammern (Abb. 2), sowie 2016 und 2017 ein Feldversuch am Norddeutschen Standort Ranzin (Mecklenburg-Vorpommern) des Verbundpartners Saatzucht Streng-Engelen durchgeführt.



Abb. 2: Klimakammern an der LfL in Freising mit automatischer Temperatur und Licht-Regelung

3.2.1 Kühle zur Blüte

Durchführung

Grundlage für die Tests unter kontrollierten Bedingungen (Klimakammer) war dabei die Methode von Balko et al. (2014). Hierbei werden die Pflanzen bei 25° mit 5°C Nachtabsenkung angezogen und ab Blühbeginn für eine Dauer von drei Wochen einem Kältestress bei 15° tagsüber und 10°C nachts ausgesetzt. Die Kontrollpflanzen werden parallel bei 25°C weiterkultiviert. Die Abreife erfolgt ebenso bei 25°C. Um einen möglichst gleichmäßigen Blühbeginn für alle Genotypen zu erreichen, betrug die Tageslänge in der Anzuchtphase 10h, später wurde die Tageslänge auf 12h ausgedehnt. Zur Bestimmung der Kühletoleranz wurden die an den einzelnen Nodien angesetzten Hülsen nach dem Kältestress und zur Abreife gezählt. Um den Durchsatz zu erhöhen erfolgte die Abreife nach dem Ende der Kühlestressphase in der Regel im Gewächshaus.

Zur Etablierung der Methode an der LfL wurde zum Ende des ersten Projektjahres in einem ersten Kühletoleranzversuch (T-I) das Verhalten der vier Sorten Merlin (000), Amarok (000), Aveline (000/00) und Primus (00) beobachtet. 2016 wurden die ersten 18, aus Kreuzungsnachkommenschaften selektierten, Linien zusammen mit den Vergleichssorten Merlin und Malaga (sensitiv) mit der oben beschriebenen Methode getestet und bonitiert (T-II). Im weiteren Projektverlauf wurden sechs weitere Kühletoleranztests mit später selektierten Linien durchgeführt (T-III bis T-VIII). Die mitgeprüften Vergleichssorten wurden mit ES Mentor, Amarok, Fiskeby V und später SY Eliot, Sultana, Protibus, Opaline und Galice ergänzt. Ab dem Versuch T-III wurde die Topfgröße verkleinert und die Anzahl an Wiederholungen pro Genotyp und Versuchsvariante (Kühlestress, Kontrolle) von drei auf fünf erhöht. Es wurden je nach erwarteter Keimfähigkeit 3-5 Körner pro Topf ausgesät und die kräftigste Pflanze davon weiterkultiviert bzw. nach Anzucht in Multitopfplatten (zur Vermeidung von Ausfällung durch Keimverlust) pikiert. Zur Stabilisation der sehr langen Pflanzen dienten Holzstäbe und Pflanzenclips (Abb. 3).

Zur Besichtigung der Kühletoleranztests am Julius-Kühn Institut und Erfahrungsaustausch mit Frau Dr. Balko, welche die angewandte Methode entwickelt hat, fand am 23.9.2016 eine Exkursion von Mitarbeitern der LfL-Arbeitsgruppe nach Groß Lüsewitz ans Julius Kühn-Institut (JKI) statt.

Eine Liste der durchgeführten Kühletoleranzversuche in der LfL-Klimakammer und des geprüften Materials ist im Anhang zu finden (Tab. 10). Insgesamt wurden acht Kühletoleranzversuche durchgeführt, wovon einer aufgrund von mangelnder Saatgutqualität und ein weiterer aufgrund technischer Probleme und deren negativer Folgen auf das Wachstum der Pflanzen abgebrochen bzw. wiederholt wurden. Neben den zehn Sorten (Tab. 1), die als Vergleich dienen sollten, wurden Daten zum Hülsenansatz unter Kühlestress von insgesamt 83 der 100 Prüflinien, welche für die Ertragsprüfung 2017 auf dem Feld angebaut wurden, gesammelt.

Tab. 1: In den Kühletests verwendete Vergleichs- bzw. Elternsorten mit der Einschätzung zur Kühlereaktion aus Literatur und persönlichem Kontakt

Nr.	Sorte	Gesammelte Einschätzungen (kein eigenes Versuchsergebnis)
1	Malga	sensitiv
2	Merlin	tolerant / mäßig tolerant
3	ES Mentor	mäßig tolerant
4	Amarok	tolerant
5	Fiskeby V	tolerant
6	SY Eliot	
7	Sultana	
8	Gallec	tolerant
9	Protibus	sensitiv
10	Opaline	tolerant

Die eindeutige Einordnung der Sorten in sensitiv, mäßig-tolerant und ausgeprägt-tolerant war vorab durch Literaturrecherche, persönliche Kontakte zu anderen Forschungseinrichtungen bzw. Züchtern (JKI, Agroscope) nicht immer eindeutig möglich, da in den wenigen Versuchen zu diesem Thema unterschiedliche Sorten und Methoden verwendet wurden (Tab. 1). In den eigenen Versuchen konnten keine eindeutigen Beobachtungen gemacht werden, die eine vergleichende Einordnung zulassen.



Abb. 3: Sorten im ersten Kühletest 2015 und Linien der Ertragsprüfung im Test 2017

Ergebnisse und Beobachtungen

Die durchgängig niedrigeren Temperaturen in der Kühle-Variante führten zu einer deutlichen Entwicklungsverzögerung bei diesen Pflanzen im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle, der sich bis zur Abreife fortsetzte. Generell waren die Unterschiede im Wuchs bei den einzelnen Pflanzen auch innerhalb der Genotypen unerwartet groß.

Die Gegenüberstellung des Hülsenansatzes der vier Sorten im ersten Kühletest (2015/16) zeigt Unterschiede in der Verteilung der Hülsen zwischen Kühlestressvariante und Kontrolle, lässt aber keine eindeutige Aufteilung der Sorten in eine kühle-sensitive und kühle-tolerante Gruppe zu. Die Pflanzen in diesem Versuch bildeten aufgrund der langen Tageslänge von 16h sehr viele Verzweigungen und blühten nach dem Ende der Kühleperiode vermutlich durch die anschließende Kultur im Gewächshaus mit natürlicher Tageslänge noch sehr lange bis die Abreife begann. Bei den anschließenden Versuchen mit verkürzter Tageslänge von 10 bzw. 12h blieben die Pflanzen etwas kompakter, wenn auch nicht vergleichbar mit Pflanzen auf dem Feld.

Balko et al. (2014) teilen die in ihren Kühletoleranzversuchen untersuchten Sorten in vier Typen ein: (i) sensitive Typen wie die Sorte Malaga, bei der es nach dem Stress zu keiner nennenswerten Kompensation an späteren Nodien kommt, (ii) Typen mit Toleranz im weiteren Sinne, die hauptsächlich an der Triebspitze kompensieren, (iii) Typen mit Toleranz im engeren Sinne, die durch Blüte an den Nebentrieben verlorene Blüten kompensieren und (iiii) tolerante Typen wie die Sorte Merlin, bei denen der Hülsenansatz durch den Kühlestress weniger stark vermindert ist und es daher auch kaum zu einer Kompensation kommt, sowie die Reife nicht verzögert wird.

Wird die Hülsenverteilung des vorliegenden Materials zum Ende der Stressphase und zur Abreife betrachtet, lassen sich die von Balko et al. (2014) beschriebenen Typen in Einzelfällen wiederfinden. In den nachfolgenden Abbildungen (Abb. 4; Abb. 5) sind die Hülsenverteilungen der Vergleichssorten des Kühletests T-IV erfasst zum Ende der Kühlephase und zur Reife dargestellt. Die als kühle-sensitiv geltende Sorte Malaga zeigt hier, übereinstimmend mit den Beobachtungen von Balko et al. (2014), einen stark verminderten Hülsenansatz durch den Kühlestress. Malaga bildet jedoch nach der Stressphase bis zur Reife sowohl an den unteren Nodien, als auch an der Triebspitze vermehrt Hülsen aus, was die Reaktion einer Kompensation ist und in den Versuchen von Balko et al. nicht beobachtet wurde. Übereinstimmend mit Malaga verhält sich in diesem Versuch die Sorte Amarak. Bei der Sorte Merlin fällt im Vergleich dazu auf, dass der Hülsenansatz durch den Kühlestress deutlich weniger stark verringert ist, was mit den Beobachtungen von Balko et al. übereinstimmt. Die Kompensation nach der Kühlephase fällt bei dieser als tolerant bis mäßig tolerant beschriebenen Sorte dennoch unerwartet hoch aus. Die Sorte Fiskeby V verhält sich übereinstimmend mit Merlin, wobei in diesem Versuch die Kompensation an der Spitze des Haupttriebes stärker ausfällt, was nach Balko et al. für eine geringere Toleranz spricht. Die untersuchten Prüflinien verhalten sich ebenso nicht eindeutig was den Rückgang im Hülsenansatz durch den Kältestress und die Ausprägung und die Position der Kompensation nach dem Stress betrifft. Einige Prüflinien zeigen Tendenzen, die auf eine höhere Kühlestress-Toleranz hindeuten können (Graphiken dazu im Anhang unter Abb. 38 und Abb. 39).

Eine eindeutige Einteilung der Prüflinien in sensitiv, mäßig tolerant und ausgeprägt tolerant zur Selektion oder gar Markerentwicklung ist somit durch die hierbei im Versuch generierten Daten nicht möglich. Die Identifikation hoch sensibler Linien könnte machbar sein, bei entsprechender mehrfacher Wiederholung der Kühletests. Da die Pflanzen bei der Kultivierung in den Klimakammern im Vergleich zur Kultur unter natürlichem Licht sehr lang Triebe bildeten, könnte eine Erhöhung der

Lichtintensität durch eine weitere Optimierung der Belichtung bessere Ergebnisse bringen. Da zudem beobachtet wurde, dass je nach Jahreszeit und damit verbundener Tageslänge die Pflanzen mit unterschiedlich starkem Blühen während der Abreifephase im Gewächshaus reagieren, wird empfohlen die Pflanzen zur Abreife weiter unter kontrollierten Bedingungen zu halten bzw. den Versuch bevorzugt im Frühjahr durchzuführen. Im Rahmen dieses Projektes war dies durch die begrenzte Kapazität in den Klimakammern kombiniert mit der begrenzten Projektlaufzeit nicht möglich.

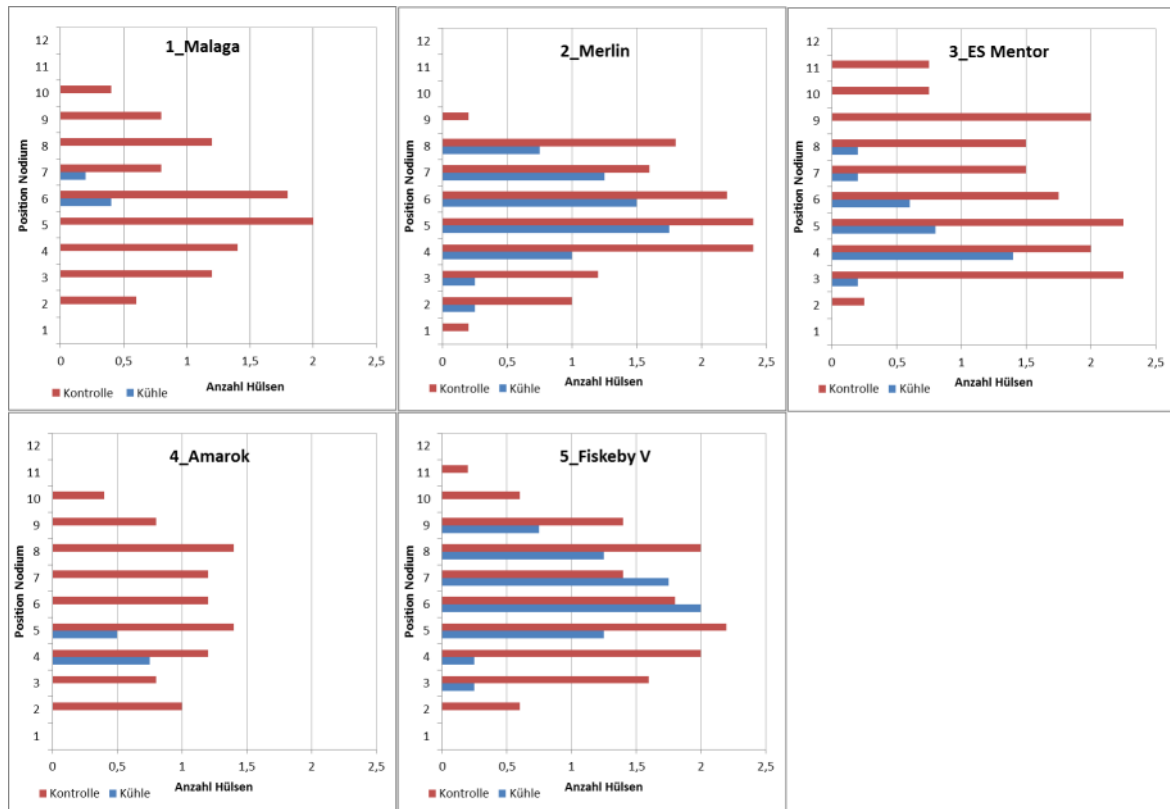


Abb. 4: Mittlere Hülsenanzahl der Kühle- und Kontroll-Variante an den verschiedenen Nodien bei den Vergleichssorten Malaga, Merlin, ES Mentor, Amarok und Fiskeby V im Kühletest T-IV am Ende der Kühlephase

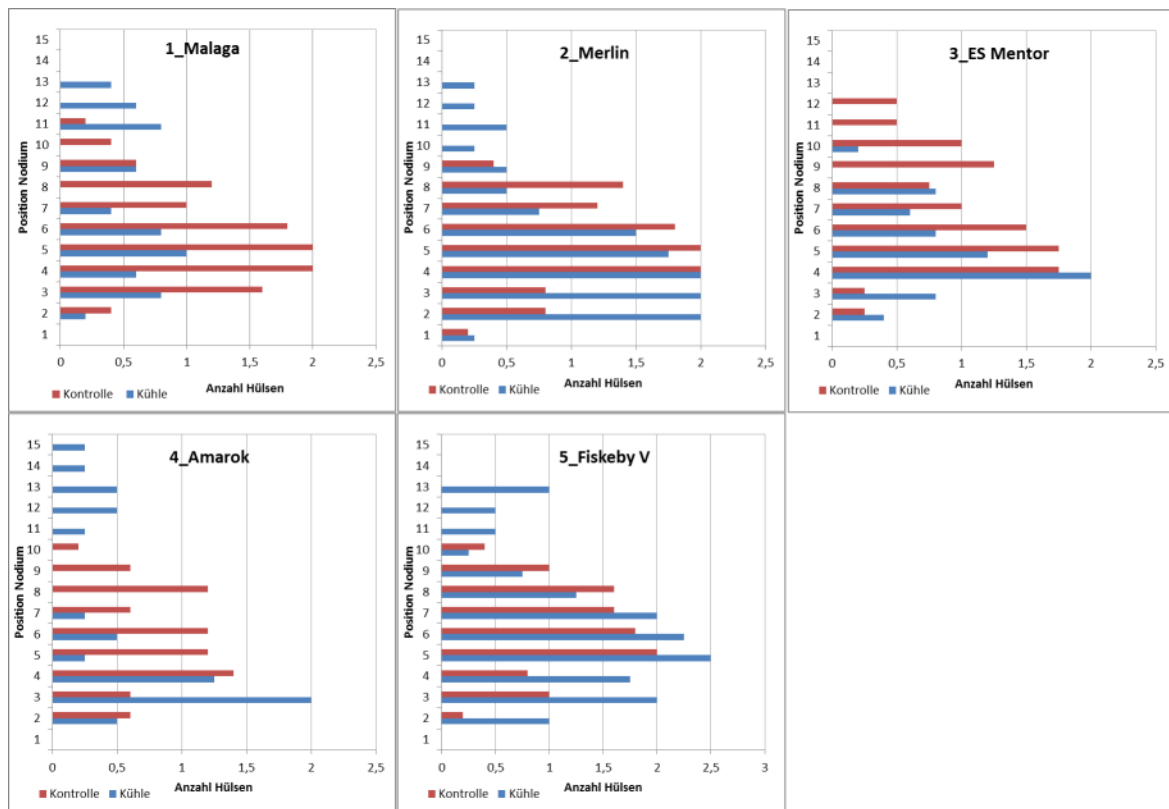


Abb. 5: Mittlere Hülsenanzahl der Kühle- und Kontroll-Variante an den verschiedenen Nodien bei den Vergleichssorten Malaga, Merlin, ES Mentor, Amarak und Fiskeby V im Kühletest T-IV zur Reife

3.2.2 Feldversuch Ranzin

2016 wie auch 2017 wurde mit den 100 Versuchsgliedern inklusive fünf Vergleichssorten analog zur Leistungsprüfung am Standort Ranzin ein Feldversuch mit Mikroparzellen und zwei Wiederholungen angelegt. Durch die kühleren Witterungsbedingungen in Norddeutschland in Kombination mit einem frühen Saattermin (Ende März/Anfang April) sollen Kühlestressbedingungen erreicht werden, die Rückschlüsse auf eine Kühletoleranz der Linien zulassen.

Im Versuch 2016 konnten durch einen späten Saattermin Anfang Mai (Saatgutlieferung aus Costa Rica war verzögert) und das Ausbleiben eines relevanten Kühle-Ereignisses keine aussagekräftigen Ergebnisse erwartet werden. Der Versuch wurde beerntet, die Pflanzenzahl zu Versuchsbeginn, sowie der Kornertrag ermittelt. Durch den häufig sehr geringen Aufgang der in Costa Rica vermehrten Prüflinien, der ausschließlich auf die Saatgutqualität zurückgeführt wird, ist der Versuch nicht wertbar.

Der Versuch konnte 2017 mit aktualisiertem Zuchtmaterial am 31. März und damit früher als im vorhergehenden Jahr gesät werden. Das Datum Blühbeginn der Vergleichssorten wurde erfasst, sowie zur Erntereife bei allen Prüfgliedern an jeweils sechs Einzelpflanzen einer Wiederholung die Anzahl Hülsen pro Nodium bestimmt.

Aufgrund der trockenen Witterung verzögerte sich das Auflaufen der Sojabohnen im Versuch 2017 bis in den Mai hinein, wodurch der durch eine frühe Saat erwünschte Entwicklungsvorsprung mit früherer Blüte nicht zustande kam. Der Blühbeginn bei den Vergleichssorten lag zwischen dem 26. und 30. Juni, wobei Merlin als erste Sorte und SY Eliot als letzte mit der Blüte begann. Laut der manuell erfassten Wetterdaten zu minimaler und maximaler Lufttemperatur am Versuchsfeld in Ranzin gab es seit Anfang Mai keine Tage mit Temperaturen unter 10°C. An vier Tagen Ende Juni bis Anfang Juli

wurde als Minimum-Temperatur ein Wert von 11,0 bzw. 11,5 °C erfasst. Ob diese Kühle bereits ausgereicht hat um Blütenfall zu verursachen ist fraglich.

Die Bonitur des Hülsenansatzes der Vergleichssorten zeigte keine auffälligen/messbaren Lücken an einzelnen Nodien (Abb. 6), die auf einen Abwurf von Blüten oder Hülsen schließen lassen. Die als sensitive Sorte mitgeprüfte Malaga zeigte im Versuch die geringste Gesamtzahl an Hülsen pro Pflanze und wies eine abweichende Verteilung im Vergleich zu den anderen Sorten auf. Da nicht alle Ergebnisse der geprüften Linien dargestellt werden können, ist stellvertretend in der Abbildung Abb. 6 jeweils die Linie mit der niedrigsten (Anbaunummer 238) und höchsten (Anbaunummer 148) mittleren Gesamtzahl an Hülsen pro Pflanze dargestellt, um die Spanne abzubilden. Genauso wie bei den Sorten konnte auch bei den Prüflinien keine Nodien mit auffällig reduziertem Hülsenansatz beobachtet werden. Anhand der Daten der Feldversuche kann damit keine Aussage über eine Kühltoleranz der Prüflinien gemacht werden.

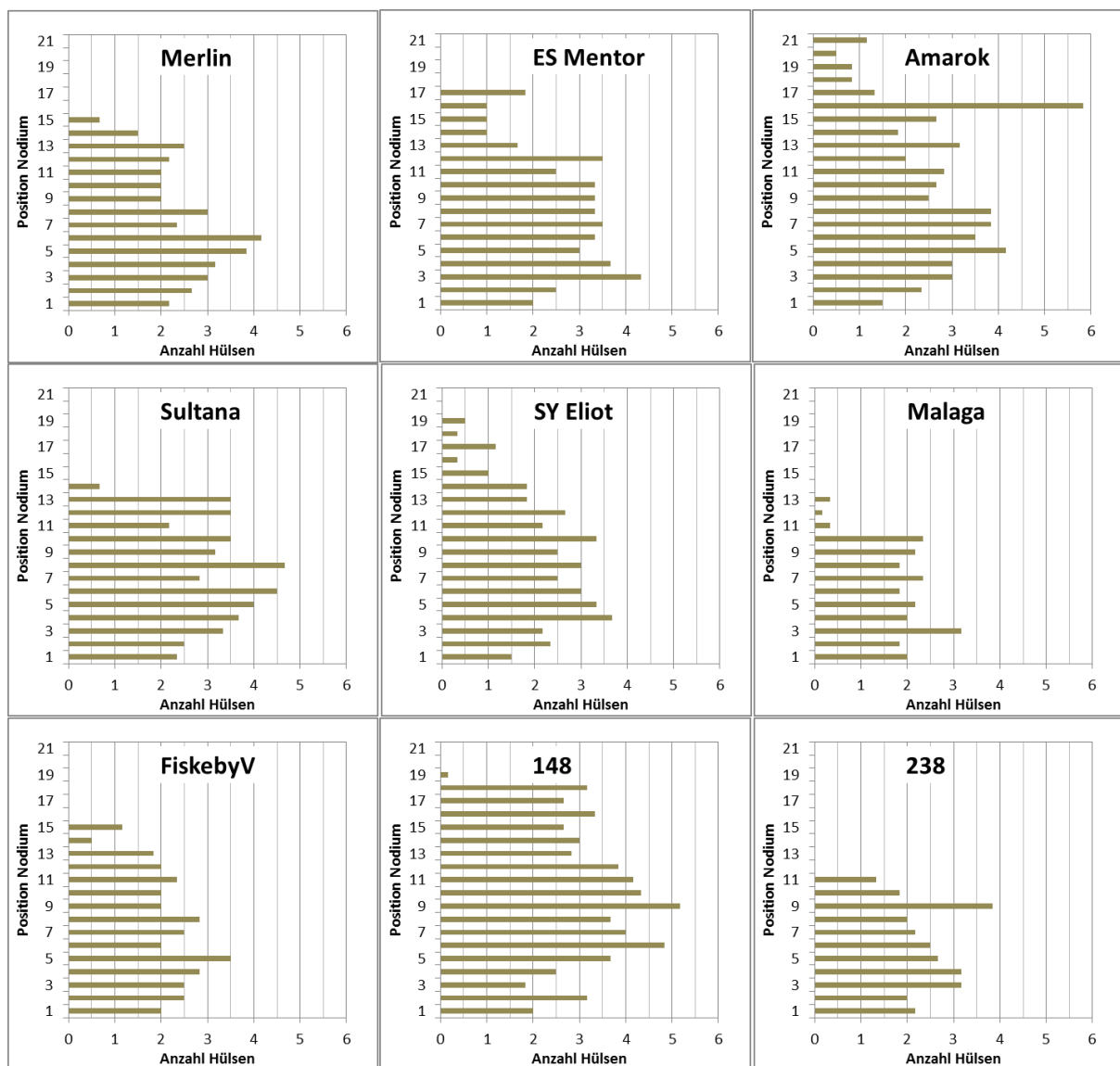


Abb. 6: Mittlere Hülsenanzahl der Vergleichssorten Merlin, ES Mentor, Amarok, Sultana, SY Eliot, Malaga Fiskeby V und zweier Prüflinien an den verschiedenen Nodien im Feldversuch in Ranzin zur Reife

3.2.3 Kühle zum Auflaufen

Die Literaturrecherche besagt, dass keimende Sojabohnen je nach Stadium Fröste von -3 bis -7°C unbeschadet überstehen können. Besonders empfindlich reagieren die Keimlinge im Stadium, wenn sie gerade die Bodenoberfläche durchstoßen (BBCH 8). Ab dem ersten Laubblatt (BBCH 11) steigt die Frosttoleranz dann deutlich an. Für den Versuchsaufbau stand in diesem Temperaturbereich an der LfL-IPZ neben der Klimakammer (Minimumtemperatur 4°C) und Probengefrierschränken (-20°C) ausschließlich eine Kältekammer (Minimumtemperatur 2°C) zur Verfügung. Im ersten Versuch mit 8 Sorten wurden dabei jeweils 3 Töpfe á 3 Keimlingen pro Sorte ab BBCH 8 bis BBCH 11 mit Kältestress von 2°C für täglich 6h behandelt (manuelle Temperatur- und Licht-Regelung). Die getesteten Sorten waren Amarak, Aveline, ES Mentor, Merlin, Protibus, Sultana, SY Eliot und Tourmaline.

Im Versuch mit acht Sorten zeigte, während oder nach der Kältephase von 2°C, keine der Sorten in keinem Stadium des Aufgangs Symptome von Kältestress (z. B. Vergilbungen oder Verkrüppelungen) an den Keimlingen (Abb. 7).



Abb. 7: Keine sichtbaren Kälteschäden an den Keimlingen am Ende des Tests zu BBCH 11.

3.3 Selektion und Prüfung von Zuchtmaterial (AP3)

3.3.1 Beobachtungsanbau (TA1)

3.3.1.1 Pflanzenmaterial und Durchführung

Mit dem Ziel verbessertes Zuchtmaterial zu identifizieren wurden jährlich mehrere tausend Nachkommenschaften aus Kreuzungen in der F₄ bzw. F₅-Generation angebaut, beobachtet und selektiert. Dieses Pflanzenmaterial stammt aus Kreuzungen von europäischen und kanadischen Sorten (Liste im Anhang Tab. 9) aus dem frühen und sehr frühen Sortiment und wurde von der LSA Hohenheim bzw. von der LfL dem Projekt zur Verfügung gestellt.

Das genannte Pflanzenmaterial wurde durch die Verbundpartner an je einem Standort pro Partner angebaut. Die Standorte waren (Ober-/Nieder-) Hummel im Landkreis Freising (LfL), Niedertraubling im Landkreis Regensburg (SZ Bauer), Aspachhof im Landkreis Augsburg (SZ Streng-Engelen) und Osterhofen im Landkreis Deggendorf (SZ v. Moreau). Der Anbau der wenigen Körner pro Linien (5 bis 50) erfolgte in Einzel- oder Doppelreihen mit der jeweils vorhandenen Technik oder manuell (Abb. 8). Das Saatgut oder die Anbaufläche wurde mit den entsprechenden Rhizobien (*Bradyrhizobium japonicum*) beimpft, die Unkrautbekämpfung erfolgt chemisch im Voraufbau und mechanisch/händisch im Nachaufbau, zum Schutz vor Wildverbiss diente i. d. R. ein Weidezaun z. B.

mit Elektroanschluss. Die Ernte und Aufarbeitung der selektierten Einzelpflanzen erfolgte manuell und z. T. mit Hilfe von Standdruschmaschinen.



Abb. 8: Blick auf den Beobachtungsanbau mit jeweils zwei Einzelreihen pro Genotyp am Standort Oberhummel am 1. Juli 2016



Abb. 9: Ausschnitt aus dem Beobachtungsanbau mit Reihen von erntereifen Nachkommenschaften aus Kreuzungen der LSA (Mitte) und sehr spät bis nicht abreifenden Genbankkzessionen am 21. September 2015 am Standort Oberhummel

Selektionsziele waren dabei eine frühe (angepasste) Abreife, hohe Standfestigkeit, hoher Kornertrag und hoher Proteingehalt. Aufgrund der geringen Pflanzenzahl pro Linie und der hohen Anzahl an Einzellinien bei dieser ersten Beurteilung des unselektierten Materials lag der Fokus im Beobachtungsanbau auf dem Merkmal Frühreife (Abb. 9).

Bereits im Jahr 2014 hat die LSA (Landessaatzuchtanstalt der Universität Hohenheim) der LfL und jedem der drei beteiligten Zuchtunternehmen 10 Körner von jeweils 964 SSD (Single Seed Descent)-Linien aus ihrem Zuchtprogramm für die Aussaat in einem Vermehrungsanbau zur Verfügung gestellt.

Unter anderem aufgrund von Wildverbiss und Ausfällen im Aufgang, sowie z. T. zu später Abreife (unselektiertes Material) konnte 2014 nur von einem Teil der Linien Körner geerntet werden. Um für den Beobachtungsanbau 2015 genügend Zuchtmaterial zur Verfügung zu haben, wurden einerseits insgesamt weitere 401 Linien von der LSA zur Verfügung gestellt und andererseits auf Linien von Kreuzungsnachkommenschaften des LfL-internen Züchtungsprogramms zurückgegriffen, die außerhalb des Projektes von einem Service Partner in Costa Rica (Costa Rica Seeds) produziert wurden. In den Projektjahren 2016 und 2017 wurde von der LfL jährlich neues Pflanzenmaterial aus Costa Rica bezogen und an die Verbundpartner weitergegeben (Zuchtprogramm siehe 3.3.3).

Im Beobachtungsanbau 2015 wurden bei jedem Projektpartner ca. 900 Linien im Beobachtungsanbau in Reihen angebaut, ergänzt mit den Kreuzungseltern und Standardsorten. Die Nachkommen stammen aus 67 verschiedenen Kreuzungskombinationen. Zu allen Linien wurden Daten zu Blühbeginn, Reife, Pflanzenlänge und Lager erfasst. Die Projektpartner haben insgesamt 100 Linien für die im darauf folgenden Jahr anstehende Ertragsprüfung selektiert, sowie eine individuelle Anzahl weiterer vielversprechender Linien von Hand geerntet, welche sie in Eigenregie weiter bearbeiten um ein eigenes Zuchtprogramm aus- oder aufzubauen.

2016 wurde bei jedem der Verbundpartner mindestens 933 F₄-Nachkommen aus Kreuzungen der Sorte Amarak mit acht weiteren frühreifen Sorten beobachtet, sowie für die folgende Prüfung mindestens 25 Linien pro Verbundpartner selektiert. Die Verbundpartner haben Daten zur Anzahl aufgelaufener Pflanzen, Blühbeginn und Reife erfasst. SZ Streng-Engelen hat zur weiteren Eingrenzung der Selektion bei 150 Linien eine NIR-Messung zu Protein- und Ölgehalt durchgeführt.

Im dritten Jahr des Projektes wurden analog zu den Vorjahren bei jedem Verbundpartner mindestens 987 F₄-Nachkommen aus Kreuzungen unter anderem mit den Sorten Obelix, Eliot, Sultana, Solena und Amarak beobachtet. Aufgrund des sehr hohen Arbeitsaufwandes und der hohen Variabilität innerhalb der Einzelpflanzen, sowie des nicht absehbaren Nutzens für die aktuelle Selektion, wurde beschlossen von der Bestimmung des Blühbeginns und der Pflanzenlänge abzusehen und jedem Verbundpartner die Kriterien für die eigene Selektion selbst zu überlassen.

3.3.1.2 Beobachtungen und Schlussfolgerungen

Die umfangreiche Datenerfassung im Beobachtungsanbau 2015 und 2016 zeigt, dass ein Großteil der beobachteten Nachkommenschaften später abreift als die Kreuzungseltern (Reifegruppen 00 und 000) und damit uninteressant für die Entwicklung früh-reifenden Zuchtmaterials ist (Abb. 10). Als begrenzender Standard für die Reife diente die Sorte ES Mentor (00), die in günstigen Lagen Bayerns erfahrungsgemäß noch sicher zur Abreife kommt. Eine auf frühe Abreife durchgeführte Selektion des Zuchtmaterials lässt sich auch im Folgejahr wiederfinden, wie sich am Beispiel des bereits 2014 erhaltenen Materials der LSA zeigt. Hier wurde durch den Wegfall von nicht erntefähigem Material 2014 bereits ein Großteil der spät-reifen Linien eliminiert, wodurch das Material 2015 im Mittel bereits früher abreift als unselektiertes LfL-Material, welches bisher ausschließlich unter den Bedingungen in Costa Rica angebaut wurde. Das Merkmal Frühreife muss daher vorrangiges Kriterium für eine erste Selektion sein. Hierbei ist der Reifezeitpunkt der Hülsen ausschlaggebend. Eine zusätzliche Betrachtung der Reife der Blätter bzw. des Blattfalls ist nur zu beachten, wenn diese nach der Hülsenreife liegen (Reifeverzögerung Stroh), da bei grünem Stroh der maschinelle Erntevorgang deutlich erschwert werden kann.

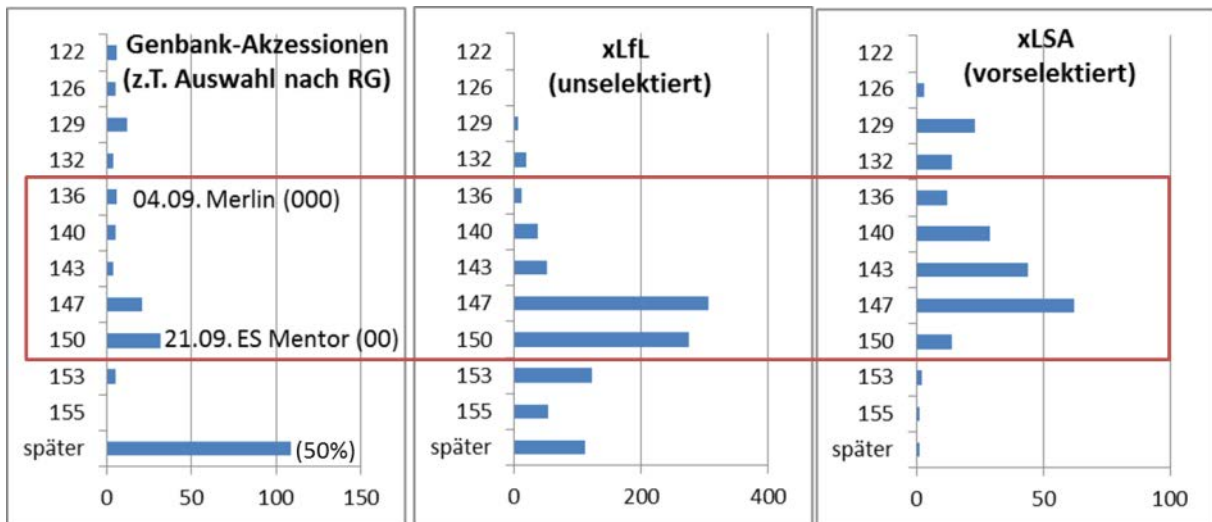


Abb. 10: Verteilungen der Genotypen in der Abreife (Reife Hülsen in Tagen nach der Saat) im Beobachtungsanbau der Lfl in Hummel 2015; links: Genbank-Akzessionen, mittig: Linien von der Lfl, rechts: Linien von der LSA, welche durch einen einjährigen Anbau bereits vorselektiert waren; Rot eingezeichnet ist der gewünschte Reifebereich zwischen der sehr frühen Sorte Merlin und der späteren Sorte ES Mentor

Im Anbau 2015 erstreckte sich der Zeitraum für den Blühbeginn bei den Linien-Nachkommenschaften am Standort Hummel auf vier Wochen. Es zeigte sich keine Korrelation zwischen dem Datum Blühbeginn und dem der Hülsenreife, damit sind Genotypen mit früher Blüte nicht zwangsläufig auch früher erntereif. Zudem ist die Blühbonitur sehr aufwändig und wurde durch Erdanhaftungen z. T. erschwert (Abb. 11), weshalb dieses Merkmal in den Folgejahren nur noch bei den Genbankakzessionen erfasst wurde. Die beobachteten Pflanzenlängen in den Nachkommenschaften spiegelten die Wuchslängen der Elternsorten wieder, in Ausnahmefällen traten auch niedrigere Phänotypen auf. Nur im Jahr 2016 kam es am Standort Hummel vermehrt zu Lager, wodurch nur in diesem Jahr die Standfestigkeit bei der Selektion berücksichtigt werden konnte.



Abb. 11: Bonitur des Datums erste Blüte wurde erschwert durch Erdanhaftung durch Regen auf offenem Boden; bei genaueren Betrachten muss hier bereits der Hülsenansatz festgestellt werden (Hummel 22.6.15)

3.3.2 Ertragsprüfungen von selektierten Linien (TA2)

3.3.2.1 Versuchsaufbau und Durchführung

Im Jahr 2016, sowie 2017 wurde an den Standorten der Verbundpartner jeweils eine gemeinsame Parzellenprüfung einer Auswahl des im Vorjahr selektierten Materials durchgeführt, um belastbare Daten zu Reife, Ertrag und weiteren Wuchs- und Ertragsparametern zu erheben. Ziel dabei war, dass jeder Verbundpartner aufgrund dieser mehrortigen Daten weitere Selektionsentscheidungen auf dem Weg zur eigenen Sojabohnensorte treffen kann.

Die Ertragsprüfungen wurden als randomisierte Blockanlagen mit zwei Wiederholungen angelegt, wobei die fünf Vergleichssorten (Merlin, ES Mentor, Amarak, Sultana, SY Eliot) doppelt angebaut wurden. Die Nettoparzellengröße betrug je nach Standort 5-10m² und der Reihenabstand variierte je nach Standort und damit Aussaattechnik von Getreideabstand (ca. 12,5cm) bis 50cm bei einer Saatedichte von 50 Körnern/m². Standorte und Impfung, Wildzaun sind wie bei 3.3.1 (TA1) beschrieben, mit Ausnahme des Standortes der LfL: hier Standort Frankendorf im Landkreis Erding.

Während des Versuchs wurden Aufgangsdatum, Mängel im Stand bei Aufgang (1-9), Datum Blühbeginn (50% der Pflanzen), Pflanzenlänge, Reifedatum Blätter und Hülsen (jeweils 90% reif), Mängel im Stand bei Reife (1-9), Lager bei Reife (1-9) bonitiert bzw. gemessen.

Zur Bestimmung des Kornertrags wurden die Parzellen mit Parzellenmähdreschern zur Druschreife geerntet, bei Bedarf zu zwei Terminen (Tab. 2). Der Trockensubstanzgehalt im Korn zur Ernte, sowie das Tausendkorngewicht (TKG) wurden bestimmt. Für die weiteren Berechnungen wurde ein Kornertrag relativiert auf 86% Trockensubstanz verwendet. An einer Kornprobe (Mischprobe pro Versuchsglied) wurden im Futtermittellabor der LfL bzw. an bei den Züchtern vorhandenen Geräten Amino-NIR-Messungen durchgeführt. Die Angaben zu Protein-, Fettgehalten und weiteren Inhaltsstoffen beziehen sich auf 100% Trockenmasse.

Tab. 2: Saat und Erntetermine an den Standorten der Ertragsprüfung 2016 und 2017

	Frankendorf	Osterhofen	Niedertraubling	Aspachhof
Saat 2016	22. Apr*	10. Mai	22. Apr	29. Apr
Ernte 2016	28. Sept/ 12. Okt**	27. Sept	-	17. Okt
Saat 2017	11. Mai	19. Mai	18. Mai	11. Mai
Ernte 2017	18. Okt	12. Okt	26. Sep	17. Okt

* Saat aufgrund technischer Probleme an weiteren Tagen abgeschlossen;

** Ernte an zwei Terminen durch Reifeunterschiede im Material notwendig

Grundlage für die Ertragsprüfung 2016 war eine Winterzwischenvermehrung 2015/16 der 100 für die Ertragsprüfung bei den Züchtern und LfL selektierten Sojalinien bei Costa Rica Seeds (CRS). Der Service Partner lieferte von einem Großteil der Linien aus dem Projekt nicht ausreichend Saatgut für eine Prüfung an allen Standorten, so dass nur wenige Linien an vier Standorten geprüft werden konnten und zur Ergänzung Material aus den LfL-internen Arbeiten (ebenfalls vermehrt über CRS) mit in den Versuch eingeflossen ist um an jedem Standort, wie geplant, 100 Linien zu prüfen. Aufgrund von stark verminderter Keimfähigkeit/Triebkraft war der Aufgang des zwischenvermehrten Materials meist sehr mangelhaft (Abb. 12) und dadurch die Prüfungen nicht wertbar. Eine Beerntung und eingeschränkte Bonitur wurde dennoch durchgeführt und gab wertvolle Hinweise für eine Neuaufstellung der Prüfung im Folgejahr. Von einer nochmaligen Nutzung der kostenintensiven Wintervermehrung bei Costa Rica Seeds wurde im Projekt abgesehen und beschlossen, die

Vermehrung selbst zu übernehmen. Hierdurch verlängert sich der Zuchtgang allerdings um ein Jahr, es besteht aber eine Möglichkeit zur weiteren Selektion des Materials unter bayerischen Klimabedingungen.



Abb. 12: Ertragsprüfung 2016 am Standort Frankendorf mit starken Mängeln im Aufgang bei den meisten Zuchtstämmen (mitte 31.5., rechts 18.07.) im Vergleich zu den Vergleichssorten (links 18.7.), deren Saatgut nicht in Costa Rica vermehrt wurde

Das Pflanzenmaterial der Ertragsprüfung 2017 ist z. T. interessantes Material aus der Vorjahresprüfung, ergänzt mit Zuchtstämmen, die die Verbundpartner in Eigenregie bereits 2016 vermehrt haben. Jeder Projektpartner hatte die Möglichkeit 25 Prüfplätze mit eigenem Zuchtmaterial zu bestücken. Die Versuche sind an allen Standorten wertbar. Die Auswertung erfolgte über Excel (Punktdiagramme, Korrelation) bzw. über SAS (Boxplot, Biplot, Grenzdifferenzen, t-Gruppierung).

Die Wachstumsbedingungen für die Sojabohne waren in Bayern 2016 und 2017 relativ gut. In beiden Jahren folgte auf eine Frühjahrstrockenheit im April eine Periode von kühl-feuchter Witterung, die bei empfindlichen Genotypen oder mangelnder Saatgutqualität zu Schwierigkeiten beim Auflaufen führte. Durch eine frühe Saat konnte somit kaum ein Vorsprung in der Entwicklung erzielt werden. 2016 folgten im Juni zum Teil sehr ergiebige Niederschläge und die Temperaturen stiegen auf hochsommerliches Niveau. Der Sommer 2016 war sehr wechselhaft mit häufigen Gewitterschauern, so dass lageranfällige Genotypen bereits früh ins Lager gingen. Ende August stabilisierte sich die warme und trockene Spätsommerwitterung und hielt mit kurzen Unterbrechungen bis Ende September, so dass die Sojabohne gut ausreifen konnte. In 2017 ist der Sommerauftakt im Juni hingegen von Trockenheit geprägt, durchzogen mit einzelnen Gewittern, die an einigen Orten auch zu Hagelschlag führten. Der Juli zeigte sich wechselhaft, im August stabilisiert sich dann die warme Hochsommerwitterung. Auch 2017 war der September sehr sonnenreich und begünstigte die Abreife (Abb. 13).

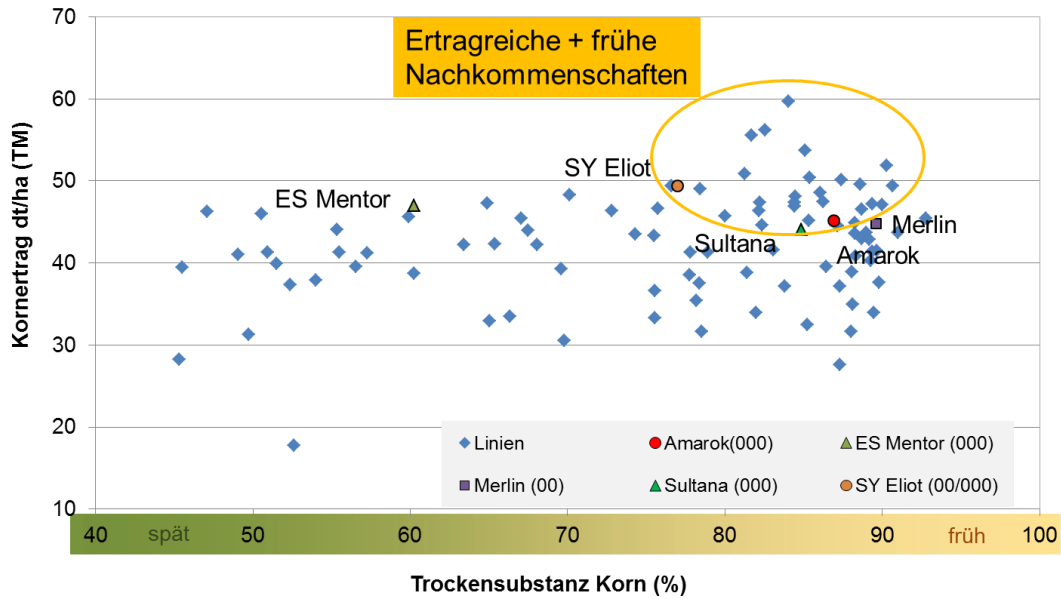


Abb. 14: Mittlere Kornerträge und Trockensubstanzgehalte (TS) der Prüflinien und Vergleichssorten in der Ertragsprüfung 2016 am Standort Osterhofen; die Linien im markierten Bereich sind aufgrund der frühen Reife (hohes TS) und überdurchschnittlicher Kornerträge interessant für die weitere Züchtung

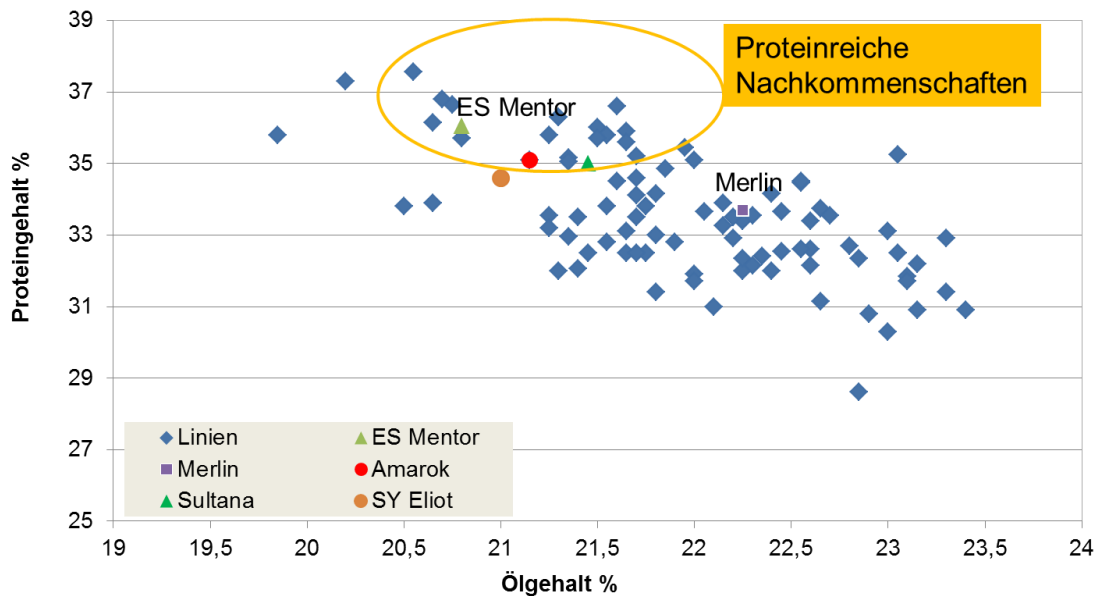


Abb. 15: Mittlere Protein- und Ölgehalte der Prüflinien und Vergleichssorten in der Ertragsprüfung 2016 am Standort Aspachhof; Linien im markierten Bereich sind aufgrund des hohen Proteingehaltes interessant für die weitere Züchtung

Die Parzellenprüfung 2017 lieferte von allen vier Standorten wertbare Daten zu Ertrag, Futterqualität und Wachstumsparametern. Das Zuchtmaterial zeigte eine große Bandbreite in den Merkmalen und ermöglichte individuelle Schwerpunkte der Verbundpartner bei der Selektion. Das Zuchtziel hoher Ertrag bei frühzeitiger Reife wurde erreicht, da einige Linien mit hohen Erträgen ähnlich ES Mentor (00) bei gleichzeitig früherer Abreife identifiziert werden konnten, welche für weitere züchterische Bearbeitung bzw. Sortenanmeldung in Frage kommen. Das von der LfL selektierte Material wurde im Rahmen der Vereinbarungen der LfL mit der Bayerischen Pflanzenzuchtgesellschaft (BPZ) zur Abgabe an die Projektpartner bzw. BPZ-Mitglieder angeboten und es wurden insgesamt 32 Zuchtstämme abgegeben. Dabei waren nicht nur der Kornertrag und eine frühe Reife entscheidend, sondern es wurde auch der Proteingehalt berücksichtigt, der mittels NIRS von allen Stämmen und an allen Standorten bestimmt wurde. Auch im Proteingehalt konnten im Zuchtmaterial im Vergleich zur proteinreichen Sorte ES Mentor, standortabhängig höhere Gehalte (bis +3%) erreicht werden.

Die Prüflinien reagieren an den verschiedenen Versuchsorten z. T. unterschiedlich, zudem ist das erreichte Niveau von Ertrag, Proteingehalt und Verhalten in der Reife standortabhängig verschieden.

Im Kornertrag wird am Standort Frankendorf mit 44dt/ha (bei 14% Feuchte) der höchste mittlere Wert erreicht. Osterhofen und Aspachhof folgen mit 39 bzw. 38dt. Der Versuch in Niedertraubling erreicht das niedrigste mittlere Ertragsniveau (33dt/ha), wurde allerdings als einziger Versuch noch im September geerntet. Im Niveau der Proteingehalte (Abb. 16) findet sich diese Reihenfolge der Standorte in ähnlicher Weise wieder, ebenso in den Proteinerträgen (Abb. 17).

Die Hülsevenreife wird am Standort Niedertraubling nach der kürzesten Vegetationszeit, 119 Tage nach Saat, erreicht. Darauf folgt der Versuch am Standort Osterhofen. An den Standorten Frankendorf und Aspachhof wird der Großteil der Prüflinien erst nach über 130 Tagen nach dem Saattermin reif (Abb. 18). Im Tausendkorngewicht fallen die Unterschiede zwischen den Standorten geringer aus, wobei am Standort Osterhofen im Mittel das größte Tausendkorngewicht erreicht wird (188,0g) und am Standort Aspachhof das geringste (179,9g).

Der Blühbeginn, der ausschließlich an den Parzellen am Standort Frankendorf erhoben wurde, beschränkte sich 2017 auf die Tage zwischen dem 20. und 26. Juni. Die Erfassung der Pflanzenlängen zeigte, dass hier innerhalb der Prüflinien eine hohe Variation vorhanden ist. In Frankendorf reichten die Werte von 45 bis 95cm, in Niedertraubling von 60 bis 120cm.

Aufgrund eines stärkeren Sturmereignisses in Verbindung mit heftigen Niederschlägen Anfang Juli ging ein Großteil der Prüflinien an den Standorten Niedertraubling und Osterhofen ins Lager (\emptyset Boniturnote 3,5). An den anderen beiden Standorten trat kein nennenswertes Lager auf.

Als Maß für die Reife angedacht, wurde zur Ernte der Trockensubstanzgehalt (TS) der Körner erfasst. Es zeigte sich allerdings kein Zusammenhang zwischen den TS-Gehalten und dem Reifetermin. Eine Erklärung dafür wäre, dass der Erntetermin durch die breite Streuung der Versuchsglieder in der Hülsevenreife z. T. weit nach dem eigentlichen Reifetermin lag und damit eine Angleichung der TS-Gehalte stattgefunden hat.

Ein positiver Zusammenhang (Korrelation) zeigte sich bei der Verrechnung über alle Orte unter anderem zwischen den Merkmalen Kornertrag und Proteingehalt ($r=0,43$), Kornertrag und dem Zeitpunkt der Blattreife ($0,43$), sowie zwischen Lagerneigung und der Pflanzenlänge ($0,57$). Ein negativer Zusammenhang ergab sich zwischen zunehmender Pflanzenlänge und den Merkmalen

Kornertrag ($r=-0,51$), Proteingehalt ($-0,71$) und Reifezeitpunkt der Blätter ($-0,68$). Langwüchsige Zuchtstämme wurden demnach durchschnittlich früher reif, lieferten aber weniger Körner und Protein. Später abreifende Zuchtstämme erreichten höhere Kornerträge und höhere Proteingehalte.

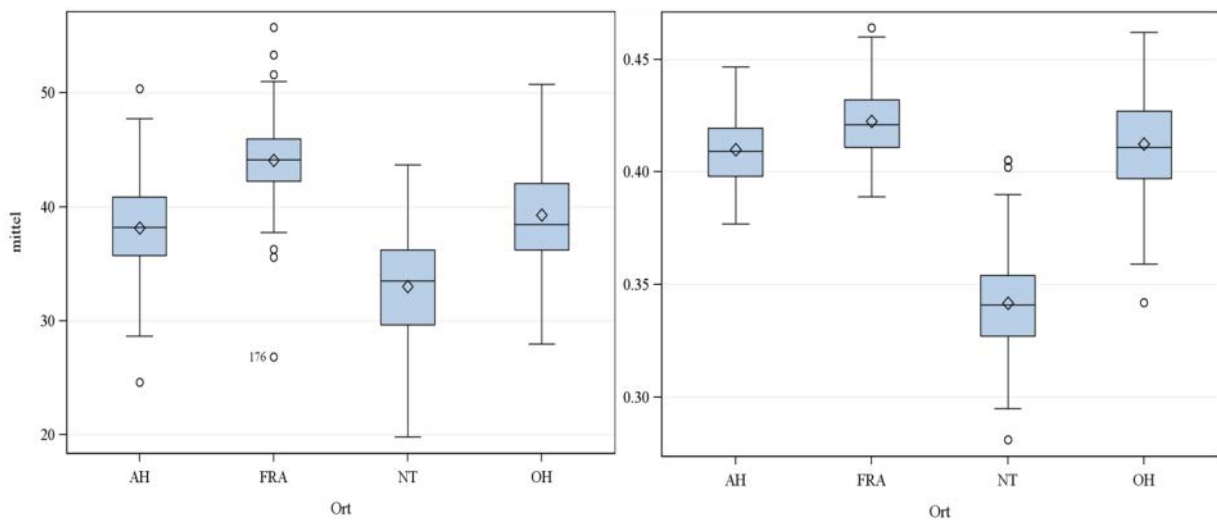


Abb. 16: Boxplot-Darstellungen zur Verteilung (links) der mittleren Kornerträge (dt/ha TM86%) und (rechts) des Proteingehalts (Mischprobe aus Wiederholungen; 0.30=30%) an den vier Versuchsorten Aspachhof (AH), Frankendorf (FRA), Niedertraubling (NT) und Osterhofen (OH)

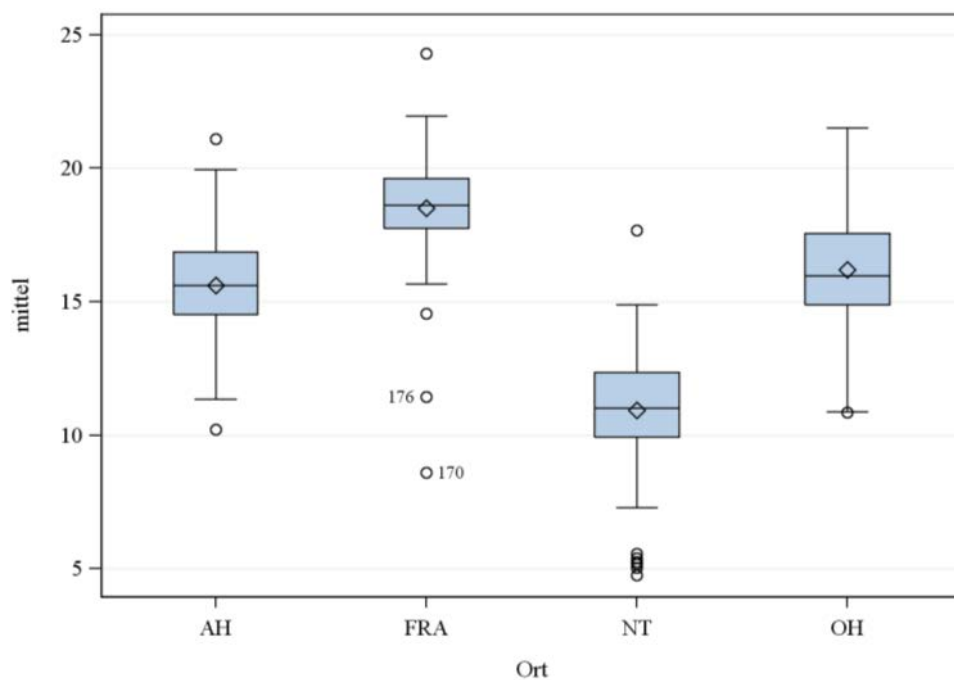


Abb. 17: Boxplot-Darstellungen zur Verteilung der mittleren Proteinerträge (dt/ha) an den vier Versuchsorten Aspachhof (AH), Frankendorf (FRA), Niedertraubling (NT) und Osterhofen (OH)

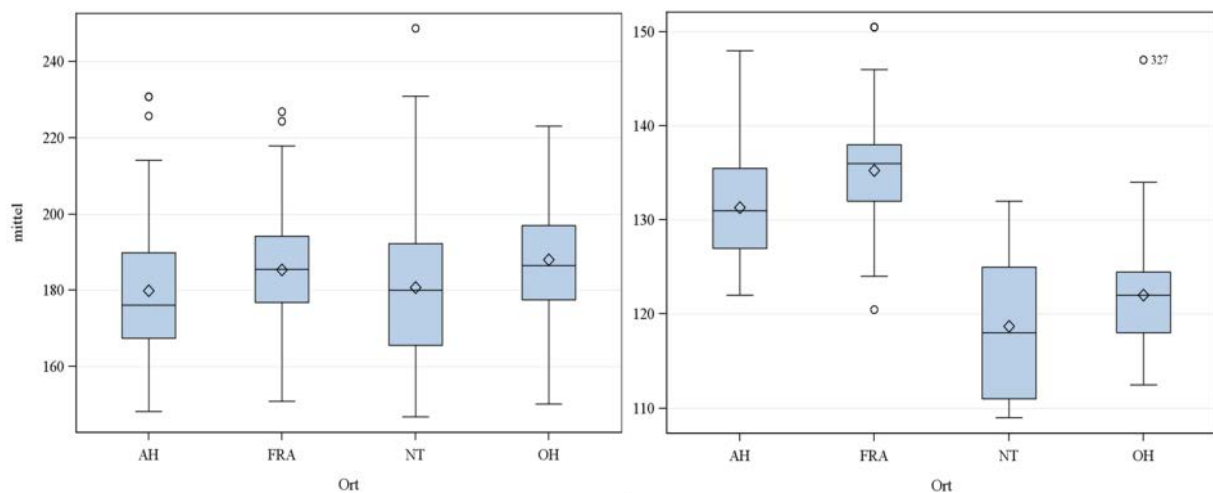


Abb. 18: Boxplot-Darstellungen zur Verteilung (links) des mittleren Tausendkorngewichts (g) und (rechts) der Reife der Hülsen (Tage nach der Saat) an den vier Versuchsorten Aspachhof (AH), Frankendorf (FRA), Niedertraubling (NT) und Osterhofen (OH)

Die Sorten ES Mentor (00) und Merlin (000) wurden neben drei weiteren Sorten als Vergleich für die erfassten Merkmale zu den Prüflinien angebaut und dienten als Rahmen für die Reife. Im Mittel über alle Orte erreichte die Vergleichssorten ES Mentor den höchsten Proteinertrag (18,8 dt/ha) und Merlin den geringsten Proteinertrag (12,0 dt/ha). In der Reife (Hülsen) war im Mittel die Sorte Merlin die früheste (116 Tage nach Saat) und nur wenige Prüflinien reifen später ab als ES Mentor (135 Tage nach Saat). Die Tabellen zu den Mittelwerten und der t-Gruppierung (Mittelwertvergleich im T-Test) aller Versuchsglieder für die Merkmale Proteinertrag und Reife (Hülsen) sind im Anhang zu finden (Tab. 12; Tab. 13), ebenso die geringste signifikante Differenzen zur Bestimmung signifikanter Unterschiede zwischen Prüflinien und Orten aus der Varianzanalyse (GLM, Tab. 11).

Ziel bei der Selektion interessanter Zuchtstämme ist eine vorteilhafte Kombination aus Kornertrag/Proteinertrag und Reife. Bei sehr ertragsstarken Linien (ähnlich ES Mentor) wurde eine deutlich frühere Reife angestrebt, wohingegen bei sehr frühen Linien auf einen gegenüber Merlin verbesserten Ertrag geachtet wurde. Ergänzend zum reinen Kornertrag, wird in der Züchtung zudem vermehrt auf einen hohen Proteingehalt abgezielt. Daher wird in der Sortenentwicklung vermehrt Wert auf das Merkmal Proteinertrag gelegt. Wie die nachfolgenden Darstellungen (Abb. 19 und Abb. 20) zeigen, konnten im untersuchten Prüfmateriale, je nach Schwerpunkt der Züchtung, welcher je nach Verbundpartnern unterschiedlich sein kann, für jedes Zuchtziel geeignete Zuchtstämme identifiziert werden.

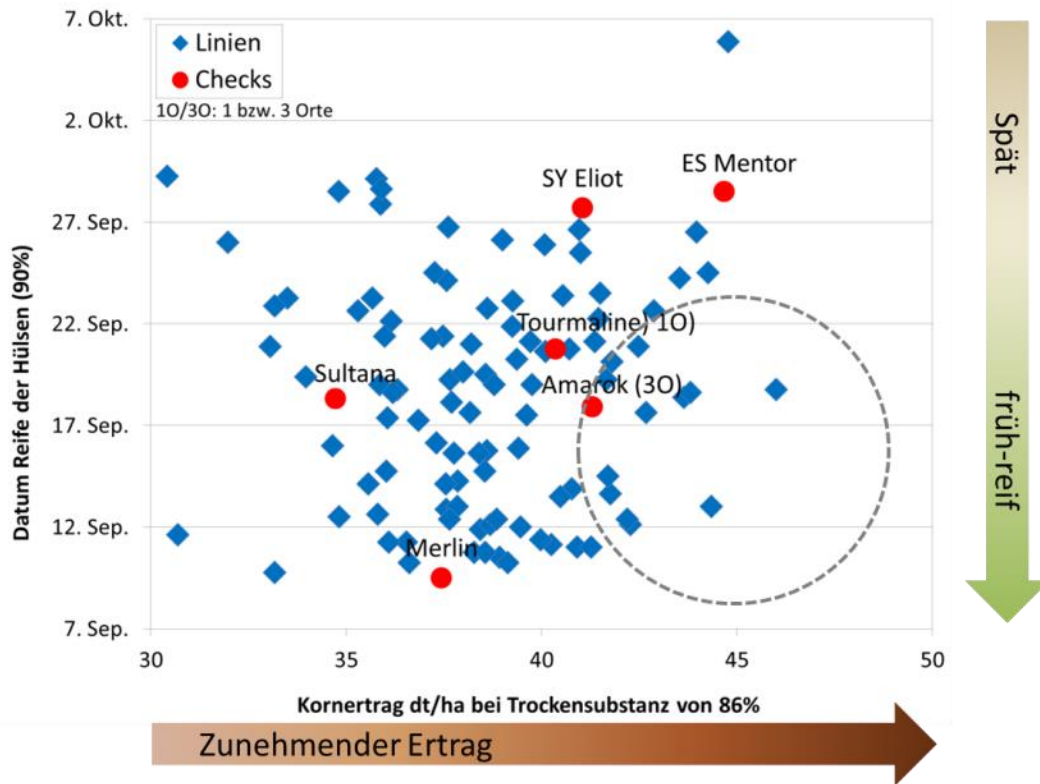


Abb. 19: Mittleres Reifedatum der Hülsen sowie mittlerer Kornertrag der Prüflinien und Vergleichssorten der Ertragsprüfung 2017 an vier Orten; interessant ist der markierte Bereich mit frühereifen und gleichzeitig ertragsstarkem Material

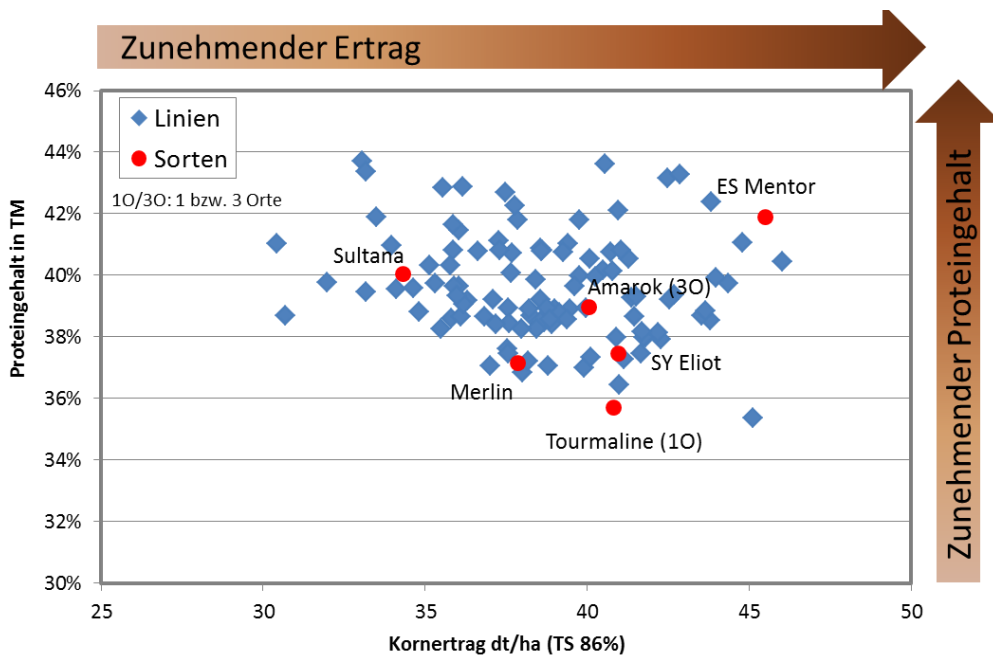


Abb. 20: Mittlerer Kornertrag sowie mittlerer Proteingehalt der Prüflinien (n=100) und Vergleichssorten (n=6) der Ertragsprüfung 2017 an vier Orten



Abb. 21: Ausschnitt aus Parzellen der Ertragsprüfung am Standort Frankendorf in beginnender Abreife am 29. August 2017

3.3.3 Aufbau eines Sojazuchtprogramms bei den beteiligten Verbundpartnern

Ein längerfristiges Ziel dieses Verbundprojektes bestand im Aufbau eines Sojazuchtprogrammes zur Entwicklung von Sorten bei allen beteiligten Züchtungsunternehmen. Dazu gehört der Aufbau von Erhaltungszüchtung und Vorvermehrungen zur Saatguterzeugung für die Anmeldung zur Wertprüfung beim Bundessortenamt, sowie die Etablierung von Vermehrungen zur Erzeugung von Handelssaatgut.

Im Laufe des Projektes hat Saatzucht Bauer ein eigenes Prüfungs- und Vermehrungssystem aufgebaut und laufend optimiert. Dazu zählt auch die Entwicklung und Etablierung einer NIRS-Kalibration für Proteingehalt und Trockensubstanzgehalt an ganzen Körnern zur Nutzung direkt auf dem Mähdrescher. Zurzeit sind von der Fa. Saatzucht Bauer GmbH & Co. KG drei Stämme in der Landwirtschaftlichen Wertprüfung beim Bundessortenamt. Drei Stämme wurden zur Wertprüfung 2017 angemeldet. Zwei Stämme sind 2018 im zweiten Prüfungsjahr, ein Stamm wurde aufgrund von Registerproblemen zurückgezogen. 2018 wurde ein weiterer Stamm neu zur Wertprüfung angemeldet.

Die Freiherr von Moreau Saatzucht GmbH hat in der kurzen Projektlaufzeit ohne vorheriger züchterischer Bearbeitung der Sojabohne bereits im zweiten Projektjahr im erweiterten Beobachtungsanbau in Mikroparzellen aus Einzelpflanzen-Nachkommenschaften die Ertragsleistung getestet und später in der gemeinsamen mehrortigen Prüfung der Projektpartner vielversprechende Stämme selektiert. So wurde in 2017 eine Sorte und 2018 drei Sortenkandidaten zur Zulassung in der europäischen Union angemeldet. Zukünftig ist der Zugang zum Markt auch über das deutsche Wertprüfungssystem vorgesehen.

Bereits vor Projektbeginn hat die Saatzucht Streng-Engelen GmbH & Co. KG erstes Zuchtmaterial der Sojabohne im Unternehmen bearbeitet. Im Rahmen des Projektes wurden die zusätzlichen Ertragsprüfungen und Zwischenvermehrungen weiter ausgebaut. Auch außerhalb Bayerns bestehen hier Kooperationen für Austauschprüfungen von Zuchtmaterial. Die vorhandene NIRS-Kalibration zur Bestimmung von Protein- und Ölgehalten an ganzen Körnern wurde als hilfreiches Werkzeug zur Charakterisierung von Zuchtmaterial etabliert und wird ausgiebig für die Selektion von Zuchtstämmen genutzt.

Die Landesanstalt für Landwirtschaft hat mit Hilfe eines Dienstleisters in Costa Rica (Costa Rica Seeds) ein Zuchtprogramm aufgebaut, das auf Kreuzungen und Weiterführung der Linien über SSD (Einkorn-Ramsch) ohne Selektion bis zur F₅-Generation in Costa Rica basiert (Abb. 22; Abb. 23). 2016 wurde aufgrund einer höheren Saatgutqualität anstatt einer Wintervermehrung in Costa Rica eine eigene jährliche Vermehrung von selektiertem Material an der LfL etabliert, woraus Zuchtstämmen für die Ertragsprüfung im Projekt und eine zusätzliche zweiortige Prüfung gewonnen werden. Von der Kreuzung (in Costa Rica) bis zur Ertragsprüfung werden vier Jahre benötigt. Vielversprechende Zuchtstämmen, die bei der LfL selektiert werden, werden unter Berücksichtigung bestimmter Vereinbarungen über die Bayerische Pflanzenzuchtgesellschaft an interessierte Mitglieder abgegeben. Zur Auswahl von Kreuzungseltern werden an der LfL aktuell die Analyseergebnisse (NIRS) vom angegliederten Futtermittellabor zur Futterqualität genutzt. An einer markergestützten Selektion (MAS) zur Kreuzungskontrolle als auch an züchtungsrelevanten Selektionsmerkmalen wird weiterhin gearbeitet. Das Zuchtprogramm der LfL, das 2015 erstmals Nachkommenschaften zur Beobachtung hervor gebracht hat, findet zur Unterstützung der Bayerischen Pflanzenzuchtbetriebe weiterhin Anwendung.



Abb. 22: Anzucht der F₁-Pflanzen aus den Kreuzungsaufträgen im Topf beim Servicepartner Costa Rica (links) und Saatguttüten mit den F₅-Nachkommenschaften aus SSD, wie sie jeweils im April an die LfL geliefert werden (rechts)

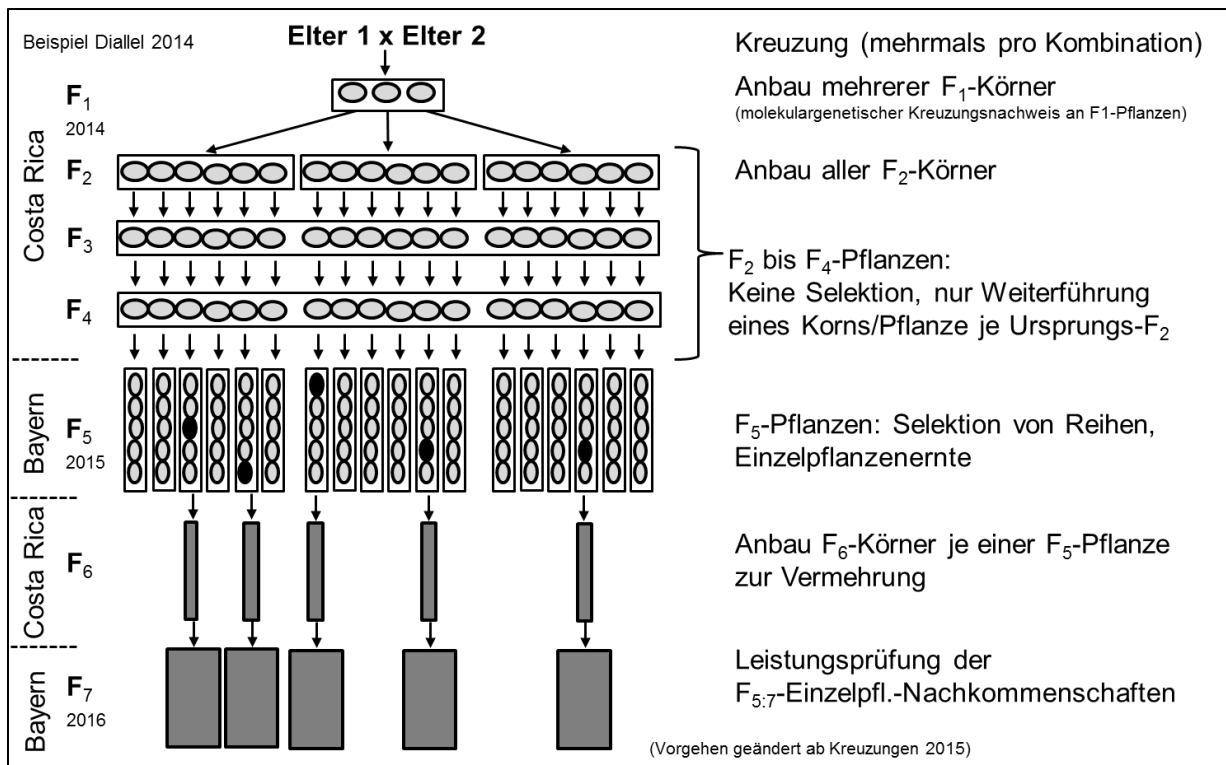


Abb. 23: Ablauf des Zuchtprogramms an der LfL mittels SSD und des Dienstleisters CRS in Costa Rica für die Nachkommenschaften im Beobachtungsanbau 2015 und Ertragsprüfung 2016

Zwischen den Verbundpartnern fanden bereits in den letzten Projektjahren auf Eigeninitiative Austauschprüfungen zusätzlich zu der Ertragsprüfung im Projekt statt. Die weitere Zusammenarbeit der Verbundpartner und weiterer interessierter Züchter wird auch nach dem Ende des Projekts im Rahmen der Bayerischen Pflanzengzuchtgesellschaft (BPZ) organisiert und koordiniert. 2016 wurde dafür eine Arbeitsgruppe Sojabohne innerhalb der BPZ gegründet. Nach der Ernte 2017 fand bereits ein Austausch von Zuchtstämmen zwischen der LfL und den derzeit vier BPZ-Mitgliedern statt. Die Kreuzungspläne werden zukünftig in der BPZ-Gruppe gemeinsam beschlossen und vorerst weiter beim Dienstleister in Costa Rica in Auftrag gegeben.

3.4 Qualität (AP4)

3.4.1 Proteingehalt (TA1)

Über die LfL sind aus den Ertragsprüfungen bzw. der Beobachtung von Genbankmaterial (PGR) über 1000 Proben mittels NIRS analysiert worden (über LfL 2015: 127, 2016: 304, 2017: 630). Zu gleichen Teilen wurde Zuchtmaterial und Genbankmaterial untersucht. Die Ergebnisse dazu finden sich unter den jeweiligen Abschnitten zur Ertragsprüfung von Zuchtmaterial (3.3.2.2) und zur Evaluierung von Genbankakzessionen (3.5.1). Die Proben stammen von den LfL-eigenen Standorten, aber auch von den Verbundpartnern. Zwei der Verbundpartner haben eigene NIRS-Analysen durchgeführt bzw. an deren Entwicklung gearbeitet.

Zur Analyse der Proteingehalte (und Fettgehalte) in den Körnern der Sojabohne an der LfL wurden die Sojabohnenproben über das Futtermittellabor (LfL, AQU3) mittels NIRS (Nah-Infrarot-Reflexions-Spektroskopie) analysiert. Diese Methode ist dort für Soja in Zusammenarbeit mit dem Auswertedienstleister Evonik etabliert. Die Messung findet an gemahlene Körnern in einem Gerät der Firma Unity (Futterwert) bzw. der Firma Foss (Aminosäuren) statt, dafür wird 50g Saatgut pro Probe

benötigt. Standardmäßig ist die Kalibration der NIRS auf bereits getoastete Bohnen ausgelegt. Um die Methode auch für unbehandelte Bohnen, wie sie im Projekt untersucht werden, zu verifizieren wurden Proben des Landessortenversuchs 2015, die bis dahin ausschließlich nasschemisch für Protein- und Ölgehalte untersucht wurden, erstmals mittels NIRS gemessen. Bei der Gegenüberstellung der Ergebnisse aus Nasschemie und NIRS ergibt sich eine sehr hohe Korrelation (Abb. 25). Die Amino-NIR eignet sich damit als deutlich kostengünstigere Methode zur Charakterisierung umfangreicher Probenmengen. Zusätzlich liefert das Labor Werte zu weiteren Futterparametern wie Rohfaser, Rohasche, Stärke und Zucker-Anteile an der Trockenmasse, sowie standardmäßig die Gehalte der wichtigsten Aminosäuren Lysin, Methionin, Threonin und Tryptophan (siehe TA2 Punkt 3.4.2).



Abb. 24: Anordnung zur Messung der NIR-Spektren im Futtermittellabor Grub mit automatischer Probeneinspeise-Einheit (links)

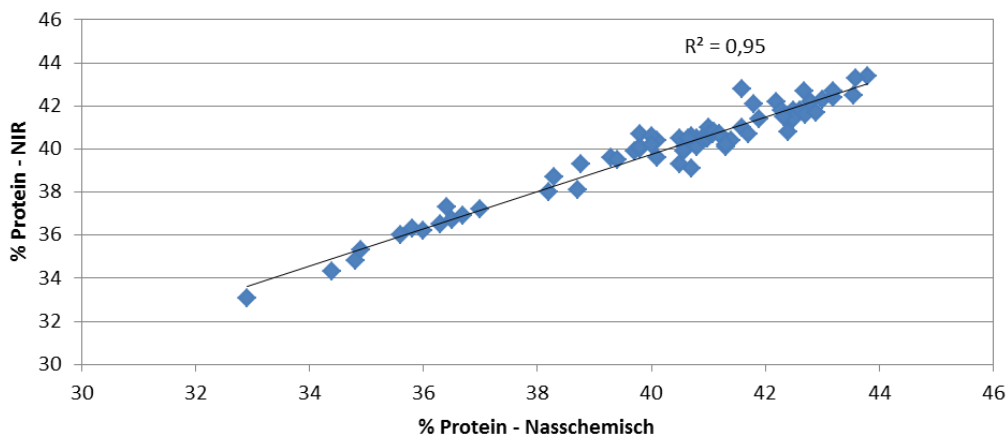


Abb. 25: Gegenüberstellung der mit NIRS ermittelten Rohproteingehalte mit den nasschemisch gemessenen Gehalten an unbehandelten Kornproben des Landessortenversuches 2015 als Mittelwerte der Sorten von den Orten Großaiting, Köfering, Oberhummel, Rotthalmünster und Günzing

Beim Verbundpartner Saatzucht Streng-Engelen wurde während der drei Projektjahre mit dem beschafften Diodenarray Nah-Infrarot-Spektrometer (Fa. Perten) und der auf dem Gerät vorhandenen Kalibration der TS-, Protein- und Ölgehalt von Beobachtungslinien, Genbankmaterial (GB100) und Linien der Ertragsprüfung an ganzen Körnern bestimmt. Die Ergebnisse wurden direkt für die Selektion im weiteren Zuchtgang genutzt. Ein Vergleich der Protein- und Fettgehalte von ausgewählten Sorten der Ertragsprüfung 2017, ermittelt über die LfL mit den Gehalten des

betriebseigenen Gerätes/Kalibration ergab eine sehr enge Korrelation. Eine gemeinsame Auswertung ist dadurch möglich.

Beim Verbundpartner SZ Bauer wurden 2015 bis 2017 NIR-Spektren zur Entwicklung von Kalibrationskurven zur indirekten Bestimmung von Rohprotein- und Rohfettgehalten gesammelt. Eine entsprechende nasschemische Bestimmung dieser Inhaltsstoffe im Dienstleistungslabor VDLUFA erfolgte nur an „auffälligen Spektren“ ab Frühjahr 2017. Auffällige Spektren haben besonders starke Ausschläge bei bestimmten Peaks, die für Rohprotein oder Rohfett charakteristisch sein können. 2017 wurden die gesammelten Spektren an den Kalibrationsdienstleister übermittelt und Kalibrationskurven erstellt, die am Erntegut 2018 verifiziert werden sollen. Der Einsatz des NIRS-Messkopfs ist direkt am Mähdrescher geplant, wodurch die Messung direkt im Erntegerät stattfinden kann und die Effizienz für gezielte Selektionen enorm erhöht werden kann, was zukünftig für die Saatzucht eine große Hilfe zur Sortenentwicklung ist. Während des Projektes wurden die Futterparameter über die LfL bestimmt und der Saatzucht zur Verfügung gestellt.

Für die Selektion von Zuchtmaterial für Sorten mit dem Verwertungsziel Fütterung ist ein hoher Proteingehalt nach dem Merkmal Frühreife und einem hohen Kornertrag die wichtigste wirtschaftliche Kenngröße. Derzeit ist der Preis in Deutschland beim Verkauf von Soja noch nicht direkt an den Proteingehalt der jeweiligen Partie gekoppelt. Damit ist aber in absehbarer Zeit zu rechnen. Bei der derzeit größten Ölmühle in Bayern, Archer Daniels Midland Company (ADM) in Straubing, wird bei den angelieferten Soja-Partien standardmäßig mittels NIRS der Proteingehalt gemessen und nach Aussage der Betreiber vor Ort (Oktober 2017) über Preis Zu- bzw. Abschläge für abweichende Proteingehalte nachgedacht. Eine schnelle und kostengünstige Möglichkeit zur Erfassung dieses Merkmals wie die NIRS ist daher für den Einsatz in der Züchtung unabdingbar.

Züchterisch vorhandenes Potenzial zur Erhöhung des Proteingehaltes lässt sich aus der Variabilität des untersuchten Genbankmaterials im Vergleich zum aktuellen Sortenmaterial im Protein- und Ölgehalte ablesen (siehe Abb. 29 in Abschnitt 3.5.1). Berücksichtigt werden muss dabei der ausgeprägte negative Zusammenhang zwischen Protein- und Ölgehalt, wo durch bei einem steigenden Proteingehalt meist der Ölgehalt und damit auch der Energiegehalt abnimmt.

3.4.2 Aminosäurezusammensetzung (TA2)

Im Rahmen der Auswertung der unter 3.4.1 beschriebenen Nahinfrarotspektren wurden vom Futtermittellabor bzw. von der Firma Evonik zudem Gehalte zu elf essentiellen Aminosäuren (Tab. 3) übermittelt, wovon die Werte zu Lysin, Methionin, Threonin und Tryptophan auch standardmäßig bei der erweiterten Futtermitteluntersuchung an Landwirte ausgegeben werden.

Tab. 3: Spanne und mittlere Gehalte der Aminosäuren in der Trockenmasse (% TM) bei den im Projekt über das Futtermittellabors der LfL in Grub untersuchten unbehandelten Sojaprobe (Sorten, Zuchtmaterial, PGR; n=1045; AminoNIR über Evonik) inklusive Rohprotein- und Rohfettgehalte; sortiert absteigend nach dem Mittelwert

Aminosäure	Abkürzung	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
Rohprotein	RP	40,81	41,30	28,10	49,40
Rohfett	RF	21,94	21,90	14,50	27,90
Arginin	ARG	3,11	3,15	2,20	3,86
Leucin	LEU	3,06	3,10	2,35	3,68
Lysin	LYS	2,59	2,62	2,05	2,99
Phenylalanin	PHE	2,03	2,06	1,51	2,46
Valin	VAL	1,93	1,94	1,53	2,28
Isoleucin	ILE	1,82	1,84	1,43	2,17
Threonin	THR	1,57	1,59	1,32	1,79
Histidin	HIS	1,08	1,09	0,86	1,27
Cystein	CYS	0,65	0,65	0,58	0,74
Methionin	MET	0,56	0,56	0,47	0,62
Tryptophan	TRP	0,55	0,55	0,46	0,63
Methionin:Cystein	MET:CYS	1,21	1,22	1,03	1,37

Die Gehalte der Aminosäuren Methionin, Threonin, Isoleucin, Leucin, Valin, Histidin und Phenylalanin in der Trockenmasse korrelieren sehr eng mit dem Gesamtproteingehalt (Korrelationskoeffizient $r=1,0$ bis $0,97$), wohingegen die unterschiedlichen Gehalt der Genotypen an Cystein nur zu etwa 50% durch die geänderten Gehalt an Gesamtprotein erklärt werden können ($r=0,7$).

Die Standardabweichung der Gehalte der verschiedenen Aminosäuren der 1045 Einzelproben vom Mittelwert des Datenpools im Projekt beträgt zwischen 4-10%. Dies ist ähnlich der Variation im Gesamtproteingehalt (9,6%), dennoch ist eine züchterische Selektion hier voraussichtlich mit mehr Aufwand verbunden, da die Ausgangsgehalte deutlich geringer sind und für die unterschiedlichen Einsatzmöglichkeiten als Futter für Rinder, Schweine und Geflügel, sowie Allein- und Mischfutter unterschiedliche Ansprüche an die optimale Aminosäurezusammensetzung gestellt werden.

Für die Erhaltung und die Proteinsynthese benötigen die Monogastrier, zu denen Schweine und Geflügel gehören, Aminosäuren in bestimmter Menge und in einem bestimmten Verhältnis zueinander. Nicht essentielle Aminosäuren können aus dem Futter selbst hergestellt werden, wohingegen essentielle Aminosäuren im Futter enthalten sein müssen und bei Mangel die körpereigene Eiweißsynthese limitieren und damit den Fleisch- oder Eierertrag schmälern. Bei Geflügel bzw. Legehennen sind die erstlimitierende Aminosäuren das Methionin bzw. das Lysin (Brade et al. 2008). Auch bei der Fütterung von Schweinen mit Sojaprotein muss Methionin bzw. die Summe der schwefel-haltigen Aminosäuren (Methionin, Cystein) durch andere Futterkomponenten ergänzt werden, z. B. durch Weizen, dessen Defizit bei Lysin durch das Sojaprotein ausgeglichen werden kann (Häffner et al. 2018). Als langfristiges Zuchtziel für Soja als Futtermittel könnte daraus eine Steigerung der Methioningehalte abgeleitet werden unter Erhaltung des Gehaltes an Lysin. Eine Ergänzung durch Cystein ist interessant, da diese als zweite schwefelhaltige Aminosäure Methionin-Defizite teilweise abfangen kann und durch die geringere Kopplung an den Gesamtproteingehalt eine stückweit unabhängige Bearbeitung dieser Aminosäure möglich sein dürfte.

Eine Gegenüberstellung von Sorten- bzw. Zuchtmaterial mit Genbank-Akzessionen (PGR) für die Aminosäuren Lysin, Methionin und Cystein zeigt bei Lysin eine größere Schwankungsbreite der Werte hin zu höheren Gehalten in den PGR, wobei die Sorten im Mittel bereits höhere Gehalte aufweisen

(Abb. 26). Zu beachten ist dabei, dass der Gesamtproteingehalt einen starken Einfluss auf die Gehalte der Aminosäuren in der Trockenmasse hat und das Zuchtmaterial in höherer Bestandesdichte und anderer Umwelt angebaut wurde.

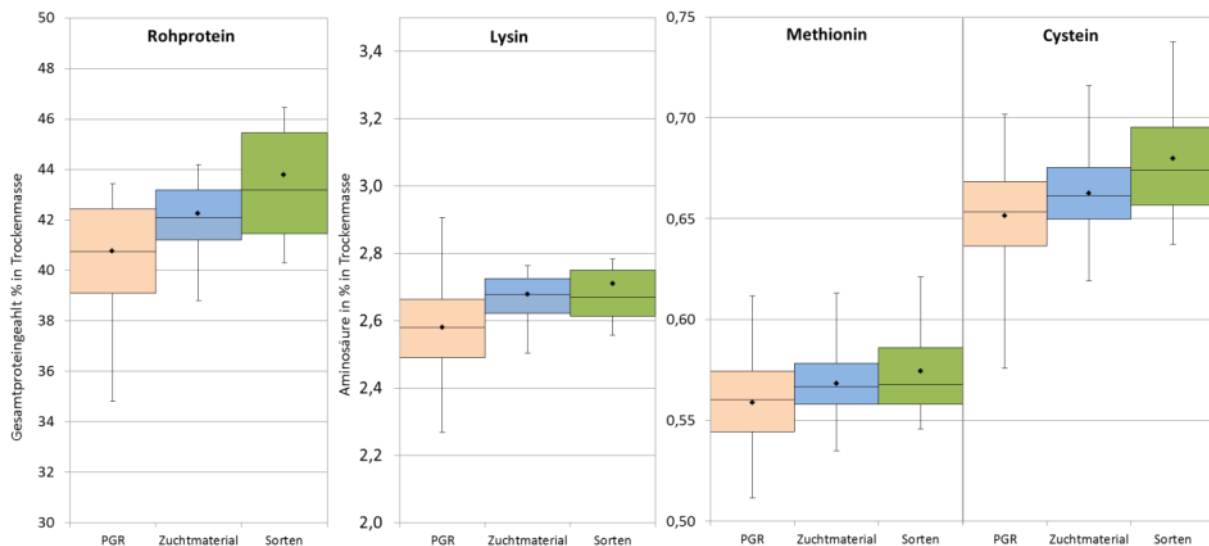


Abb. 26: Mittlere Werte und Variation der Gehalte an Gesamtprotein, sowie der essentiellen Aminosäuren Lysin, Methionin und Cystein in der Trockenmasse in den unterschiedlichen Material-Gruppen PGR (2015+2017, n=157), Zuchtmaterial (Ertragsprüfung Frankendorf 2017, n=220) und Sorten (2017, n=15)

3.4.3 Aktivitätsbestimmung von Trypsininhibitoren (TA3)

Um die genetische Variabilität bei der Aktivität der Trypsininhibitoren (TIA) abschätzen zu können, wurden ausgewählte Proben, insbesondere von PGR, diesbezüglich nasschemisch analysiert. Da nur wenige Einrichtungen solche Analysen durchführen und die entstehenden Kosten pro Probe sehr hoch sind, wird in einem parallelen Projekt „SojaNIRS“ des LfL-Instituts für Landtechnik und Tierernährung (ILT) an einer NIRS-Kalibration für dieses Merkmal gearbeitet (FT-NIRS-Sensor Fa. Bruker). Die im vorliegenden Projekt erhobenen Daten werden zusätzlich zur Stabilisierung dieser NIRS-Kalibration zur Verfügung gestellt. Die Entwicklung der Kalibration soll 2018 abgeschlossen werden. Sie steht dann für eine kostengünstigere Einschätzung der TIA-Werte in der Sojazüchtung zur Verfügung.

Aus dem Erntematerial 2016 wurden 51 Sorten und Genbank-Akzessionen für eine Untersuchung der Trypsin-Inhibitor-Aktivität (TIA) ausgewählt. Die Analyse wurde bei der Firma Deputación Pontevedra in Spanien in Auftrag gegeben. Hierfür wurde pro Genotyp 200g Saatgut benötigt. Aufgrund der hohen Kosten und des absehbaren Projektendes wurden keine TIA-Analysen aus der Ernte 2017 mehr in Auftrag gegeben.

Die Variation der TIA-Werte ist bei Genbankmaterial und Sorten sehr ähnlich und liegt zwischen 23-41mg/g. Aufgrund der hohen Kosten pro Genotyp konnte nur eine Probe untersucht werden, daher kann keine Standardabweichung angegeben werden. Das Niveau der TIA wird stark durch Umweltbedingungen insbesondere Insektendruck beeinflusst, und bewegt sich bei den vorliegenden Proben in einem normalen Bereich (persönl. Mitteilung Stefan Thurner LfL 2017).

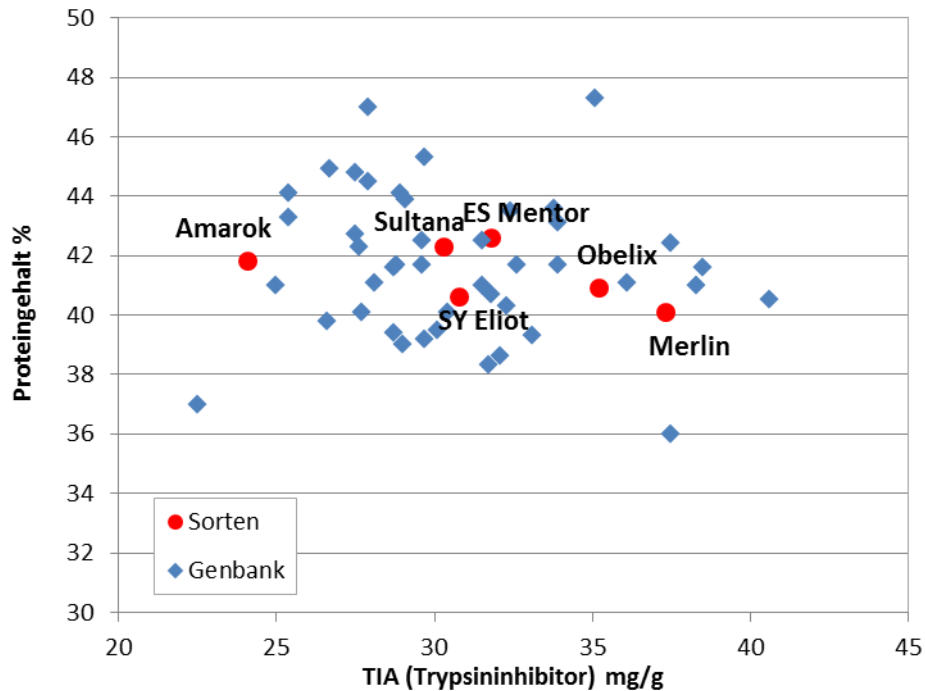


Abb. 27: Trypsininhibitoraktivität (TIA) und Proteingehalt ausgewählter Sorten und Genbank-Akzessionen der Ernte 2016 aus dem Beobachtungsanbau 2016 in Hummel

Da es sich bei den Trypsininhibitoren um Stoffe zur Insektenabwehr handelt, könnte bei der Züchtung von Sorten ohne diese Inhaltstoffe bzw. mit reduzierten Gehalten eine gleichzeitig erhöhte Anfälligkeit gegenüber Schädlingen auftreten. Allerdings ist der Befallsdruck durch schädigende Insekten derzeit in Europa noch relativ gering, weshalb im Augenblick keine großen negativen Effekte zu erwarten wären. Vor dem Hintergrund einer weiteren Klimaerwärmung wäre dieses Risiko allerdings neu zu bewerten. Dem gegenüber steht ein verringerter Energieaufwand in der Aufbereitung (Toasten) durch eine Reduzierung des TIA in den Körnern, was zu einer Verbesserung der Wirtschaftlichkeit der Sojabohne führen würde.

Zugleich sind erste Sorten bei denen TIA reduziert ist, in der EU zugelassen, wie die Sorten Xonia und Josefine (Österreich 2016). Auch hierzulande ist die Nachfrage nach solchen Sorten vorhanden, dementsprechend ist es wichtig dieses Merkmal weiter zu verfolgen. Mit der erwarteten NIRS-Kalibration (voraussichtlich Ende 2018) gibt es an der LfL ein Werkzeug, welches für die Züchtung auf dieses Merkmal eingesetzt werden kann.

3.5 Erweiterung der genetischen Basis (AP5)

3.5.1 Evaluierung von Genbankakzessionen (TA1)

Verteilt über die drei Projektjahre wurden weltweit insgesamt 462 Genbankakzessionen bestellt (Tab. 4) und zur Beobachtung, Selektion und Erhebung von phänotypischen Daten im Feld angebaut. Es soll ein Genpool mit hoher phänotypischer und genetischer Diversität zur Auswahl von Kreuzungseltern und als Basis für die Entwicklung von molekularen Markern für eine beschleunigte Selektion aufgebaut werden. Das Material wurde aufgrund von Verfügbarkeit und, wenn vorhanden, nach Angaben zur Reife-Eingruppierung (Reifegruppe 0000 bis I) und weiteren auffälligen Merkmalen wie Kornfarbe oder Abweichungen in den Inhaltsstoffen ausgewählt (Abb. 28). Ein kleiner Anteil der

Akzessionen konnte aufgrund von fehlender Keimfähigkeit nicht evaluiert werden. Bei etwa einem Drittel der Akzessionen war es aufgrund der sehr späten bis nicht gezeigten Abreife nicht möglich Saatgut für einen wiederholten Anbau zu erhalten. Evaluiert wurden die Merkmale Blühbeginn, Datum der Reife, der Blätter und Hülsen, sowie weitere Wuchsmerkmale wie Pflanzenhöhe und Futterqualität mittels NIRS. Ertragsdaten konnten aufgrund der geringen Pflanzenzahlen in keinem der Beobachtungsjahre erfasst werden.

Tab. 4: Bezugsquellen der Genbankakzessionen im Projekt

Jahr	Genbank	Land	Anzahl Akzessionen
2015	IPK (Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung)	D-Gatersleben	135
2015	GRIN-USDA (United States Department of Agriculture)	USA	79
2016	GRIN-CA (Agriculture and Agri-Food Canada)	Kanada	100
2017	GRIN-Global (United States Department of Agriculture)	USA	148

GRIN: Germplasm Resources Information Network



Abb. 28: Beispiele für die Variation der Akzessionen in der Farbe und Größe des Saatgutes (links) und Wildtyp der Sojabohne *Glycine soja* (rechts außen) neben einer asiatischen Akzession von *Glycine max*

Im ersten Projektjahr (2015) wurden ausschließlich bei der LfL am Standort Oberhummel 210 Genbank-Akzessionen evaluiert. Es zeigte sich in allen untersuchten Merkmalen eine sehr große Variationsbreite im Vergleich zu parallel angebauten, aktuellen Vergleichssorten. Zehn Prozent der Linien wiesen erst Anfang Oktober erste reife Hülsen auf und weitere 50% wurde unter den bayerischen Bedingungen 2015 nicht reif (Abb. 29). In den Gehalten von Rohprotein und Rohfett, welche an 100 ausgewählten Linien bestimmt wurden, zeigt sich jedoch eine züchterisch nutzbare breite Streuung über die Werte der aktuellen Sorten hinaus (Abb. 29).

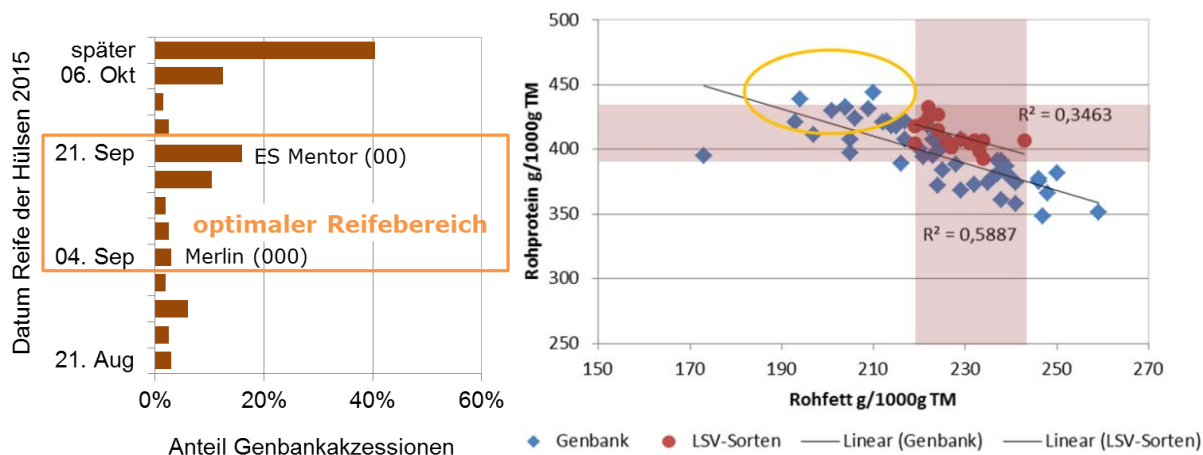


Abb. 29: links: Verteilung (%) der 2015 beobachteten Genbankakzessionen (n=210) mit Datum der Reife der Hülsen und mit eingezeichneten optimalen Reifebereich zwischen den Sorten Merlin und ES Mentor (orange); rechts: Gehalte an Rohprotein und Rohfett in der Trockenmasse bei den Genbankakzessionen (n=100, blau) und aktuellen LSV-Sorten (n=15, rot) der Ernte 2015

Aus denen im ersten Projektjahr (2015) ausschließlich bei der LfL am Standort Oberhummel evaluierten 210 Genbank-Akzessionen wurden anhand der geernteten Saatgutmenge 104 Akzessionen für den mehrortigen Anbau 2016 bei allen Verbundpartnern ausgewählt. Dieses Set an Genotypen, bezeichnet als „GB100“, wurde auch die Grundlage für die molekulare Charakterisierung (Abschnitt 3.5.2) und für die kandidatengenbasierte Assoziationsstudie (Abschnitt 3.6.2). Der Großteil der Akzessionen stammt aus dem asiatischen Raum (China, Japan) und wird als frühreif bis mittelfrüh (Reifegruppe 00 und 0) eingestuft (Abb. 30 im Abschnitt 3.5.2). Die in den insgesamt 4 Umwelten erhobenen phänotypischen Daten zum Blühtermin, zu Reifetermin, zu Pflanzenhöhe und Protein- sowie Fettgehalten im Korn, erreichen eine sehr große Diversität (Tab. 5 und Abb. 34 in Abschnitt 3.6.2), die sich auch als signifikante Unterschiede in der statistischen Auswertung wiederfinden (Tab. 8 in Abschnitt 3.6.2). Damit ist das Material als Grundlage zur Untersuchung/Bestimmung von Gen/Allel : Merkmals-Zusammenhängen sehr gut geeignet. Informationen zur Aminosäurezusammensetzung, sowie zur Untersuchung der Trypsininhibitoraktivität von ausgewählten Linien des Sortiments sind im Abschnitt Qualität TA2 (3.4.2) bzw. TA3 (3.4.3) zu finden. Zusätzlich zu dem GB100-Sortiment wurden am Standort der LfL weitere 100 Akzessionen beobachtet, die aus der kanadischen Genbank stammen und bei denen als Ursprungsland Kanada dokumentiert ist.

Tab. 5: Durchschnitt und Schwankungsbreite der erfassten Merkmale im Sortiment GB100 am Standort Oberhummel 2016

	Datum Beginn Blüte	Datum Reife Blatt	Datum Reife Hülsen	Lager (1-9)	Pfl.höhe (cm)	TKM (g)
∅	6. Jul.	19. Sep.	21. Sep.	2	62	210
Min	27. Jun.	30. Aug.	30. Aug.	1	15	37
Max	1. Aug.	13. Okt.	10. Okt.	9	110	322

2017 wurden bei der LfL 58 der kanadischen Akzessionen vom Vorjahr wiederholt angebaut und neues Material in den USA bestellt. Dieses neue Material, das z. T. auch Reifegruppen größer I zugeordnet war, lieferte aufgrund z. T. schlechten Aufgangs und sehr später Reife nur wenig erntbares Material. Von 62 Akzessionen konnten Körner geerntet werden. Bei einer Auswahl von 37 Akzessionen war ausreichend Erntematerial für eine NIRS-Auswertung zu Qualität/Proteingehalt vorhanden. Parallel wurde das in den Vorjahren selektierte Genbankmaterial im Rahmen eines 2017

neu gestarteten Projektes des Bayerischen StMELF 2017 genutzt, um es zusammen mit Vergleichssorten an zwei Standorten der LfL zur näheren Charakterisierung anzubauen. Dieser neue Versuch beinhaltet auch das GB100-Sortiment, welches 2017 nicht im mehrortigen Anbau bei den Verbundpartnern 2017 wiederholt wurde, da es sinnvoller erschien für eine aussagekräftige Phänotypisierung einen standardisierten Versuch innerhalb der LfL durchzuführen.

Alle an Genbankakzessionen erhobene Daten fließen in die Entwicklung von molekularen Markern und in die Auswahl von zukünftigen Kreuzungseltern im Rahmen der Sojazüchtung an der LfL mit ein.

3.5.2 Molekulare Charakterisierung (TA2)

Im Verlauf des Projekts wurden knapp 400 Sojabohnenakzessionen aus verschiedenen Genbanken in Deutschland (IPK), den USA (GRIN-USDA) und Kanada (GRIN-CA) bestellt. In Kooperation mit dem bayerischen Forschungsprojekt „Genpoolanalysen von Mais und Soja für Bayern“ (StMELF, Geschäftszeichen 31/499) wurden zusätzlich zum Genbankmaterial 80 alte und aktuelle Sojasorten für die Analyse der genetischen Diversität herangezogen. Nach erfolgreicher Anzucht und DNA-Extraktion konnten 263 Sojabohnen-Akzessionen aus europäischen, chinesischen, japanischen, kanadischen, koreanischen und US-amerikanischen Herkünften auf ihre genetische Diversität untersucht und wertvolle Informationen zum aktuell genutzten Soja-Genpool erhalten werden. Für eine Stammbaumanalyse wurde das Soja-Sortiment bestehend aus 80 Züchterlinien (Elitematerial) und 263 Genbank-Akzessionen mit dem SoySNP6k iSelect BeadChip (Illumina, San Diego, Calif. USA) genotypisiert. Der Chip enthält 5.403 SNPs, die gleichmäßig über die 20 Chromosomen des Sojabohnengenoms verteilt sind. Mehr als 1,65 Millionen Datenpunkte wurden nach Anwendung der SNP-Filterkriterien 1) Minor-Allelfrequenz größer als 5% und 2) Fehlwertrate von weniger als 5% für die Bestimmung der genetischen Diversität herangezogen. Die durchgeführte Stammbaumanalyse basierend auf 4.832 SNPs ergab im Wesentlichen eine Klassifizierung entsprechend der geographischen Herkunft. Deutlich konnten japanische, chinesische und europäische Akzessionen voneinander getrennt werden. Das untersuchte Elitematerial gruppierte in einem separaten Ast und ist folglich genetisch sehr eng im Vergleich zu dem untersuchten Genbankmaterial. Die Ergebnisse dieser umfangreichen Studie werden durch Untersuchungen von Hahn und Würschum (2014) und Bandillo et al. (2015) bestätigt. Eine Gruppierung des Materials entsprechend der bekannten Reifegruppen konnte nicht festgestellt werden.

Aus dem Beobachtungsanbau 2015 wurden durch phänotypische Selektion 104 Genbankakzessionen und Sorten (GB100 Sortiment, Abb. 30) ausgewählt, die eine rechtzeitige Abreife zeigten und damit für den Anbau im süddeutschen Raum geeignet scheinen und unter hiesigen Klimabedingungen Saatgut produzieren.

Origin	# GB100
China	43
Japan	24
Canada	9
Germany	6
USA	6
Korea	2
Czech Republic	2
Poland	2
Russland	2
Swiss	2
France	1
Romania	1
Hungary	1
Ukraine	1
Sweden	1
Former Serbia and Montenegro	1
Total	104

Maturity	Maturity_group	# GB100
Very early	MG0000	1
	MG000	6
	MG000/00	2
	MG00	23
early	MG0	69
	MGI	1
	unknown	2
Total		104

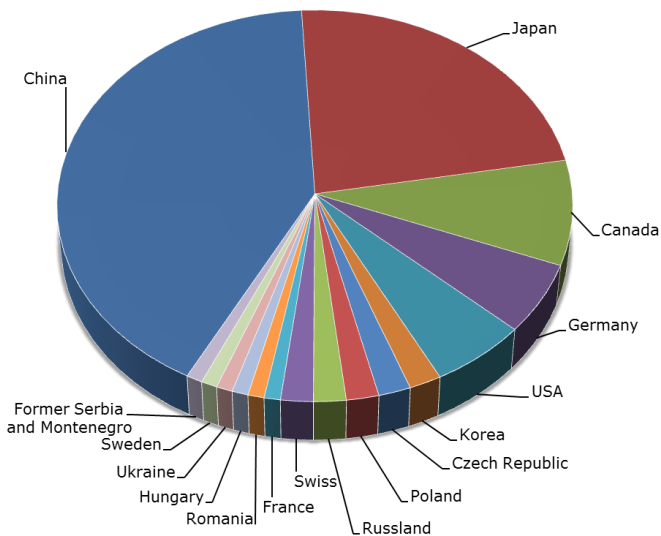


Abb. 30: Zusammenstellung des GB100 Sortiments mit der Anzahl an Akzessionen aus den einzelnen geographischen Herkünften bzw. Reifegruppen

Das GB100 Sortiment wurde molekulargenetisch mit dem Illumina SoySNP6k BeadChip genotypisiert und die zugrundeliegende genetische Struktur mit Hilfe einer Stammbaumanalyse und einer Modellbasierten Bayes'schen Clustermethode (STRUCTURE, Pritchard et al. 2000) bestimmt. Die Stammbaumanalyse basiert auf 4.867 SNPs und zeigt eine Einteilung des Sortiments in vier Gruppen, die jedoch keine eindeutige Zuordnung der Gruppen hinsichtlich Herkunft oder Reifegruppe zulässt (Abb. 31). Im Wesentlichen werden japanische und chinesische Akzessionen voneinander getrennt.

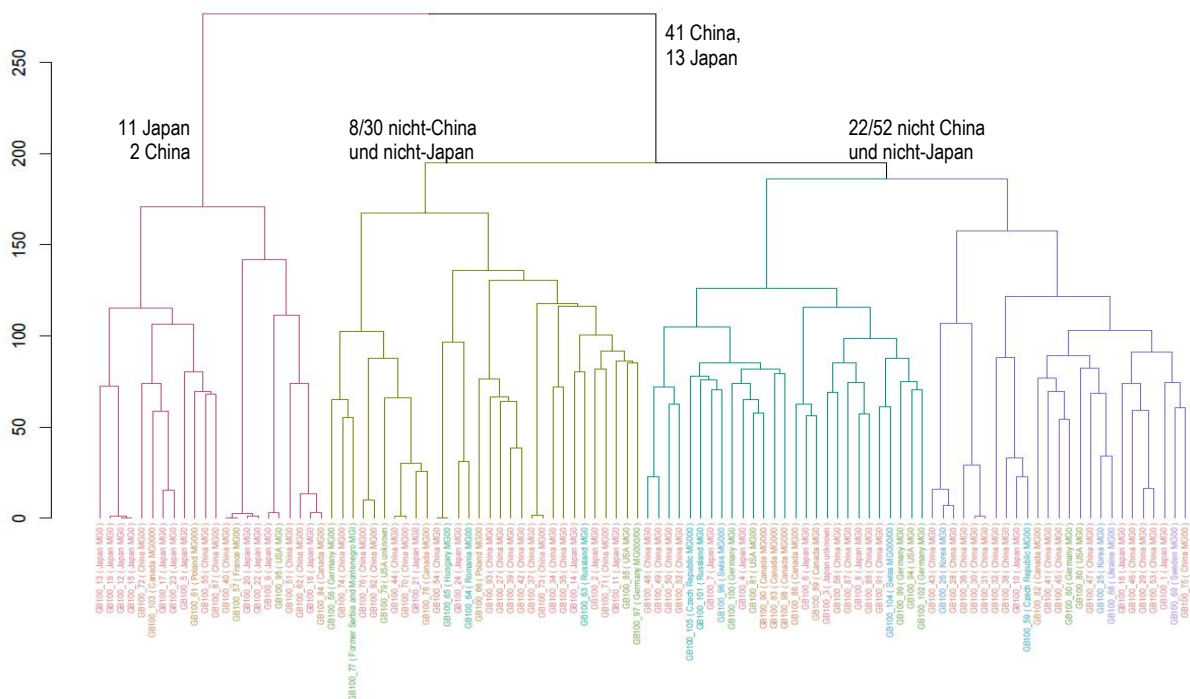


Abb. 31: Ergebnis der Stammbaumanalyse für das GB100 Sortiment basierend auf 4.867 SNP-Markern. Die vier verschiedenen Gruppen sind durch die unterschiedliche Farbgebung der Äste gekennzeichnet, die geographischen Herkünfte der Akzessionen sind durch verschiedene Farben der Beschriftung markiert

Mit dem Software-Programm STRUCTURE (Pritchard et al. 2000) werden die Akzessionen basierend auf den Allelfrequenzen der 4.867 SNP-Marker einer vorgegebenen Anzahl von K-Untergruppen zugeordnet. STRUCTURE wurde von K=1 bis K=10 mit jeweils zehn Läufen pro K und 55.000 folgenden Iterationen durchgeführt. Die Berechnung des ΔK nach Evanno et al. (2005) ermöglicht im Anschluss die Berechnung der wahrscheinlichsten Anzahl an K-Untergruppen (Abb. 32).

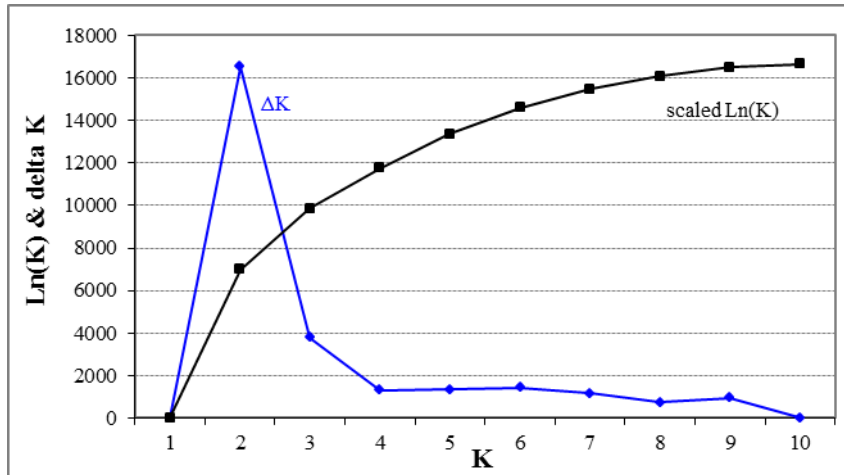


Abb. 32: Ergebnis der STRUCTURE Analyse mit K-Untergruppen und deren Wahrscheinlichkeit $\ln(K)$ nach Pritchard et al. (2000, schwarz) bzw. ΔK nach Evanno et al. (2005, blau)

Für das GB100 Sortiment ist die wahrscheinlichste Anzahl $K=2$ Untergruppen, die im Wesentlichen die geographischen Herkünfte Japan und China trennt (Abb. 33) und damit die Stammbaumanalyse bestätigt. In der ersten Gruppe finden sich 88,4% aller chinesischen Akzessionen, in der zweiten Gruppe 70,8% aller japanischen Akzessionen. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass weitere geographische Herkünfte in dem GB100 Sortiment deutlich unterrepräsentiert sind. Eine Gruppierung hinsichtlich der Reifegruppen konnte auch hier nicht beobachtet werden. Die in der STRUCTURE Analyse berechneten Ergebnisse fließen zur Berücksichtigung der genetischen Struktur in die Assoziationsstudie ein, um falsch positive Assoziationen zu vermeiden.

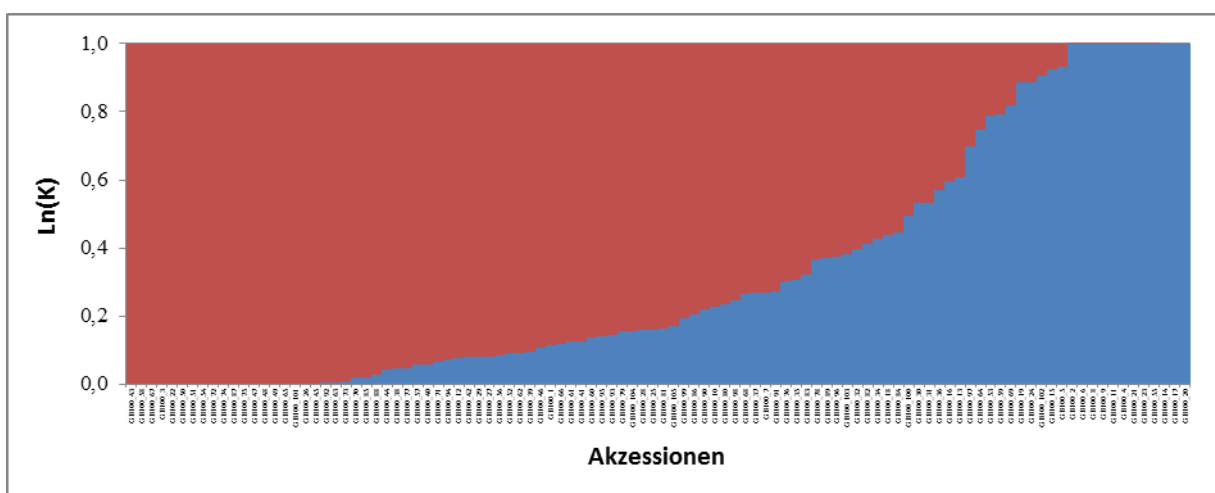


Abb. 33: Säulendiagramm der STRUCTURE Analyse für $K=2$ Untergruppen, wobei $K=1$ (rot) überwiegend japanische und $K=2$ (blau) überwiegend chinesische Akzessionen repräsentiert. Die Zugehörigkeitswahrscheinlichkeiten ($\ln(K)$) der einzelnen Akzessionen (x-Achse) für die jeweilige Untergruppe sind entlang der y-Achse abgetragen

3.5.3 Planung und Durchführung von Kreuzungen (TA3)

3.5.3.1 Kreuzungen zur Erstellung von Zuchtmaterial

In den Beobachtungen von Genbankakzessionen 2015 bis 2017 konnten umfangreiche phänotypische Daten erhoben werden, die eine z. T. sehr große Variationsbreite in den Merkmalen zeigen und die Analysen zum Genotyp ergab ebenso eine große genetische Diversität zwischen den Akzessionen untereinander und zu den aktuellen Sorten. Die Grundlage für die Erweiterung der genetischen Basis innerhalb des Zuchtmaterials ist daher durch den im Projekt zusammengestellten Genpool gegeben.

Jährlich wurden mehrere Kreuzungen beim Servicepartner in Costa Rica in Auftrag gegeben um neben dem Material der LSA reichlich Nachkommenschaften zur Selektion interessanten Zuchtmaterials für alle Verbundpartner zur Verfügung zu haben. Als Kreuzungseltern wurden dafür bisher ausschließlich zugelassene Sorten mit hohem Ertragsniveau und angepasster Reife und Inhaltsstoffen verwendet. Ausgewählte Genbankakzessionen des GB100-Sortiments wurden erstmals 2017 nach Etablierung der Kreuzungstechnik an der LfL im eigenen Kreuzungsprogramm mit aktuellen Sorten gekreuzt. Ausgewählt wurden drei Akzessionen mit Herkunft Japan, da sie unter anderem eine besondere hohe genetische Distanz zu dem Block des Elitematerials aufweisen. Aus den 17 durchgeführten Kreuzungen ist eine Hülse mit nur einem Kreuzungskorn entstanden. Die Kultur der F₁-Pflanzen und der molekulare Kreuzungsnachweis werden außerhalb der Projektlaufzeit noch durchgeführt.

In dem 2017 gestarteten bayerischen Projekt „Markerbasierte Kreuzungspläne bei Soja“ (StMELF, Geschäftszeichen 31/181) wird intensiv an der weiteren Charakterisierung der Genbankakzessionen und ausgewählter Sorten für die Entwicklung und Verifizierung molekularer Marker weitergearbeitet.

3.5.3.2 Molekulare Verifikation des Kreuzungserfolges

Die Überprüfung des Kreuzungserfolges ist bei Sojabohne als strikter Selbstbefruchter unabdingbar um Selbstungen auszuschließen, deren Wahrscheinlichkeit durch die anspruchsvolle Kreuzungsmethodik gegeben ist. Am sichersten und einfachsten ist das durch molekulare Marker an der DNA in der F₁-Generation möglich. Zu Projektstart war im Rahmen des bayerischen Forschungsprojekts „Genpoolanalysen von Mais und Soja für Bayern“ (StMELF, Geschäftszeichen 31/499, 2014-2017) die DNA-Extraktion über FTA-Karten und ein Set an ersten polymorphen Mikrosatellitenmarkern für diesen Zweck etabliert worden. FTA-Karten (Fast Technology for Analysis of nucleic acids) sind beschichtete Papierkarten zur Konservierung und zum Transport der DNA von Costa Rica nach Deutschland per Post. Im Rahmen des vorliegenden Projektes wurde das Markerset erweitert. Mittlerweile stehen 80 Marker (4 pro Chromosom) zur Verfügung, ein Kernsortiment von 12 gut validierten Markern ist häufig ausreichend.

Alle inzwischen vorliegenden Kreuzungskombinationen können sicher differenziert und zugeordnet werden. Es wurden alle im Projekt erstellten Kreuzungen überprüft. Die Anteile der Selbstungen in aus Costa Rica gelieferten F₁-Proben schwankten zwischen 20 und 70%. Nur die F₁-Pflanzen von erfolgreichen Kreuzungen wurden für die Produktion der Nachkommenschaften verwendet, wodurch mittels des molekularen Kreuzungsnachweises erheblich Produktionskosten und Selektionsaufwand eingespart werden konnte.

3.6 Molekulargenetische Arbeiten (AP6)

3.6.1 Validierung publizierter Marker für Kandidatengene (TA1)

Die Grundlage für die Anpassung von Kurztagpflanzen, wie Sojabohne (*Glycine max* (L.) Merr.), an klimatische Gegebenheiten in Süddeutschland ist eine geringe oder fehlende photoperiodische Sensitivität. Die Ausprägung dieser Insensitivität führt zu einer frühen Blüte der Sojapflanzen und ermöglicht somit das rechtzeitige Abreifen innerhalb der heimischen Vegetationsperiode (April bis Oktober). Für dieses züchtungsrelevante Merkmal sind zwei genetische Systeme in der Literatur beschrieben, die durch die drei Hauptgene *E1*, *E3* und *E4* reguliert werden (Watanabe et al. 2012, Xu et al. 2013). Für jedes dieser Gene sind verschiedene Allele identifiziert worden, die entweder dominant und damit funktional sind oder rezessiv vorliegen und damit die Funktion des jeweiligen Gens ausschalten. Dem Gen *E1* wird bei der Sojabohne der größte Effekt auf die Blüte zugeschrieben, bekannte nicht funktionelle Allele sind *e1-as*, *e1-fs* und *e1-nl*. Bei *E3* und *E4* handelt es sich um Phytochrom A Gene (*GmPhyA3* und *GmPhyA2*, Dong et al. 2016). Im Rahmen des vorliegenden Projekts konnten die beschriebenen molekularen Marker für *E1*, *E3* und *E4* (Xu et al. 2013, Tsubokura et al. 2013) im eigenen Labor etabliert werden. Die Ergebnisse des umfangreichen Screenings aller drei Genorte beim Genbank- und Elitematerial (N=343, inklusive GB100 Sortiment, Tab. 14 im Anhang) der frühen Reifegruppen MG0000 bis MGI und verschiedener geographischer Herkünfte zeigen, dass eine frühe Blüte durch eine Selektion auf die rezessiven Allele am Genort *E1* bzw. eine Kombination von rezessiven Allelen an den Genorten *E1* und *E3* oder *E4* erreicht werden kann. Dieses Ergebnis wurde von Langewisch et al. (2017) bestätigt. Ein alleiniger Einfluss der rezessiven Allele der Gene *E3* und *E4* auf den Blühzeitpunkt konnte nicht beobachtet werden. Der Einfluss auf eine Reduktion der Reifezeit war in der Genkombination *e1-fs* in Kombination mit *e3* oder *e4* am deutlichsten. Das Blüh- und Reifegen *E2* wurde ebenfalls untersucht, es zeigte sich jedoch ausschließlich das nicht-funktionale Allel *e2* und damit keine Variation an diesem Genort in den 343 untersuchten Akzessionen. Die für ein weiteres Blüh- und Reifegen *E9*, ein *Flowering Locus T* Ortholog (*FT2a*, Zhao et al. 2016), beschriebenen molekularen Marker von Kong et al. (2014) wurden im Labor getestet, konnten aber nicht für eine belastbare Analyse im eigenen Labor etabliert werden.

Für das Merkmal Wuchstyp konnte bezüglich des Kandidatengens *Dt1* keine Variation im GB100 Sortiment und dem erweiterten Sortiment festgestellt werden, obwohl eine phänotypische Variation zwischen terminierenden und nicht-terminierenden Genotypen im Feld zu beobachten war.

Da nicht für alle züchtungsrelevanten Merkmale entsprechende molekulare Marker für die betroffenen Kandidatengenen publiziert sind, wurden im vorliegenden Projekt zusätzlich mögliche Kandidatengene für den Proteingehalt untersucht. Dieses zentrale Merkmal ist sowohl für die Human- als auch für die Tierernährung von großer Bedeutung. Die Hauptspeicherproteine im Samen der Sojabohne sind die Glycine, die mehr als 20% des Samentrockengewichts ausmachen (Diers et al. 1994, Nielsen et al. 1989). Die Glycine werden durch eine Genfamilie kodiert, deren Mitglieder jedoch eine hohe Sequenzähnlichkeit aufweisen und damit das Design von Primersequenzen für die spezifische Amplifikation einzelner Genfamilienmitglieder erschweren (Tab. 6).

Tab. 6: Sequenzidentität der kodierenden Gensequenz (cds) der Glyciningenfamilie (*GmGy6* ist ein Pseudogen und kodiert kein Protein)

Sequenz	<i>GmGy1</i>	<i>GmGy2</i>	<i>GmGy3</i>	<i>GmGy4</i>	<i>GsGy5</i>	<i>GmGy7</i>
<i>GmGy1</i>	ID					
<i>GmGy2</i>	0,874	ID				
<i>GmGy3</i>	0,890	0,877	ID			
<i>GmGy4</i>	0,500	0,487	0,489	ID		
<i>GsGy5</i>	0,466	0,451	0,452	0,757	ID	
<i>GmGy7</i>	0,475	0,471	0,459	0,576	0,494	ID

Als Kandidaten wurden die Glycininuntereinheiten Gy1, Gy2, Gy3 und Gy7, welche von den Genen *GmGy1*, *GmGy2*, *GmGy3* und *GmGy7* kodiert werden, ausgewählt, da sie einen hohen Anteil an schwefelhaltigen Aminosäuren aufweisen, der für die Ernährung eine wesentliche Rolle spielt (Beilinson et al. 2002). Es ist gelungen elf spezifische Primerpaare für die Amplifikation der vier Kandidatengene zu etablieren. Durch drei (*GmGy1* und *GmGy2*) bzw. zwei (*GmGy3*) sich überlappenden Genfragmente konnten für *GmGy1* 97,83%, für *GmGy2* 101,61% und für *GmGy3* 59,61% des gesamten kodierenden Bereichs (cds) inklusive Introns durch die Firma LGC Genomics (LGC Group, Middlesex, UK) mittels Sangermethode sequenziert werden. Das Gen *GmGy7* wurde aus Kostengründen nicht weiter untersucht, steht aber für weitere Analysen bereit.

Zur Beschreibung der genetischen Diversität wurden mehr als 0,55Mb für *GmGy1*, 0,82Mb für *GmGy2* und 0,50Mb für *GmGy3* sequenziert und ausgewertet. Diese umfangreiche Datengrundlage gibt einen zuverlässigen Einblick in die genetische Variation und erlaubt eine fundierte Analyse der Nukleotid- und Haplotypdiversität an diesen drei Genorten. Für *GmGy1* wurden 19 Polymorphismen (1/123bp) in 233 Akzessionen identifiziert, davon sechs in Exons (1/248bp) und 13 in Introns (1/69bp). Die Nukleotiddiversität (π) ist moderat mit $\pi \cdot 10^{-3} = 1,70$. Die 19 Polymorphismen bilden zwei Haplotypen, wobei Haplotyp 1 mit 88,84% und Haplotyp 2 mit 11,16% auftritt, die Haplotypdiversität beträgt $Hd = 0,199$. Für *GmGy2* wurden sechs Polymorphismen (1/443bp) in 309 Akzessionen identifiziert, davon einer in Exons (1/1454bp) und fünf in Introns (1/231bp). Die Nukleotiddiversität ist gering mit $\pi \cdot 10^{-3} = 0,57$. Die sechs Polymorphismen bilden sechs Haplotypen, wobei Haplotyp 1 mit 71,20%, Haplotyp 2 mit 12,30%, Haplotyp 3 mit 10,03%, Haplotyp 4 mit 3,24%, Haplotyp 5 mit 2,59% und Haplotyp 6 mit 0,65% auftritt, die Haplotypdiversität ist hoch bei $Hd = 0,468$. Das Gen *GmGy3* wurde im Rahmen einer Bachelorarbeit untersucht. Es konnten 353 DNA-Sequenzen für Genfragment *GmGy3-2* und 231 DNA-Sequenzen für Genfragment *GmGy3-3* untersucht werden. Dabei wurden sieben polymorphe Stellen in 1.670bp (1 Polymorphismus/239bp) ermittelt (Tab. 7). Sechs der sieben polymorphen Stellen befinden sich in Introns und ein SNP konnte in Exon 3 des Gens *GmGy3* lokalisiert werden. Der Polymorphismus im Exon verursacht keine Änderung der Aminosäuresequenz und hat damit keine Auswirkung auf die Funktion des Gens. Basierend auf den gefundenen Sequenzpolymorphismen konnten für das Genfragment *GmGy3-2* zwei Haplotypen und für Genfragment *GmGy3-3* sechs Haplotypen ermittelt werden. Die Nukleotid- und Haplotypdiversität für *GmGy3-2* waren gering mit $\pi \cdot 10^{-3} = 0,01$ und $Hd = 0,006$ sowie moderat und hoch für *GmGy3-3* mit $\pi \cdot 10^{-3} = 1,76$ und $Hd = 0,427$. Für die Exons 2 und 4 konnten in allen drei untersuchten Glyciningenen keine Polymorphismen detektiert werden, was auf eine hohe Konservierung und damit große Bedeutung dieser Genabschnitte für die Funktion der Gene hindeutet. Die Ergebnisse der Kandidatengenuntersuchung wurden im Weiteren für die Assoziationsstudie herangezogen.

Tab. 7: Haplotypsequenz der Kandidatengene *GmGy1* und *GmGy2*, die Zahlen der polymorphen Stellen (PS) bezeichnen deren Position im Gen bezüglich des Startcodons ATG (A=1, T=2, G=3, usw.); Angegeben sind die Position der polymorphen Stelle im Gen sowie etwaige Aminosäureaustausche (IUPAC Code)

<i>GmGy1</i>	PS147 Exon1	PS151 Exon1	PS387 Intron1	PS394 Intron1	PS437 Intron1	PS475 Intron1	PS488 Intron1	PS510 Intron1	PS834 Intron2
	Phe=>Leu								
Hap1	A	C	--	G	C	G	--	T	C
Hap2	T	T	CT	A	A	A	TT	A	C

Weiter <i>GmGy1</i>	PS886 Intron2	PS1028 Intron2	PS1114 Exon3	PS1115 Exon3	PS1118- 20 Exon3	PS1130- 2 Exon3	PS1683 Intron3	PS1783 Intron3	PS1795 Intron3	PS1906 Intron3
			Gln=>Glu		/=>Gln	Ser=>His				
Hap1	A	A	A	G	---	CAT	G	G	A	-
Hap2	G	G	G	C	CAG	TCC	T	C	G	G

<i>GmGy2</i>	PS301 Intron2	PS907 Intron2	PS935 Intron2	PS1112 Exon3	PS1658 Intron3	PS1986 Intron3
	Gln=>Arg					
Hap1	-	T	C	A	T	-
Hap2	A	C	A	A	C	T
Hap3	-	T	A	G	T	-
Hap4	T	T	A	A	T	-
Hap5	-	T	A	A	T	-
Hap6	T	T	C	A	T	-

Phe: Phenylalanine; Leu: Leucine; Gln: Glutamine; Glu: Glutamic Acid; Ser: Serine; His: Histidine; Arg: Arginine

3.6.2 Kandidatengenbasierte Assoziationsstudie und Markervalidierung (TA2)

In der Assoziationsstudie werden unter Berücksichtigung der Populationsstruktur statistische Zusammenhänge zwischen phänotypischen und genotypischen Daten analysiert. Die für die Assoziationsstudie erforderlichen phänotypischen Daten der verschiedenen Versuchsumwelten wurden varianzanalytisch ausgewertet und adjustierte Mittelwerte für alle Merkmale über Standorte und Jahre berechnet. Es ist anzumerken, dass die phänotypischen Merkmale im Rahmen des Beobachtungsanbaus in jedem Jahr und an jedem Standort in nur einer Wiederholung erhoben wurden, sodass die adjustierten Mittelwerte und Varianzen nur über Jahre hinweg, nicht aber innerhalb eines Jahres und Standorts berechnet werden konnten. Die Merkmale Hülsenreife (Maturity) und Blattriefe (Maturity_Leaf), gemessen in Tagen nach der Aussaat, sowie Rohproteingehalt (CrudeProtein) und Rohölgehalt (CrudeOil), gemessen in Prozent Trockenmasse, wurden in den vier Umwelten Oberhummel 2015 (LfL), Oberhummel 2016 (LfL), Osterhofen 2016 (SZ v. Moreau) und Uffenheim 2016 (SZ Streng-Engelen) erhoben. In den ersten drei Umwelten wurden zusätzlich Blühzeitpunkt (in Tagen nach der Aussaat), Pflanzenhöhe (PlantHeight; in Zentimetern) und der Gehalt an den elf essentiellen Aminosäuren [g/1000g TM] gemessen (Abb. 34). Die varianzanalytische Verrechnung der Daten sowie die Berechnung der adjustierten Mittelwerte wurde in R Studio (R Studio Team 2016, R Core Team 2015) unter Verwendung der Pakete lme4 (Douglas et al. 2015) und lmerTest (Kuznetsova et al. 2017) durchgeführt.

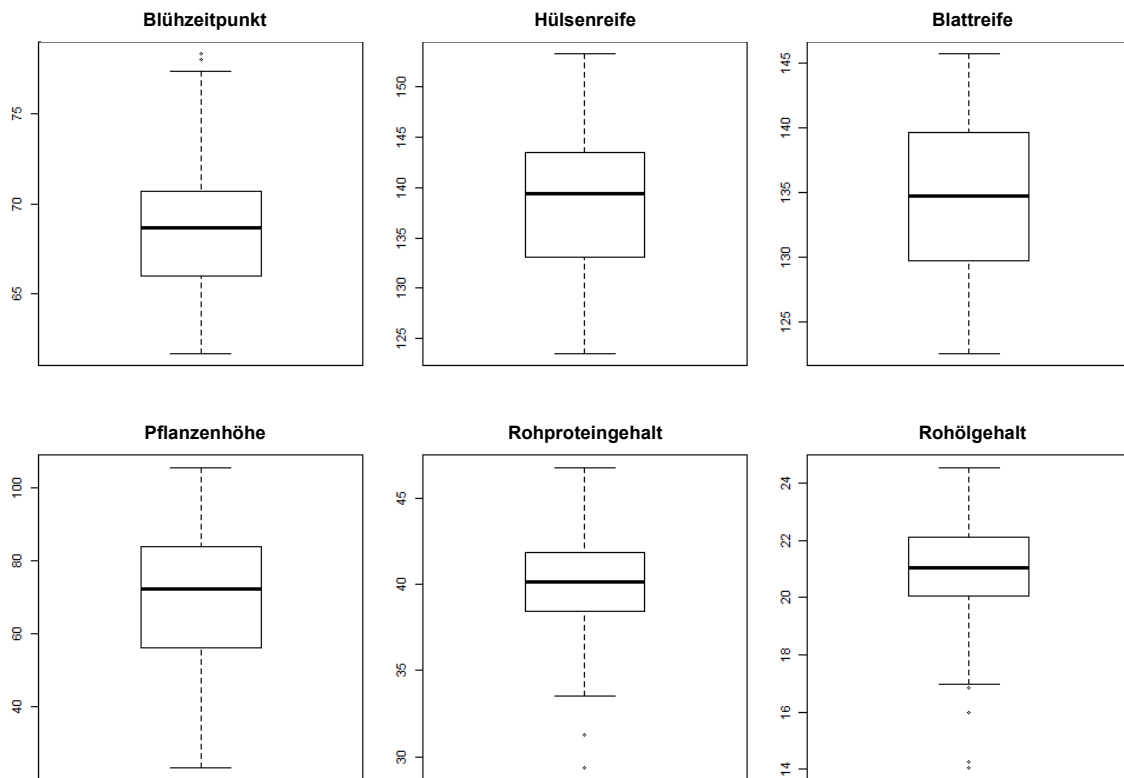


Abb. 34: Boxplots der adjustierten Mittelwerte des GB100 Sortiments (N=104) für die phänotypischen Merkmale Blühzeitpunkt, Hülsenreife und Blattriefe gemessen in Tagen nach der Aussaat, Pflanzenhöhe gemessen in cm sowie Rohprotein- und Rohölgehalt gemessen in % der Trockenmasse

Für alle Merkmale konnten signifikante Unterschiede zwischen den 104 Genotypen und den untersuchten Umwelten festgestellt werden (Tab. 8).

Tab. 8: Varianzanalyse der erhobenen Merkmale in den Umwelten Oberhummel 2015, Oberhummel 2016, Osterhofen 2016 und Uffenheim (2016)

Merkmal	Varianzursache	
	Genotyp - Pr(F) und Signifikanz	Umwelt - Pr(>Chisq) und Signifikanz
Gemessen in vier Umwelten^a		
Hülsenreife	0,001138**	< 2,2e-16 ***
Blattreife	0,1277 .	< 2,2e-16 ***
Rohproteingehalt	2,038e-07 ***	< 2,2e-16 ***
Rohölgehalt	8,815e-14 ***	1,633e-07 ***
Gemessen in drei Umwelten^b		
Blühzeitpunkt	0,07019 .	2,043e-09 ***
Pflanzenhöhe	< 2,2e-16 ***	2,2e-10 ***
Arginin	< 2,2e-16 ***	< 2,2e-16 ***
Cystein	< 2,2e-16 ***	7,32e-11 ***
Histidin	< 2,2e-16 ***	< 2,2e-16 ***
Isoleucin	< 2,2e-16 ***	2,638e-15 ***
Leucin	< 2,2e-16 ***	< 2,2e-16 ***
Lysin	< 2,2e-16 ***	< 2,2e-16 ***
Methionin	< 2,2e-16 ***	1,962e-11 ***
Phenylalanin	< 2,2e-16 ***	< 2,2e-16 ***
Threonin	< 2,2e-16 ***	< 2,2e-16 ***
Thryptophan	< 2,2e-16 ***	< 2,2e-16 ***
Valin	< 2,2e-16 ***	6,875e-16 ***

a: gemessen in Oberhummel 2015, Oberhummel 2016, Osterhofen 2016, Uffenheim 2016; b: gemessen in Oberhummel 2015, Oberhummel 2016, Osterhofen 2016; Signifikanzcodes: ***: 0,001 **: 0,01 *: 0,05 . : 0,1

Die durch Genotyp- und Umwelteffekte adjustierten Merkmalsmittelwerte für das GB100 Sortiment wurden für die Berechnung von Pearson Moment Korrelationskoeffizienten zwischen den Merkmalen sowie für die Assoziationsstudie verwendet.

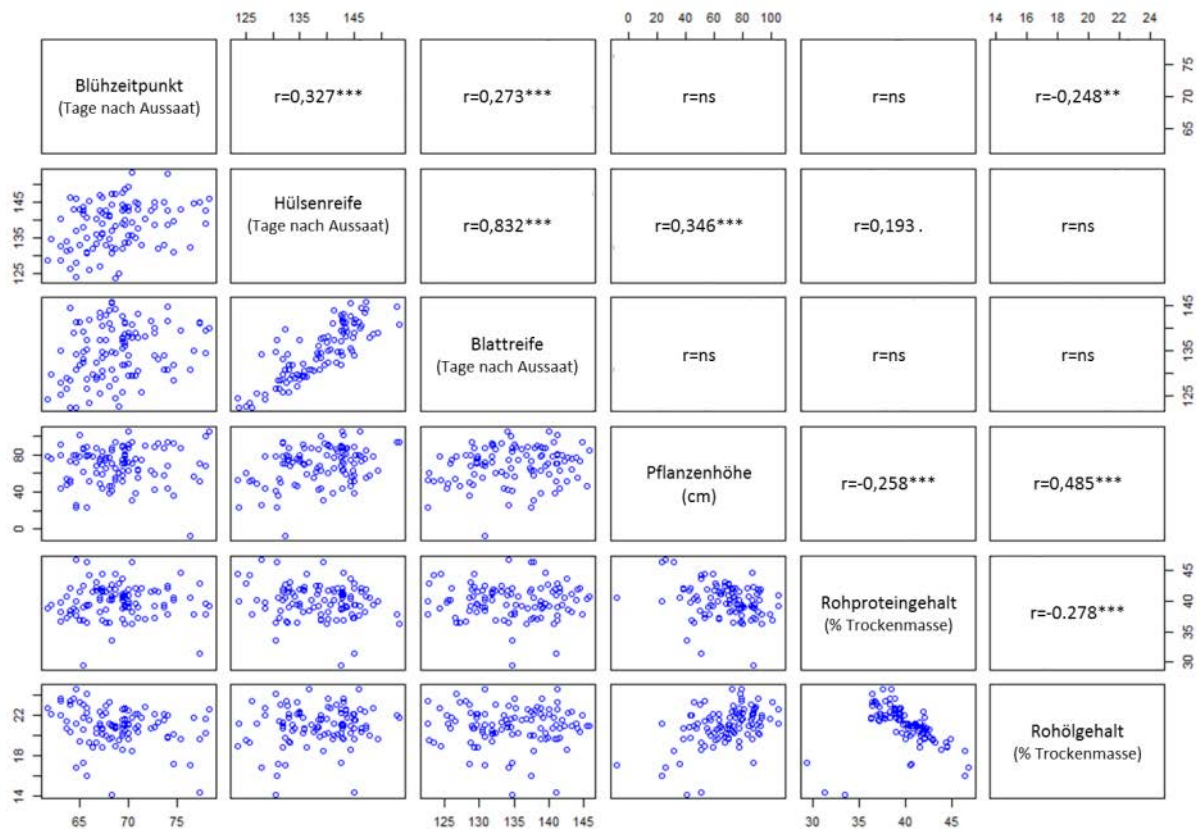


Abb. 35: Korrelationen zwischen den adjustierten Merkmalsmittelwerten und Pearson Moment Korrelationskoeffizienten mit Signifikanzniveaus *: 0,001 **: 0,01 *: 0,05 . : 0,1 ns: nicht signifikant**

Die signifikanten, moderaten und positiven Pearson Moment Korrelationskoeffizienten zwischen den Merkmalen Blüte und Reife, Reife und Pflanzenhöhe, Pflanzenhöhe und Rohproteingehalt bzw. Rohölgehalt sowie die negative Korrelation zwischen Rohproteingehalt und Rohölgehalt (Abb. 35) sind in der Literatur beschrieben. So konnten beispielsweise Kurasch und Kollegen (2017) ähnliche Korrelationen zwischen Pflanzenhöhe und Proteingehalt bzw. Ölgehalt feststellen.

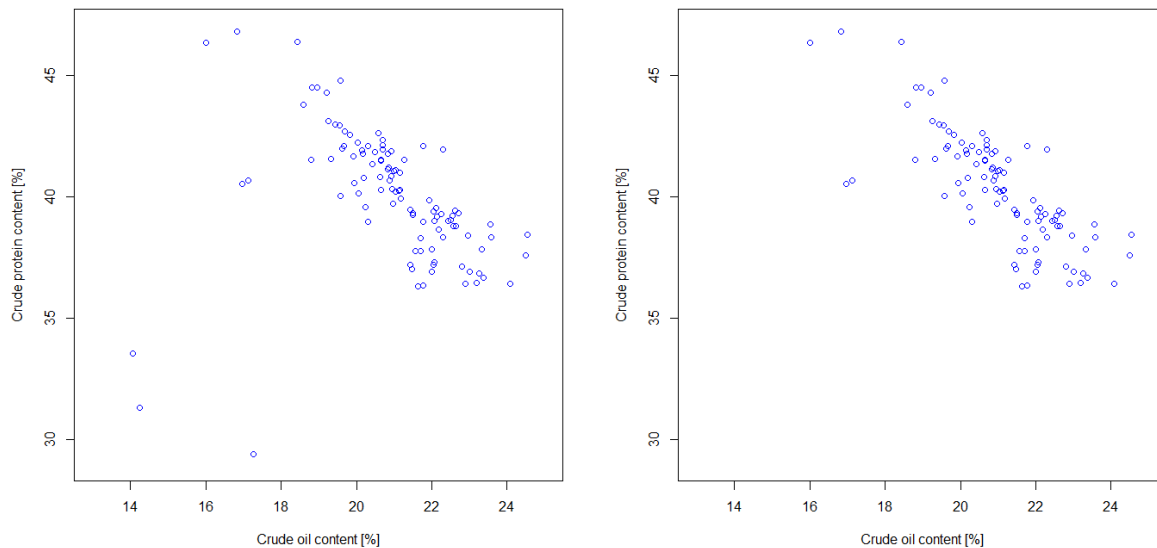


Abb. 36: Korrelation zwischen Rohproteingehalt (Crude protein content) und Rohölgehalt (Crude oil content) in % Trockenmasse unter Berücksichtigung aller Genotypen (links) und nach Ausschluss der Ausreißer GB100_17, GB100_53 und GB100_56 (rechts). Der Korrelationskoeffizient verändert sich deutlich von $r=-0,28$ (links) auf $r=-0,78$ (rechts)

Die Darstellung der adjustierten Mittelwerte von Protein- und Ölgehalt (Abb. 36) zeigt eine signifikante negative Korrelation zwischen den beiden Merkmalen. Diesen umgekehrt proportionalen Zusammenhang zwischen Proteingehalt und Ölgehalt konnten Li und Kollegen (2018a, 2018b) mit negativen Korrelationskoeffizienten bestätigen. Durch den Ausschluss der drei Ausreißer GB100_17, GB100_53 und GB100_56 wird die Korrelation im vorliegenden Projekt noch deutlicher und ist mit $r=-0,78$ mit Werten aus der Literatur vergleichbar – Kurasch et al. (2017): $r=-0,90$; Li et al. (2018a): $r=-0,66$; Li et al. (2018b): $r=-0,53$. Aus ökonomischer Sicht sind sowohl der Protein- als auch der Ölgehalt von Bedeutung (Patil et al. 2017). Für die kommerzielle Vermarktung von Sorten gilt als generelle Faustregel, dass Protein- plus Ölgehalt $>62,5\%$ und der Proteingehalt in der Trockenmasse $>42,5\%$ sein sollten, um $>47,5\%$ Proteingehalt im Sojamehl mit einem Feuchtegehalt von etwa 12% zu produzieren (Hurburgh et al. 1990). Diese Kriterien weist im GB100 Sortiment ausschließlich die Akzession GB100_29 auf. Hervorzuheben sind weiterhin die zwei Genotypen GB100_21 und GB100_23. Sie haben einen hohen Proteingehalt von mehr als 46% und einen niedrigen Ölgehalt von 16%, Protein- und Ölgehalt zusammen liegen bei 63,61% bzw. 62,35% Trockenmasse. Ähnlich wie US-amerikanische Sorten (Patil et al. 2017) zeigen die untersuchten europäischen Sorten im GB100 Sortiment Amadine, Tundra und Vanessa einen Proteingehalt von 38% sowie einen Protein- plus Ölgehalt um 60%. Sowohl die zwei japanischen Genbankakzessionen GB100_21 und GB100_23 als auch die chinesische Genbankakzession GB100_29 sind daher interessante Kreuzungspartner zur Verbesserung des Öl- und Proteingehalts für bisher in Deutschland zugelassene kommerzielle Sojabohnensorten.



Abb. 37: Manhattan-Plots der SNP-Assoziationen für die Merkmale Blühzeitpunkt, Hülsenreife, Blattriefe, Pflanzenhöhe, Rohproteingehalt, Rohölgehalt und die schwefelhaltigen Aminosäuren Cystein und Methionin. Negative \log_{10} p-Werte des genomweiten Assoziations-scans wurden gegen die SNP-Positionen auf den 20 Chromosomen des Sojabohnengenoms abgetragen. Das Signifikanzniveau von $\alpha=0,001$ ($-\log_{10} = 3,00$) ist als waagerechte Linie dargestellt. SNP-Marker oberhalb dieser Linie zeigen eine signifikante Assoziation.

Zur Berechnung der Assoziationen wurde in der Software TASSEL Version 5.2.25 (Bradbury et al. (2007), Zhang et al. (2010)) ein gemischtes lineares Modell (mixed linear model, MLM) verwendet bei dem die Genotypen als fixe Effekte und die SNP-Marker, Kandidatengen-SNPs sowie die Populationsstruktur als zufällige Effekte berücksichtigt wurden. Es konnten signifikante Assoziationen zu allen Merkmalen gefunden werden (Abb. 37). Um die Sicherheit des Assoziationsergebnisses zu erhöhen wurde ein stringentes Signifikanzniveau von $p=0,001$ verwendet. So konnten je zwei SNPs mit Hülsen- (Gm06_1655912, Gm17_3320209) bzw. Blattriefe (Gm06_1328895, Gm12_7753259) assoziiert werden, drei und zehn SNPs wurden mit Protein- (Gm03_46998040, Gm04_42754380,

Gm12_38183927) bzw. Ölgehalt (Gm01_4365237, Gm04_6145192, Gm14_45959459, Gm17_1736595, Gm17_1918529, Gm17_4127957, Gm17_4216767, Gm17_38540012, Gm18_4188718, Gm20_45116741) verknüpft und 46 SNP sind signifikant mit Pflanzhöhe assoziiert (Tab. 15 im Anhang). Bei dem Merkmal Blühzeitpunkt wurde das Signifikanzniveau auf $\alpha=0,01$ gesenkt, um positive Assoziationen zu zeigen. Mit diesem Signifikanzniveau konnten 19 SNPs auf elf Chromosomen mit dem Merkmal Blühzeitpunkt assoziiert werden. Vier SNP-Marker auf den Chromosomen Gm03 (Gm03_41443410, Gm03_46998040) und Gm12 (Gm12_35586020, Gm12_7753259) konnten mit jeweils acht der elf essentiellen Aminosäuren assoziiert werden. Für die Kandidatengene konnten keine signifikanten Assoziationen gefunden werden. Es ist anzunehmen, dass durch die Selektion des GB100 Sortiments auf Eignung für den süddeutschen Sojaanbau die phänotypische Diversität für die Merkmale Blühzeitpunkt und Reife deutlich eingeschränkt wurde. Zudem sind ausschließlich Akzessionen der frühen Reifegruppen MG0000 bis MGI vertreten (vgl. Abb. 30 Zusammenstellung des GB100 Sortiments), was im Vergleich zu publizierten Assoziationsstudien bei Sojabohne (z. B. Langewisch et al. 2017) eine starke Verengung der Diversität bezüglich des Merkmals Reife darstellt. Diese Reduktion der phänotypischen Diversität erschwert den Nachweis von Assoziationen.

3.6.3 Umsetzung und Validierung der SNP-Marker auf der Fluidigm-Plattform (TA3)

Die Fluidigm-Technik konnte bereits im Kooperationsprojekt „Genpoolanalysen bei Mais und Soja“ (StMELF, Geschäftszeichen 31/499) für Mais erfolgreich eingesetzt werden. Die Entwicklung eines entsprechenden Selektionschips für Soja wurde begonnen, SNP-Marker für die Sortenidentifikation werden zeitnah in der Testphase übernommen. Im vorliegenden Projekt konnten für die Merkmale Blüte, Wuchshöhe und Proteingehalt molekulare DNA-Marker etabliert werden. Züchtungsrelevante Marker sollen zunächst als SNP-Marker und anschließend für die Anwendung auf der Fluidigm-Plattform entsprechend umgesetzt werden. Dem Array sollen noch weitere Marker für agronomisch wichtige Merkmale wie Kühletoleranz hinzugefügt werden. Er soll in dem Folgeprojekt „Genpoolanalysen bei Mais und Soja“ (StMELF, Geschäftszeichen 31/181) umgesetzt werden. Für die Absicherung und Umsetzung der Daten werden noch entsprechende Versuchswiederholungen und phänotypische Daten aus mehreren Umwelten benötigt.

4 Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die im Projekt erarbeiteten Erfahrungen in der praktischen Sojazüchtung finden direkt Anwendung bei den Pflanzenzuchtbetrieben, die im Projekt als Verbundpartner beteiligt waren. Diese konnten durch das Verbundprojekt ohne hohes finanzielles Risiko mit Unterstützung der Landesanstalt betriebsangepasste Züchtungsprogramme für die Sojabohne etablieren. Die erarbeiteten Ergebnisse stehen im Rahmen der BPZ-Arbeitsgruppe allen interessierten Züchtern zur Verfügung. Durch die Förderung der Sojabohnenzüchtung in Süddeutschland mit dem Ziel angepasste Sorten zur Verfügung zu stellen, wird der Anbau und die Nutzung von Sojabohnen als heimisches Eiweißfutter unterstützt, was unter anderem einem Ziel der Eiweißstrategie des BMEL entspricht.

Unterstützt wird diese praktische Züchtung durch die wissenschaftliche Begleitforschung im Bereich der Genomanalyse. Im vorliegenden Projekt konnte durch die genomweite Genotypisierung eines umfangreichen Genbank- und Sortenmaterials gezeigt werden, dass der aktuell in Deutschland genutzte Sortenpool genetisch sehr eng ist. Zudem wurde gezeigt, dass die untersuchten Genbankakzessionen eine große Diversität mitbringen, die es gilt für die Sojabohnenzüchtung nutzbar zu machen. Hierfür müssen sowohl genotypische als auch phänotypische Daten über mehrere Jahre und an mehreren Standorten gesammelt werden, um die Analyse- und Testergebnisse aus diesem Projekt absichern und deren Relevanz beschreiben zu können. Im vorliegenden Projekt konnten erste umfassende Daten für einen umfangreichen und diversen Sojagenpool zusammengestellt werden. Mittels der molekulargenetischen Arbeiten konnten die publizierten genetischen Marker für Blüte und Reife im eigenen Labor etabliert und anwendbar gemacht werden. Es konnten Genotypen identifiziert werden, die früher als die bisherigen Sorten blühen und abreifen. Durch die Sequenzierung von Kandidatengenomen war es möglich die Diversität an spezifischen Genorten zu beschreiben, was für die Etablierung molekularer Marker für bestimmte Merkmale und Materialgruppen unabdingbar ist. Nur bei vorhandener Diversität können „bessere“ Genotypen selektiert und folglich für die Züchtung von verbesserten Sojabohnensorten nutzbar gemacht werden. Der Einsatz von molekularen Markern bedeutet für die Züchtung eine enorme Zeit- und damit Kostenersparnis.

5 Gegenüberstellung geplante und erreichte Ziele

Eine Methode zur ganzjährigen Durchführung von Kreuzungen konnte aufgrund der nicht angepassten technischen Ausstattung der Klimakammern bzw. Arbeitsgruppen-eigenen Gewächshauskojen v. a. Lichtintensität während der Projektlaufzeit noch nicht endgültig etabliert werden. Für die weitere Planung zur Modernisierung der Klimakammern und Gewächshäuser konnte ein Katalog für die Ausstattung insbesondere der Lichtenanlage erstellt werden. Ein vorhandenes weiteres Gewächshaus mit LED-Ausstattung konnte während der Projektlaufzeit getestet werden, eine Eignung für die Anzucht scheint zukünftig möglich. Durch die Anzucht im Topf unter Freilandbedingungen konnte dennoch eine respektable Anzahl an Kreuzungen durchgeführt werden, nachdem die aufwändige Kreuzungstechnik etabliert wurde. Die weitere Bearbeitung der Kreuzungsmethodik wird in einem bayerischen Projekt (BayStMELF; FKZ E/17/03) fortgeführt.

Die Methode von Balko et al. (2014) zur Kühletoleranz bei Sojasorten konnte wie geplant in der Klimakammer angewendet werden. Von insgesamt zehn Sorten und nahezu allen Prüflinien des Ertragsversuches 2017 wurden Daten zum Hülsenansatz unter Kühlestress im Vergleich zur nicht-gestressten Variante aus Klimakammerversuchen erhoben. Die Lichtbedingungen waren nicht mit natürlichen Bedingungen vergleichbar. Eine eindeutige Einteilung der Prüflinien in sensitiv, mäßig tolerant und ausgeprägt tolerant zur Selektion war damit in einer ersten Auswertung nicht möglich, ebenso wenig, hier witterungsbedingt, anhand der Felddaten des Versuchs in Ranzin. Bei diesem Merkmal besteht weiterer Forschungsbedarf.

Wie geplant wurde bei allen Verbundpartnern eine Vielzahl von unselektierten SSD-Linien beobachtet und daraus Zuchtstämme selektiert. Das von der LSA zur Verfügung gestellte Material wurde ab 2015 mit Material aus dem LfL-eigenen Zuchtprogramm ergänzt, um jährlich neues Zuchtmaterial zur Verfügung zu haben. Die erfassten Merkmale wurden nach dem ersten Jahr aufgrund der gemachten Selektionserfahrung eingegrenzt mit Hauptaugenmerk auf Reife und geschätzte Ertragsfähigkeit.

Die Ertragsprüfung 2016 mit 2015 selektiertem Zuchtmaterial wurde bei allen Verbundpartnern angelegt, lieferte aber nur begrenzt wertbare Daten. Aus den Versuchen im folgenden Jahr konnten allen Verbundpartnern zu den geprüften Linien umfangreiche Daten unter anderem zu Reife, Ertrag, TKM, Proteingehalt und Gehalte an essentiellen Aminosäuren für weitere Sortenentwicklung zur Verfügung gestellt werden. Anhand dieser Daten zeigte sich, dass gegenüber den aktuellen als Standards verwendeten Sorten ES Mentor und Merlin eine Verbesserung bzw. Neu-Kombination von relevanten Merkmalen wie frühere Reife bei hohem Proteinertrag im vorliegenden Zuchtmaterial erreicht werden konnte. Während der Projektlaufzeit sind von zwei Verbundpartnern insgesamt fünf Stämme zu Wertprüfungen in Deutschland bzw. europäischen Ausland angemeldet worden, zwei davon befinden sich 2018 im zweiten Prüfljahr des Bundessortenamtes.

Alle nötigen Schritte für eine eigene NIR-Kalibration zur Bestimmung von Proteingehalt und Trockensubstanzgehalte an ganzen Körnern wurden von Saatzucht Bauer während der Projektlaufzeit durchgeführt. Die Kalibration wird zur Verifizierung zum nächsten Sojaanbau vorliegen. Saatzucht Streng-Engelen hat das betriebseigene NIR-Gerät genutzt um das Zuchtmaterial und GB100-Sortiment aus eigenen Versuchen im Projekt zu analysieren.

Die Trypsininhibitoraktivität konnte aufgrund der kostenintensiven Analysen nur an einer Auswahl von 51 Akzessionen und Sorten in Auftrag gegeben werden. Die erhaltenen Ergebnisse fließen wie geplant in das Projekt Soja-NIRS (LfL-ILT) zur Entwicklung einer kostengünstigen NIR-Kalibration mit ein.

In allen Projektjahren fand eine Evaluierung von Genbankakzessionen statt. 2016 wurden bei allen Verbundpartnern jeweils 104, im Vorjahr bei der LfL selektierte und vermehrte, Akzessionen beobachtet und mittels NIR auf Parameter der Futterqualität analysiert. Aufgrund der geringen Saatgutmenge fand die Evaluierung 2017 entgegen der Ursprungsplanung nur bei der LfL statt. Jedoch konnte im Rahmen eines 2017 gestarteten bayerischen Projekts die Phänotypisierung und Genotypisierung dieses Materials intensiviert werden, was auch den Zielen des vorliegenden Vorhabens zugutekam.

Kreuzungen zur Erstellung neuen Zuchtmaterials fanden im Auftrag jährlich beim Servicepartner in Costa Rica statt, z. T. finanziert aus Eigenmitteln der LfL, während bei der LfL an der eigenen Kreuzungstechnik gearbeitet wurde. Die molekulare Verifikation des Kreuzungserfolgs wurde an der LfL weiterentwickelt und weitere Mikrosatellitenmarker dafür identifiziert. Im Rahmen des eigenen Kreuzungsprogramms wurden Kreuzungen zwischen Sorten und ausgewählten Genbankakzessionen durchgeführt, daraus sind allerdings bisher keine Nachkommen entstanden. Diese Arbeiten werden nach Projektende weitergeführt.

Bezüglich der Untersuchung der genomweiten genetischen Diversität konnten alle geplanten Ziele im Projekt erreicht werden. Es wurden Sojabohnenakzessionen verschiedener Herkunft und Reifegruppen sowie Material mit unterschiedlichem züchterischem Entwicklungsniveau von Landrasse bis Elitesorte untersucht und damit ein breitmögliches Diversitätsspektrum abgedeckt. Hinsichtlich der Kandidatengenanalyse wurden die Merkmale Blüte, Reife, Wuchstyp und Proteingehalt bearbeitet und entsprechende molekulare Marker etabliert bzw. entsprechende Sequenzierungsdaten für eine Haplotypisierung untersucht. Weitere Merkmale wie Kühletoleranz und Ölgehalt wären wünschenswert gewesen, konnten aber aus technischen Gründen nicht intensiver bearbeitet werden. Das Merkmal Kühletoleranz konnten nicht in die Assoziationsstudie aufgenommen werden, da keine belastbaren phänotypischen Daten ermittelt werden konnten. Aus den Kandidatengen für den Rohproteingehalt konnten bislang keine neuen, mit phänotypischen Merkmalen signifikant assoziierten Marker abgeleitet werden. Ursache hierfür kann eine eingeschränkte phänotypische Diversität sein oder, wahrscheinlicher, eine Regulation der einzelnen Proteinfractionen über eine differentielle Genexpression. Im Weiteren sollte nach Bestimmung des Anteils der verschiedenen Proteinfractionen eine erneute Assoziationsverrechnung durchgeführt werden. Die projektabschließende erste Assoziationsstudie brachte darüber hinaus viele untersuchenswerte Genorte zum Vorschein, welche einen deutlichen Einfluss auf züchtungsrelevante Merkmale der Sojazüchtung haben. Sie werden in weiteren, sich dem Projekt anschließenden Untersuchungen, weiter verfolgt und vertieft werden.

In den Ergebnisspool des vorliegenden Forschungsprojektes sind Ergebnisse des bayerischen Forschungsprojekts „Genpoolanalysen von Mais und Soja für Bayern“ (StMELF, Geschäftszeichen 31/499) sowie LfL-interner Arbeiten zu Soja, die u. a. durch das LfL-eigene Züchtungs- und Genomanalyseprogramm generiert werden, mit eingeflossen.

6 Zusammenfassung

Im Rahmen des Vorhabens wurden bei den vier Verbundpartnern Zuchtprogramme für die Entwicklung angepasster Sorten der Sojabohne auf- und ausgebaut. Kreuzungen zur Erstellung von genetisch diversem Material wurden bei einem Dienstleister in Costa Rica in Auftrag gegeben und parallel wurden an der Landesanstalt erstmals Erfahrungen zum Kreuzen der sehr kleinen Sojablüten gesammelt. Zudem wurde bei der Bearbeitung von mehreren tausend unselektierten Nachkommenschaften aus Kreuzungen unterschiedlichster Sorten Routine bei der Selektion von frühreifen, ertragsstarken Linien entwickelt und gemeinsame Leistungsprüfungen selektierter Zuchtstämme mit Vergleichssorten durchgeführt.

Zur weiteren Charakterisierung und Selektion des Zuchtmaterials wurde die Futterqualität, wie Proteingehalte, mittels Nahinfrarotspektroskopie untersucht, sowie die Linien zur Ermittlung der Kühletoleranz zur Blüte Kühlestress ausgesetzt.

Im Vergleich mit den in der landwirtschaftlichen Praxis verbreiteten Standardsorten ES Mentor (00) und Merlin (000) konnten Zuchtstämme identifiziert werden, die bei hohem Ertrag früher abreifen bzw. bei ähnlich früher Reife einen höheren Proteinertrag liefern. Das entwickelte Zuchtmaterial fand Eingang in die Zuchtprogramme der privaten Verbundpartner. Einzelne überlegene Zuchtstämme befinden sich bereits im Verfahren zur Sortenzulassung oder in Vorbereitung darauf. Die Zusammenarbeit der Verbundpartner wird nach Projektende in der Arbeitsgruppe „Sojabohne“ der Bayerischen Pflanzenzuchtgesellschaft eG & Co KG fortgeführt.

Molekulargenetische Analysen konnten zur Identifikation der Kreuzungseltern sowie dem Ausschluss von Selbstungen in den Nachkommenschaften eingesetzt werden. Clusteranalysen mittels Genotypisierung über einen SNP-Chip zeigten in einer Stammbaumanalyse innerhalb des derzeit genutzten Elitematerials eine sehr geringe genetische Diversität. Im Gegensatz hierzu konnte in den untersuchten Genbankakzessionen eine große genetische Diversität festgestellt werden, die schwerpunktmäßig aus Asien, der Herkunftsregion der Sojabohne, stammen. Dieses Potential soll durch Selektion und Einkreuzen vielversprechender Genotypen in ertragreiches und angepasstes Sortenmaterial für die heimische Züchtung nutzbar gemacht werden.

Die aufwändige phänotypische Selektion von Kreuzungsnachkommenschaften soll langfristig durch molekulare Marker effizienter gestaltet werden. Der erste Schritt wurde gemacht mit der Etablierung von publizierten Markern für die Merkmale Blüte und Reife. In Assoziationsstudien konnten zudem mehrere signifikante Zusammenhänge zwischen den Merkmalen Reife, Blühzeitpunkt, Protein- und Ölgehalt und den genotypischen Daten im bearbeiteten Genpool gefunden werden. Die Identifizierung und Verifizierung von Kandidatengen zu diesen und weiteren Merkmalen wird in den nächsten Jahren mit Hilfe von weiteren noch zu erhebenden phänotypischen Daten vorangetrieben werden mit dem Ziel eine markergestützte Selektion im Hochdurchsatz zu ermöglichen. Mit dem Einstieg in die phänotypische, wie genotypische Charakterisierung dieser pflanzen genetischen Ressourcen wurde damit erfolgreich begonnen.

7 Literaturverzeichnis

- Balko C, Hahn V, Ordon F (2014) Kühletoleranz bei der Sojabohne (*Glycine max* (L.) Merr.) – Voraussetzung für die Ausweitung des Sojaanbaus in Deutschland. *Journal für Kulturpflanzen* 66 (11): 378–388
- Bandillo N, Jarquin D, Song Q, Nelson R, Cregan P, Specht J, Lorenz A (2015) A population structure and genome-wide association analysis on the USDA soybean germplasm collection. *Plant Genome* 8:1-13
- Beilinson V, Chen Z, Shoemaker RC, Fischer RL, Goldberg RB, Nielsen NC (2002) Genomic organization of glycinin genes in soybean. *Theor Appl Genet* 104:1132-1140
- Bernard RL, 1971. Two genes for time of flowering and maturity in soybeans. *Crop Sci.* 11:242-244
- Bradbury PJ, Zhang Z, Kroon DE, Casstevens TM, Ramdoss Y, Buckler ES. (2007) TASSEL: Software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23:2633-2635
- Brade W, Flachowsky G, Schrader L (Hrsg.) (2008) Legehuhnzucht und Eierzeugung - Empfehlungen für die Praxis; Johann Heinrich von Thünen-Institut
- Buzzell RI, 1971. Inheritance of a soybean flowering response to fluorescent-daylength conditions. *Can. J. Genet. Cytol.* 13: 703-707
- Buzzell RI, Voldeng HD, 1980. Inheritance of insensitivity to long day length. *Soybean Genet Newsl.* 7:26-29
- Carlson JB, Lersten NR (1987) Reproductive morphology. In: Wilcox JR (ed.) *Soybeans: improvement, production and uses*. 2nd edn. Madison: American Society of Agronomy and Academic Press, 95-133
- Cober ER, Tanner JW and Voldeng HD, 1996a. Genetic control of photoperiod response in early-maturing near-isogenic soybean lines. *Crop Sci.* 36: 601-605
- Cober ER, Tanner JW, Voldeng HD, 1996b. Soybean photoperiod-sensitivity loci respond differentially to light quality. *Crop Sci.* 36:606-610
- Cober ER, Molnar SJ, Charette M, Voldeng HD (2010) A new locus for early maturity in soybean. *Crop Sci* 50: 524–527
- Cregan PB, 2008. The Soybean Molecular Genetic Linkage Map. In: Stacey G (ed) *Genetics and Genomics of Soybean*. Springer Science+Business Media LLC, 79-89
- Diers BW, Beilinson V, Nielsen NC, Shoemaker RC (1994) Genetic mapping of the *Gy4* and *Gy5* glycinin genes in soybean and the analysis of a variant of *Gy4*. *Theor Appl Genet* 89: 297-304
- Douglas Bates, Martin Maechler, Ben Bolker, Steve Walker (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 7:1-48. doi:10.18637/jss.v067.i01
- Egli DB (2011) Time and the productivity of agronomic crops and cropping systems. *Agron J* 103: 743–750
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14: 2611-2620
- Gai J, Chen L, Zhang Y, Zhao T, Xing G, Xing H, 2012. Genome-wide genetic dissection of germplasm resources and implications for breeding by design in soybean. *Breed Sci.* 61:495-510
- Gizlice Z, Carter TE Jr, Burton JW, 1994. Genetic base for North American public soybean cultivars released between 1947 and 1988. *Crop Sci.* 34:1143-1151

- Grainger, CM, Rajcan I, (2014) Characterization of genetic changes in a multi-generational pedigree of an elite Canadian soybean cultivar. TAG 2014 127:211-229
- Häffner J, Kahrs D, Limper J, de Mol J, Peisker M: Aminosäuren in der Tierernährung; AWT-Schriftenreihe; Arbeitsgemeinschaft für Wirkstoffe in der Tierernährung (AWT) e. V. <http://www.awt-feedadditives.org/de/node/11> Stand 21.08.2018
- Hahn V and Würschum T (2014) Molecular genetic characterization of Central European soybean breeding germplasm. Plant Breeding 133:748–755
- Han T, Gai J, Chen F, Qiu J (1998) Photoperiod response and agronomic characters of soybean varieties with different growth period structures. Acta Agron Sin 24: 550–557
- Hurburgh CR Jr, Brumm TJ, Guinn JM, Hartwig RA (1990) Protein and oil patterns in US and world soybean markets. J Am Oil Chem Soc 67:966–973
- Jia H, Jiang B, Wu C, Lu W, Hou W, et al. (2014) Maturity Group Classification and Maturity Locus Genotyping of Early-Maturing Soybean Varieties from High-Latitude Cold Regions. PLoS ONE 9(4): e94139. doi:10.1371
- Jiang B, Yue Y, Gao Y, Ma L, Sun S, et al. (2013) GmFT2a polymorphism and maturity diversity in soybeans. PLoS ONE 8: e77474
- Joshi T, Michael R. Fitzpatrick, Shiyuan Chen, Yang Liu, Hongxin Zhang, Ryan Z. Endacott, Eric C. Gaudiello, Gary Stacey, Henry T. Nguyen and Dong Xu (2014) Soybean knowledge base (SoyKB): a web resource for integration of soybean translational genomics and molecular breeding. Nucleic Acids Research, 2014, Vol. 42, Database issue D1245–D1252, doi:10.1093/nar/gkt905
- Katayose Y, Kanamori H, Shimomura M, Ohyanagi H, Ikawa H, Minami H, Shibata M, Ito T, Kurita K, Ito K et al., 2012. DaizuBase, an integrated soybean genome database including BAC-based physical maps. Breed Sci. 61:661-664
- Kong F, Nan H, Cao D, Li Y, Wu F, Wang J, Lu S, Yuan X, Cober ER, Abe J, Liu B (2014) A new dominant gene *E9* conditions early flowering and maturity in soybean. Crop Sci 54:2529–2535
- Kurasch A, Hahn V, Leiser WL, Starck N, Würschum T (2017) Phenotypic analysis of major agronomic traits in 1008 RILs from a diallel of early European soybean varieties. Crop Sci 57:726–738
- Kuznetsova A, Brockhoff PB and Christensen RHB (2017). “lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. Journal of Statistical Software 82:1-26. doi: 10.18637/jss.v082.i13 (URL: <http://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>)
- Lam HM, Xu X, Liu X, Chen W, Yang G, Wong FL, Li MW, He W, Qin N, Wang B et al., 2010. Resequencing of 31 wild and cultivated soybean genomes identifies patterns of genetic diversity and selection. Nature Genet. 42:1053-1059
- Langewisch T, Lenis J, Jiang G-L, Wang D, Pantalone V, Bilyeu K (2017) The development and use of a molecular model for soybean maturity groups. BMC Plant Biology 17:91
- Li Y, Reif J, Hong H, Li H, Liu Z, Ma J, Li J, Tian Y, Li Y, Li W, Qiu L (2018a) Genome-wide association mapping of QTL underlying seed oil and protein contents of a diverse panel of soybean accessions. Plant Sci 266:95-101
- Li D, Zhao X, Han Y, Li W, Xie F (2018b) Genome-wide association mapping for seed protein and oil contents using a large panel of soybean accessions. Genomics: in press <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2018.01.004>
- Liu B, Kanazawa A, Matsumura H, Takahashi R, Harada K, et al. (2008) Genetic redundancy in soybean photoresponses associated with duplication of the phytochrome A gene. Genetics 180: 995–1007
- Nielsen NC, Dickinson CD, Cho T, Thanh V, Scallan BJ, Fischer RL, Sims TL, Drews GN, Goldberg RB (1989) Characterization of the glycinin gene family in soybean. The Plant Cell 1:313-328

- Patil G, Mian R, Vuong T, Pantalone V, Song Q, Chen P, Shannon GJ, Carter TC, Nguyen HT (2017) Molecular mapping and genomics of soybean seed protein: a review and perspective for the future. *Theor Appl Genet* 130:1975–1991
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959
- Qiu LJ, Xing LL, Guo Y, Wang J, Jackson SA, Chang RZ (2013) A platform for soybean molecular breeding: the utilization of core collections for food security. *Plant Mol Biol* 83:41–50
- R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- RStudio Team (2015) RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/> version 1.0.136
- Schmutz J, Cannon SB, Schlueter J, Ma J, Mitros T, Nelson W, Hyten DL, Song Q, Thelen JJ, Cheng J, et al. 2010. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature* 463:178-183
- Song QJ, Hyten DL, Quigley CV, Jia GF, Fickus EW, Cregan PB, 2013. Development and Evaluation of a high-density Infinium beadchip SoySNP50K. *PLoS ONE* 8: e54985
- Sun H, Jia Z, Cao D, Jiang B, Wu C, et al. (2011) GmFT2a, a soybean homolog of FLOWERING LOCUS T, is involved in flowering transition and maintenance. *PLoS ONE* 6: e29238
- Tavaud-Pirra M, Sartre P, Nelson R, Santoni S, Texier N, Roumet P, 2009. Genetic Diversity in a Soybean Collection. *Crop Sci.* 49: 895-902
- Vuong, TD 2013 High-throughput SNP genotyping platform for marker assisted breeding in Soybean. PAG2013; <http://www.fluidigm.com/pag-2013-snp-genotyping-markers-video.html>
- Walker DR, Monteros MJ, Yates JL, 2010. Molecular Breeding. In: Bilyeu K, Ratnaparkhe MB, Kole C (ed.) *Genetics, genomics and breeding in soybean*. CRC Press, 123-167
- Watanabe S, Xia Z, Hideshima R, Tsubokura Y, Sato S, et al. (2011) A mapbased cloning strategy employing a residual heterozygous line reveals that the GIGANTEA gene is involved in soybean maturity and flowering. *Genetics* 188: 260–395
- Watanabe S, Harada K, Abe J. 2012. Genetic and molecular bases of photoperiod responses of flowering in soybean. *Breed Sci.* 61:531-43
- Xia Z, Zhai H, Liu B, Kong F, Yuan X, et al. (2012a) Molecular identification of genes controlling flowering time, maturity, and photoperiod response in soybean. *Plant Syst Evol* 298: 1217–1227
- Xia Z, Watanabe S, Yamada T, Tsubokura Y, Nakashima H, et al. (2012b) Positional cloning and characterization reveal the molecular basis for soybean maturity locus E1 that regulates photoperiodic flowering. *Pro Natl Acad Sci USA* 109: E2155–E2164
- Xu M, Xu Z, Liu B, Kong F, Tsubokura Y, Watanabe S, Xia Z, Harada K, Kanazawa A, Yamada T, Abe J (2013) Genetic variation in four maturity genes affects photoperiod insensitivity and PHYA-regulated post-flowering responses of soybean. *BMC Plant Biology* 13:91
- Zhang Z, Ersoz E, Lai C-Q, Todhunter RJ, Tiwari HK, Gore MA, Bradbury PJ, Yu J, Arnett DK, Ordovas JM, Buckler ES. (2010) Mixed linear model approach adapted for genome-wide association studies. *Nature Genetics* 42:355-360
- Zhao C, Takeshima R, Zhu J, Xu M, Sato M, Watanabe S, Kanazawa A, Liu B, Kong F, Yamada T, Abe J (2016) A recessive allele for delayed flowering at the soybean maturity locus *E9* is a leaky allele of *FT2a*, a *FLOWERING LOCUS T* ortholog. *BMC Plant Biol* 16:20

8 Veröffentlichungen von Projektergebnissen

Tagungsbeiträge als Poster, Vorträge und Textbeiträge

Riedel C., Büttner B., Gellan S., Schweizer G., Eder J. (2015): Prüfung und Entwicklung von Sojabohnenzuchtmaterial für die Fütterung. Poster und Textbeitrag in LfL-Schriftreihe Nr.6 S.81-83, Bericht zur Soja-Tagung 2015 im Rahmen des bundesweiten Soja-Netzwerks 26.-27.11.2015 in Freising.

Riedel C., Büttner B., Gellan S., Schweizer G., Eder J. (2016): Prüfung und Entwicklung von Sojabohnenzuchtmaterial für die Fütterung. Poster auf den DLG-Feldtagen 14.-16.Juni 2016 in Haßfurt.

Riedel C., Büttner B., Gellan S., Schwertfirm G., Schweizer G., Eder J. (2016): Prüfung und Entwicklung von Sojabohnenzuchtmaterial für die Fütterung mit dem Ziel der Implementierung mittelständischer Züchtungsaktivitäten unter besonderer Berücksichtigung der Merkmale Frühzeitigkeit, Kältetoleranz und Proteinertrag. Vortrag und Beitrag im Tagungsband. Kongress „Hülsenfrüchte – Wegweiser für eine nachhaltigere Landwirtschaft“ der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung 3.-4. November 2016 in Berlin.

Schwertfirm G., Riedel C., Büttner B., Gellan S., Eder J., Schweizer G.(2017): Analysis of soybean gene pools in the frame of the Bavarian Protein Initiative. Poster und Beitrag im Tagungsband. 5. Quedlinburger Pflanzenzüchtungstage in Kombination mit der Jahrestagung der GPZ AG Genomanalyse 1.-3. März 2017 in Gatersleben.

Eder J. (2017): Sojazüchtung in Bayern - Aktivitäten der LfL. Vortrag und Beitrag im Tagungsband, Heimisches Eiweiß - Potentiale und Perspektiven für die bayerische Landwirtschaft – LfL-Jahrestagung am 19. Oktober 2017 in Plankstetten.

Riedel C., Gellan S., Schweizer G., Eder J. (2017): Verbundprojekt zur Züchtung von Sojabohnen für die Fütterung in Süddeutschland. Poster und Beitrag im Tagungsband der Sojtagung am 6.-7. Dezember 2017 in Rastatt.

Schwertfirm G., Büttner B., Riedel C., Gellan S., Eder J., Schweizer G. (2017): Genetic diversity of soybean accession from early maturity groups. Poster und Beitrag im Tagungsband der Sojtagung am 6.-7. Dezember 2017 in Rastatt.

Schwertfirm G., Büttner B., Riedel C., Gellan S., Eder J., Schweizer G. (2018): Genetic diversity of soybean accession from early maturity groups; German Plant Breeding Conference vom 28. Februar bis 2. März 2018 in Wernigerode.

Eigene Veranstaltungen

Führung durch die Feldversuche Körnerleguminosen mit Vortrag und Postern im Rahmen des Feldtags Körnerleguminosen - Anbau, Züchtung, Verwertung am 30. Juni 2016, Versuchsfeld Oberhummel.

Vorstellung der Aktivitäten und Ergebnisse unter dem Thema „Soybean breeding at LfL - Institute for Crop Science and Plant Breeding“ bei Besuch von Wissenschaftlern vom Institute of Field and Vegetable Crops aus Serbien am 22. August 2016 in Freising.

Infostand mit Postern zur Sojazüchtung und Arbeiten im Projekt am Tag der offenen Tür der Landesanstalt für Landwirtschaft in Freising am 17. September 2017.

Information einer Delegation von Landwirtschaftsvertretern aus Österreich durch Kurzvorträge zum Stand der Sojazüchtung in Bayern mit vorangegangenem Besuch der ADM in Straubing am 17. Oktober 2017.

Infostand mit Postern zur Sojazüchtung und Arbeiten im Projekt am Tag der offenen Tür der Landesanstalt für Landwirtschaft in Grub am 8. Juli 2018.

Online-Veröffentlichungen

Website zum Projekt im Internetauftritt der Landesanstalt für Landwirtschaft mit dem Titel „Prüfung und Entwicklung von Sojabohnenzuchtmaterial für die Fütterung“ seit Mai 2015.

Geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Projektergebnisse

Teilnahme mit Vortrag und Poster an der Sojatagung am 23.-24. Oktober 2018.

9 Anhang zu „Durchführung und Ergebnisse“

Tab. 9: Sorten als Kreuzungseltern der beobachteten Nachkommenschaften; Informationen zur Reifegruppierung und Zulassung aus Beschreibenden Sortenlisten Deutschland und Österreich

Name	Reifegruppierung	Registrierung
Amadea	000	Österreich (2015)
Amarok	000	Schweiz (D 2014)
Aveline	000/00	Schweiz (2005)
Cordoba	000/00	Kanada (2007)
ES Mentor	00	Frankreich (2009)
Fiskeby V	00	Schweden
Gallec	000	Schweiz (2003)
Herta PZO	00	Kanada (2013)
Korus	00	Kanada (2011)
Lissabon	000	Österreich (2008)
Merlin	000	Österreich (1997)
OAC Champion	00	Kanada (2008)
Obelix	000	Schweiz (2014)
Opaline	00/000	Schweiz (2009)
Pollux	00/000	Schweiz (2012)
Primus	00	Kanada (2006)
Proteix	00	Schweiz (2009)
Protibus	000	Schweiz (2013)
Protina	000/00	Kanada (2006)
Sigalia	00	Frankreich (2009)
Sirelia	000	Frankreich (2012)
Solena	00/000	Frankreich (2012)
Sultana	000	Frankreich (2009)
SY Eliot	00/000	Österreich (2013)
Tourmaline	00/000	Schweiz (2013)

Tab. 10: Übersicht über Kühletoleranzversuche in der Klimakammer 2016 bis 2018

Bez.	Zeitraum	Material	Bemerkung
T-I	Jan. - Mai 2016	Merlin, Amarok, Primus, Aveline	Vorversuch in 3Liter-Töpfen
T-II	Juli - Sept. 2016	18 Linien (LP2016), Sorten 1 und 2	eingeschränkt wertbar; 16h Tageslänge
T-III	Feb. - März 2017	21 Linien (LP2016); Sorten 1 bis 5	sehr geringer Aufgang; abgebrochen
T-IV	März - Mai 2017	21 Linien (LP2017); Sorten 1 bis 5	Versuch wertbar
T-V	Mai - Juli 2017	21 Linien (LP2017); Sorten 1 bis 7	Technische Störung mit Totalausfall einer Klimakammer in der Anzuchtperiode; Pflanzen haben sich erholt, Versuch wertbar
T-VI	Juli - Sept 2017	20 Linien (LP2017); Sorten 1 bis 5 und 8 bis 10	Versuch wertbar
T-VII	Sept. - Nov. 2017	20 Linien (LP2017); Sorten 1 bis 7	abgebrochen aufgrund technischer Störung mit Temperatur > 35°C und Totalausfall kurz vor Beginn Blüte; Wiederholung anschließend
T-VIII	Nov. 2017 - März 2018	Wiederholung von T-VII	Versuch wertbar

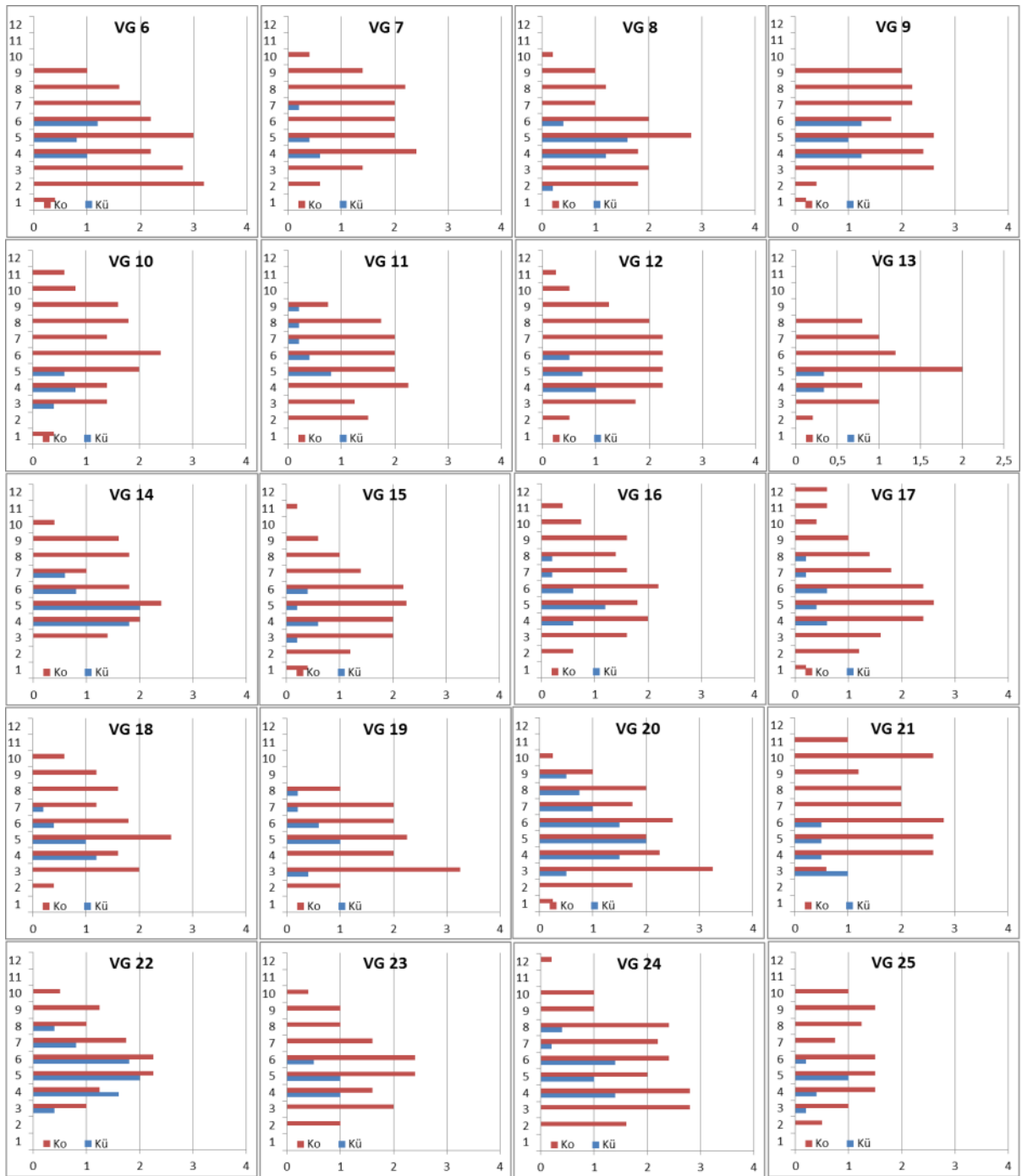


Abb. 38: Mittlere Hülsenanzahl (X-Achse) der Kühle (blau)- und Kontroll (rot)-Variante an den verschiedenen Nodien (Y-Achse) bei den Prüflinien im Kühletest T-IV am Ende der Kühlephase (Auswahl)

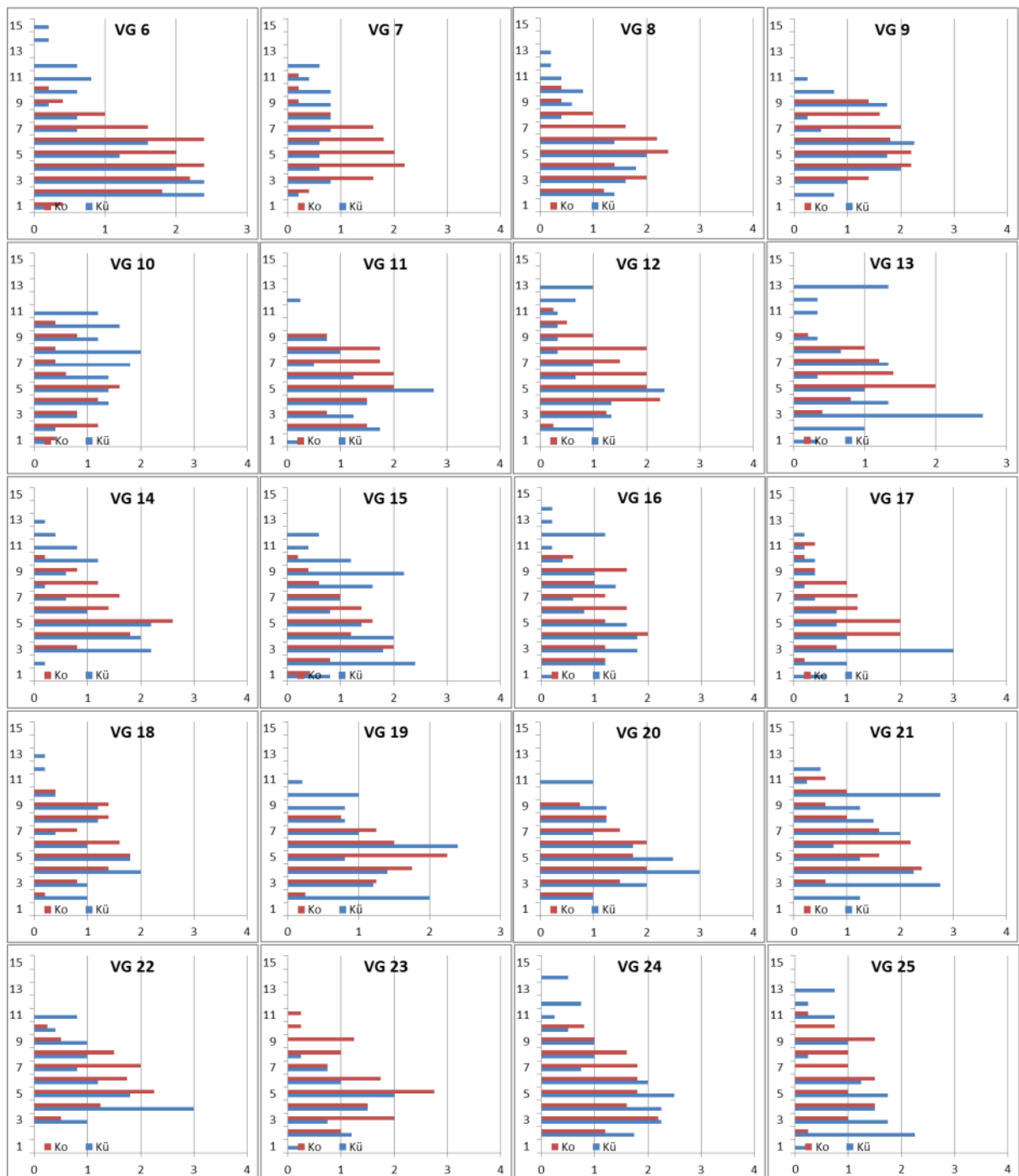


Abb. 39: Mittlere Hülsenanzahl (X-Achse) der Kühle (blau)- und Kontroll-Variante (rot) an den verschiedenen Nodien (Y-Achse) bei den Prüflinien im Kühletest T-IV zur Reife (Auswahl)

Tab. 11: Geringste signifikante Differenzen aus der Varianzanalyse (t-Test, $\alpha=0,05$) für eine Auswahl der 2017 erhobenen Merkmale aus der Verrechnung über alle Orte für die Faktoren Prüflinie und Umwelt

Merkmals	Prüflinie	Umwelt (Ort)
Hülsenreife (Tage nach Saat)	4,3867	0,8562
Kornertrag (TM86%)	5,0696	0,9895
Tausendkorngewicht	12,720	2,4828
Rohproteingehalt	0,0156	0,0031
Rohölgehalt	0,0077	0,0015
Proteinertrag	2,4316	0,4746

Tab. 12: Rangfolge der Prüflinien der Ertragsprüfung 2017 in der statistischen Verrechnung der Proteinertages über alle Orte; Vergleichsorten sind grau hinterlegt; Mittelwerte mit demselben Buchstaben sind nicht signifikant verschieden (t-Test, $\alpha=0,05$)

t-Gruppierung (Proteinertag)															Mittelwert	N	Bezeichnung									
														A							18.801	4	ES Mentor			
				B										A							18.705	4	242			
				B										A					C		18.649	4	217			
				B										A					C		18.643	4	235			
				B				D						A					C		18.397	4	232			
	E			B				D						A					C		17.878	4	234			
	E			B				D						A					C		F	17.805	4	207		
	E			B				D						A		G			C		F	17.403	4	121		
	E			B				D		H				A		G			C		F	17.296	4	107		
	E			B		I		D		H				A		G			C		F	17.053	4	145		
	E	J		B		I		D		H				A		G			C		F	17.034	4	228		
	E	J		B		I		D		H				A		G			C		F	17.020	4	131		
K	E	J		B		I		D		H				A		G			C		F	16.967	4	127		
K	E	J		B		I		D		H				A		G			C		F	L	16.779	4	231	
K	E	J		B		I		D		H				A		G			C		M	F	L	16.689	4	219
K	E	J		B		I		D		H				A		G	N		C		M	F	L	16.629	4	Amarok
K	E	J		B		I		D		H				A	O	G	N		C		M	F	L	16.599	4	210
K	E	J		B		I		D		H	P			A	O	G	N		C		M	F	L	16.550	4	245
K	E	J		B		I		D		H	P	Q		O	G	N		C		M	F	L	16.323	4	243	
K	E	J		B		I		D		H	P	Q		O	G	N		C		M	F	L	16.319	4	136	
K	E	J		B		I		D		H	P	Q		O	G	N		C		M	F	L	16.304	4	142	
K	E	J		B		I		D		H	P	Q		O	G	N		C		M	F	L	16.288	4	208	
K	E	J		R		I		D		H	P	Q		O	G	N		C		M	F	L	16.272	4	215	
K	E	J		R		I		D		H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	16.209	4	213	
K	E	J		R		I		D		H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	16.194	4	122	
K	E	J		R		I		D		H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	16.191	4	153	
K	E	J		R		I		D		H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	16.153	4	211	
K	E	J		R		I		D	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	16.121	4	230	
K	E	J		R		I		D	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	16.097	4	252	
K	E	J		R		I		D	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	16.095	4	241	
K	E	J		R		I		D	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	16.035	4	133	
K	E	J		R		I		D	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	15.993	4	214	
K	E	J		R		I		U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	15.900	4	227	
K	E	J		R		I		U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	15.868	4	106	
K	E	J		R		I		U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	15.861	4	110	
K	E	J		R		I		U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	15.839	4	218	
K	E	J		R		I		U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	15.837	4	244	
K	E	J		R		I		U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	15.814	4	251	
K	E	J		R		I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	15.702	4	222	
K	E	J		R		I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	15.676	4	229	
K	E	J		R		I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	15.668	4	124	
K	E	J		R		I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	15.594	4	SY Eliot	
K	E	J		R	W	I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	15.528	4	108	
K	E	J		R	W	I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	15.508	4	130	
K	X	J		R	W	I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	15.438	4	155	
K	X	J		R	W	I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	15.424	4	129	
K	X	J		R	W	I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		F	L	15.417	4	253	
K	X	J		R	W	I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		L	15.357	4	115		
K	X	J		R	W	I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M		L	15.281	4	147		
K	X	J		R	W	I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M	Y	L	15.279	4	149		
K	X	J		R	W	I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M	Y	L	15.241	4	120		
K	X	J		R	W	I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M	Y	L	15.237	4	125		
K	X	J		R	W	I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M	Y	L	15.171	4	206		
K	X	J		R	W	I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M	Y	L	15.168	4	134		
K	X	J		R	W	I	V	U	T	H	P	Q		O	G	N	S		M	Y	L	15.147	4	111		

t-Gruppierung (Proteinерtrag)																	Mittelwert	N	Bezeichnung			
K	X	J	Z	R	W	I	V	U	T	H	P	Q	O	G	N	S	M	Y	L	15.129	4	236
K	X	J	Z	R	W	I	V	U	T	H	P	Q	O	G	N	S	M	Y	L	15.098	4	233
K	X	J	Z	R	W	I	V	U	T	H	P	Q	O	G	N	S	M	Y	L	15.095	4	209
K	X	J	Z	R	W	I	V	U	T	H	P	Q	O	G	N	S	M	Y	L	15.047	4	223
K	X	J	Z	R	W	I	V	U	T	H	P	Q	O	G	N	S	M	Y	L	15.031	4	146
K	X	J	Z	R	W	I	V	U	T	H	P	Q	O		N	S	M	Y	L	14.958	4	139
K	X	J	Z	R	W	I	V	U	T	H	P	Q	O		N	S	M	Y	L	14.939	4	132
K	X	J	Z	R	W	I	V	U	T	H	P	Q	O		N	S	M	Y	L	14.915	4	221
K	X	J	Z	R	W	I	V	U	T	H	P	Q	O		N	S	M	Y	L	14.907	4	143
K	X	J	Z	R	W	I	V	U	T		P	Q	O		N	S	M	Y	L	14.835	4	150
K	X	J	Z	R	W	I	V	U	T		P	Q	O		N	S	M	Y	L	14.822	4	225
K	X	J	Z	R	W	I	V	U	T		P	Q	O		N	S	M	Y	L	14.758	4	246
K	X	J	Z	R	W	I	V	U	T		P	Q	O		N	S	M	Y	L	14.756	4	126
K	X	J	Z	R	W	I	V	U	T		P	Q	O		N	S	M	Y	L	14.732	4	237
K	X	J	Z	R	W	I	V	U	T		P	Q	O		N	S	M	Y	L	14.671	4	247
K	X	J	Z	R	W	I	V	U	T		P	Q	O		N	S	M	Y	L	14.660	4	216
K	X	J	Z	R	W		V	U	T		P	Q	O		N	S	M	Y	L	14.605	4	112
K	X		Z	R	W		V	U	T		P	Q	O		N	S	M	Y	L	14.558	4	212
K	X		Z	R	W		V	U	T		P	Q	O		N	S	M	Y	L	14.550	4	114
	X		Z	R	W		V	U	T		P	Q	O		N	S	M	Y	L	14.530	4	154
	X		Z	R	W		V	U	T		P	Q	O	AA	N	S	M	Y	L	14.461	4	137
	X		Z	R	W		V	U	T		P	Q	O	AA	N	S	M	Y	L	14.444	4	249
	X		Z	R	W		V	U	T		P	Q	O	AA	N	S	M	Y	L	14.430	4	250
	X		Z	R	W		V	U	T		P	Q	O	AA	N	S	M	Y	L	14.425	4	148
	X		Z	R	W		V	U	T	BB	P	Q	O	AA	N	S	M	Y		14.322	4	255
	X		Z	R	W		V	U	T	BB	P	Q	O	AA	N	S	M	Y		14.297	4	138
	X		Z	R	W		V	U	T	BB	P	Q	O	AA	N	S	M	Y		14.296	4	128
	X		Z	R	W		V	U	T	BB	P	Q	O	AA	N	S	M	Y		14.284	4	118
	X		Z	R	W		V	U	T	BB	P	Q	O	AA	N	S	M	Y		14.262	4	239
	X		Z	R	W		V	U	T	BB	P	Q	O	AA	N	S		Y		14.256	4	248
	X		Z	R	W		V	U	T	BB	P	Q	O	AA		S		Y		14.197	4	116
	X		Z	R	W		V	U	T	BB	P	Q		AA		S		Y		14.156	4	240
	X		Z	R	W		V	U	T	BB	P	Q		AA		S		Y		14.145	4	109
	X		Z	R	W		V	U	T	BB		Q		AA		S		Y		14.113	4	224
	X		Z	R	W		V	U	T	BB		Q		AA		S		Y		14.045	4	113
	X		Z	R	W		V	U	T	BB		Q		AA		S		Y		14.043	4	Merlin
	X		Z	R	W		V	U	T	BB		Q		AA		S		Y		13.981	4	238
	X		Z	R	W		V	U	T	BB				AA		S		Y		13.917	4	123
	X		Z	R	W		V	U	T	BB				AA		S		Y		13.843	4	144
	X		Z		W		V	U	T	BB				AA		S		Y		13.788	4	135
	X		Z		W		V	U	T	BB				AA				Y		13.716	4	Sultana
	X		Z		W		V	U	T	BB				AA				Y		13.701	4	151
	X		Z		W		V	U		BB				AA				Y		13.524	4	220
	X		Z		W		V			BB				AA				Y		13.291	4	254
	X		Z		W					BB				AA				Y		13.157	4	226
	X		Z							BB				AA				Y		13.021	4	140
			Z							BB				AA				Y		12.849	4	152
			Z							BB				AA						12.703	4	141
										BB				AA						12.062	4	119
										BB										11.990	4	117

Tab. 13: Rangfolge der Prüflinien der Ertragsprüfung 2017 in der statistischen Verrechnung der Reife der Hülsen in Tagen nach der Saat über alle Orte; Vergleichsorten sind grau hinterlegt; Mittelwerte mit demselben Buchstaben sind nicht signifikant verschieden (t-Test, $\alpha=0,05$)

t-Gruppierung												Mittelwert	N	Bezeichnung	
							A					144.125	4	242	
							B					138.625	4	152	
			C				B					137.750	4	148	
			C				B					137.375	4	112	
			C				B		D			136.875	4	249	
			C		E		B		D			136.750	4	ES Mentor	
F			C		E		B		D			136.125	4	237	
F			C		E		B		D		G	135.938	4	SY Eliot	
F			C		E		B	H	D		G	135.000	4	246	
F			C		E	I	B	H	D		G	134.875	4	107	
F			C	J	E	I	B	H	D		G	134.750	4	121	
F	K		C	J	E	I	B	H	D		G	134.375	4	129	
F	K		C	J	E	I	B	H	D		G	134.250	4	141	
F	K		C	J	E	I		H	D		G	134.125	4	243	
F	K		C	J	E	I	L	H	D		G	133.750	4	111	
F	K		M	J	E	I	L	H	D		G	132.750	4	137	
F	K		M	J	E	I	L	H	D		G	132.500	4	131	
F	K		M	J	E	I	L	H			G	132.375	4	138	
F	K		M	J		I	L	H	N		G	132.250	4	149	
F	K		M	J	O	I	L	H	N		G	131.750	4	245	
P	K		M	J	O	I	L	H	N		G	131.625	4	234	
P	K		M	J	O	I	L	H	N			131.500	4	116	
P	K		M	J	O	I	L	H	N		Q	131.375	4	241	
R	P	K	M	J	O	I	L	H	N		Q	131.125	4	154	
R	P	K	M	J	O	I	L	H	N		Q	S	131.000	4	151
R	P	K	M	J	O	I	L	H	N		Q	S	131.000	4	244
R	P	K	M	J	O	I	L	H	N	T	Q	S	130.875	4	248
R	P	K	M	J	O	I	L	H	N	T	Q	S	130.875	4	235
R	P	K	M	J	O	I	L	U	N	T	Q	S	130.500	4	230
R	P	K	M	J	O		L	U	N	T	Q	S	130.375	4	108
R	P	K	M		O	V	L	U	N	T	Q	S	130.125	4	233
R	P		M	W	O	V	L	U	N	T	Q	S	129.625	4	255
R	P		M	W	O	V	L	U	N	T	Q	S	129.625	4	153
R	P		M	W	O	V	L	U	N	T	Q	S	129.500	4	250
R	P		M	W	O	V	L	U	N	T	Q	S	129.375	4	136
R	P		M	W	O	V	L	U	N	T	Q	S	129.375	4	135
R	P		M	W	O	V		U	N	T	Q	S	129.250	4	132
R	P		M	W	O	V		U	N	T	Q	S	129.125	4	232
R	P		M	W	O	V		U	N	T	Q	S	129.125	4	114
R	P		M	W	O	V		U	N	T	Q	S	129.000	4	210
R	P		M	W	O	V		U	N	T	Q	S	128.875	4	206
R	P		M	W	O	V	X	U	N	T	Q	S	128.375	4	133
R	P		Y	W	O	V	X	U	N	T	Q	S	127.875	4	238
R	P		Y	W	O	V	X	U		T	Q	S	127.750	4	120
R	P		Y	W	O	V	X	U		T	Q	S	127.625	4	113
R	P		Y	W	O	V	X	U		T	Q	S	127.500	4	236
R	P		Y	W	O	V	X	U		T	Q	S	127.500	4	229
R	P		Y	W	O	V	X	U	Z	T	Q	S	127.375	4	150
R	P		Y	W		V	X	U	Z	T	Q	S	127.250	4	209
R	P		Y	W		V	X	U	Z	T	Q	S	127.250	4	247
R	P		Y	W	A	V	X	U	Z	T	Q	S	127.000	4	231
R			Y	W	A	V	X	U	Z	T	Q	S	127.000	4	118
R			Y	W	A	V	X	U	Z	T	Q	S	127.000	4	217
R	B		Y	W	A	V	X	U	Z	T		S	126.875	4	240
R	B		Y	W	A	V	X	U	Z	T		S	126.875	4	127

t-Gruppierung													Mittelwert	N	Bezeichnung
	B		Y	W	A	V	X	U	Z	T	C	S	126.625	4	228
	B		Y	W	A	V	X	U	Z	T	C		126.563	4	Sultana
	B	D	Y	W	A	V	X	U	Z		C		126.375	4	155
	B	D	Y	W	A	V	X	E	Z		C		125.980	4	Amarok
	B	D	Y	W	A	V	X	E	Z		C		125.875	4	239
	B	D	Y	W	A	V	X	E	Z		C		125.875	4	145
	B	D	Y	W	A	V	X	E	Z		C		125.750	4	218
	B	D	Y	W	A	F	X	E	Z		C		125.625	4	134
G	B	D	Y	W	A	F	X	E	Z		C		125.500	4	128
G	B	D	Y	H	A	F	X	E	Z		C		124.375	4	253
G	B	D	Y	H	A	F	X	E	Z		C	I	124.250	4	144
G	B	D	Y	H	A	F	X	E	Z		C	I	124.125	4	215
G	B	D	Y	H	A	F	X	E	Z	J	C	I	124.000	4	251
G	B	D	Y	H	A	F	K	E	Z	J	C	I	123.875	4	130
G	B	D	Y	H	A	F	K	E	Z	J	C	I	123.875	4	252
G	B	D	L	H	A	F	K	E	Z	J	C	I	123.000	4	110
G	B	D	L	H	A	F	K	E	Z	J	C	I	123.000	4	212
G	B	D	L	H	A	F	K	E	M	J	C	I	122.750	4	227
G	B	D	L	H		F	K	E	M	J	C	I	122.500	4	106
G		D	L	H	N	F	K	E	M	J	C	I	122.375	4	115
G		D	L	H	N	F	K	E	M	J	C	I	122.375	4	109
G	O	D	L	H	N	F	K	E	M	J		I	122.125	4	208
G	O		L	H	N	F	K	E	M	J		I	121.875	4	214
G	O		L	H	N	F	K	E	M	J		I	121.750	4	142
G	O		L	H	N	F	K		M	J		I	121.250	4	207
G	O		L	H	N	F	K		M	J		I	121.250	4	220
G	O		L	H	N		K		M	J		I	121.125	4	216
	O		L	H	N		K		M	J		I	120.875	4	123
	O		L	H	N		K		M	J		I	120.750	4	119
	O		L	H	N		K		M	J		I	120.625	4	223
	O		L	H	N		K		M	J		I	120.625	4	213
	O		L	H	N		K		M	J		I	120.625	4	226
	O		L	H	N		K		M	J		I	120.375	4	122
	O		L	H	N		K		M	J		I	120.375	4	143
	O		L	H	N		K		M	J		I	120.250	4	125
	O		L	H	N		K		M	J		I	120.125	4	225
	O		L		N		K		M	J		I	119.875	4	117
	O		L		N		K		M	J			119.625	4	222
	O		L		N		K		M				119.500	4	140
	O		L		N		K		M				119.500	4	224
	O		L		N				M				119.375	4	211
	O		L		N				M				119.250	4	219
	O		L		N				M				119.250	4	124
	O		L		N				M				119.000	4	126
	O		L		N				M				119.000	4	221
	O		L		N				M				118.750	4	146
	O				N				M				118.500	4	147
	O				N				M				118.500	4	139
	O				N								118.000	4	254
	O												117.750	4	Merlin

Tab. 14: Ergebnisse der Genotypisierung der Kandidatengene zu Blüte/Reife (*E1*, *E3*, *E4*) im GB100 Sortiment

GB100 Akzession	Genotyp <i>E1</i>	Genotyp <i>E3</i>	Genotyp <i>E4</i>
GB100_1	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	Na
GB100_2	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_3	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_4	<i>e1-fs</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_5	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_6	<i>E1</i>	na*	Na
GB100_7	<i>e1-as</i>	<i>e3-fs</i>	<i>E4</i>
GB100_8	<i>E1</i>	<i>E3</i>	Na
GB100_9	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_10	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_11	<i>E1</i>	<i>E3</i>	Na
GB100_12	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_13	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_14	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_15	<i>E1</i>	<i>E3</i>	Na
GB100_16	<i>E1</i>	<i>e3-fs</i>	<i>E4</i>
GB100_17	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_18	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_19	<i>e1-nl</i>	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_20	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_21	<i>e1-fs</i>	na	<i>E4</i>
GB100_22	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	Na
GB100_23	Na	na	Na
GB100_24	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_25	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_26	<i>e1-as</i>	<i>e3-fs</i>	<i>E4</i>
GB100_27	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_28	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_29	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_30	<i>e1-fs</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_31	<i>e1-fs</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_32	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_34	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_35	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_36	<i>e1-fs</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_37	<i>e1-as</i>	<i>e3-fs</i>	<i>E4</i>
GB100_38	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	na
GB100_39	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_40	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_41	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_42	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_43	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_44	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_45	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_46	<i>e1-as</i>	<i>e3-fs</i>	<i>E4</i>
GB100_47	Na	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_48	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_49	Na	<i>E3</i>	na
GB100_50	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_51	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_52	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_53	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_54	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_55	Na	na	na
GB100_56	<i>e1-as</i>	<i>e3-fs</i>	na
GB100_57	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	na
GB100_58	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_59	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_60	<i>e1-as</i>	<i>e3-fs</i>	<i>E4</i>

GB100 Akzession	Genotyp E1	Genotyp E3	Genotyp E4
GB100_61	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_62	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_63	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_64	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_65	<i>e1-as</i>	<i>e3-fs</i>	<i>E4</i>
GB100_66	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_67	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_68	<i>e1-as</i>	<i>e3-fs</i>	<i>E4</i>
GB100_69	<i>e1-nl</i>	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_70	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_71	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_72	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_73	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	na
GB100_74	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_75	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_76	<i>e1-as</i>	<i>e3-fs</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_77	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_78	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_80	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_81	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_82	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_83	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_84	<i>E1</i>	<i>E3</i>	na
GB100_85	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_86	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_87	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_88	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_89	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_89	<i>e1-as</i>	<i>e3-fs</i>	<i>E4</i>
GB100_89	<i>e1-as</i>	<i>e3-fs</i>	<i>E4</i>
GB100_90	<i>e1-nl</i>	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_91	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_92	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_93	<i>e1-nl</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_94	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_95	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_96	<i>e1-nl</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_97	<i>e1-nl</i>	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_98	<i>e1-nl</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_99	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_100	<i>E1</i>	<i>e3-fs</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_101	<i>e1-as</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_102	<i>E1</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>
GB100_103	<i>e1-nl</i>	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_104	<i>e1-nl</i>	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>
GB100_105	Na	<i>E3</i>	<i>e4-SORE-1</i>

* na: nicht auswertbar

Tab. 15: Signifikante Assoziationen für die Merkmale Blühzeitpunkt, Hülsen- und Blattriefe, Pflanzenhöhe, Rohprotein- und Rohölgehalt sowie zu den elf essentiellen Aminosäuren. Es wurde ein Signifikanzniveau von $\alpha=0,001$ bzw. für Blühzeitpunkt von $\alpha=0,01$ verwendet (Chr: Chromosom, FG: Freiheitsgrad, p: Signifikanzwert)

Merkmal	Marker	Chr	Position	FG	p	$-\log_{10}(p)$
Blühzeitpunkt	Gm01_50507289	1	50507289	1	0,00598	2,223
	Gm01_52551516	1	52551516	1	0,00790	2,102
	Gm02_15426845	2	15426845	1	0,00464	2,333
	Gm02_30787675	2	30787675	1	0,00129	2,889
	Gm04_43058492	4	43058492	1	0,00805	2,094
	Gm04_43645980	4	43645980	1	0,00485	2,314
	Gm05_34115366	5	34115366	1	0,00997	2,001

Merkmal	Marker	Chr	Position	FG	p	-log10(p)
	Gm06_19540686	6	19540686	1	0,00469	2,329
	Gm06_20152926	6	20152926	1	0,00442	2,355
	Gm06_40454884	6	40454884	1	0,00584	2,234
	Gm07_38631457	7	38631457	1	0,00330	2,481
	Gm08_7648192	8	7648192	1	0,00596	2,225
	Gm10_1109654	10	1109654	1	0,00899	2,046
	Gm10_1824596	10	1824596	1	0,00869	2,061
	Gm16_2405914	16	2405914	1	0,00461	2,336
	Gm18_4680723	18	4680723	1	0,00574	2,241
	Gm19_37020042	19	37020042	1	0,00520	2,284
	Gm19_37222096	19	37222096	1	0,00520	2,284
	Gm19_37323698	19	37323698	1	0,00520	2,284
Hülsenreife	Gm06_1655912	6	1655912	1	0,00072	3,144
	Gm17_3320209	17	3320209	1	0,00056	3,251
Blattreife	Gm06_1328895	6	1328895	1	0,00047	3,324
	Gm12_7753259	12	7753259	1	0,00061	3,217
Pflanzenhöhe	Gm02_207506	2	207506	1	0,00029	3,533
	Gm02_45162941	2	45162941	1	0,00029	3,543
	Gm04_5537978	4	5537978	1	0,00029	3,544
	Gm04_44383936	4	44383936	1	0,00029	3,543
	Gm05_31856071	5	31856071	1	0,00029	3,543
	Gm05_33501321	5	33501321	1	0,00029	3,543
	Gm06_8630236	6	8630236	1	0,00029	3,543
	Gm08_15573572	8	15573572	1	0,00029	3,544
	Gm08_16340916	8	16340916	1	0,00029	3,544
	Gm08_16378273	8	16378273	1	0,00029	3,544
	Gm09_32382867	9	32382867	1	0,00029	3,543
	Gm09_32987730	9	32987730	1	0,00029	3,544
	Gm09_33624152	9	33624152	1	0,00029	3,544
	Gm09_40899791	9	40899791	1	0,00021	3,672
	Gm10_7687163	10	7687163	1	0,00029	3,543
	Gm10_42845506	10	42845506	1	0,00029	3,543
	Gm10_43612052	10	43612052	1	0,00029	3,544
	Gm11_3950213	11	3950213	1	0,00029	3,544
	Gm11_25781458	11	25781458	1	0,00029	3,543
	Gm11_26755843	11	26755843	1	0,00029	3,543
	Gm11_26836112	11	26836112	1	0,00029	3,543
	Gm11_34570537	11	34570537	1	0,00029	3,543
	Gm11_37408299	11	37408299	1	0,00029	3,544
	Gm12_4780837	12	4780837	1	0,00029	3,543
	Gm12_5230528	12	5230528	1	0,00029	3,544
	Gm12_5309573	12	5309573	1	0,00029	3,544
	Gm12_5392662	12	5392662	1	0,00029	3,543
	Gm12_5610878	12	5610878	1	0,00029	3,544
	Gm12_5706745	12	5706745	1	0,00029	3,544
	Gm12_5786241	12	5786241	1	0,00029	3,543
	Gm14_10517826	14	10517826	1	0,00029	3,543
	Gm14_29499620	14	29499620	1	0,00029	3,543
	Gm14_29646611	14	29646611	1	0,00029	3,544
	Gm14_29946562	14	29946562	1	0,00029	3,544
	Gm14_44977165	14	44977165	1	0,00029	3,543
	Gm15_1128092	15	1128092	1	0,00029	3,544
	Gm15_11551488	15	11551488	1	0,00029	3,544
	Gm15_12475289	15	12475289	1	0,00029	3,543
	Gm16_2619084	16	2619084	1	0,00063	3,204
	Gm17_1736595	17	1736595	1	0,00017	3,765
	Gm17_1918529	17	1918529	1	0,00017	3,766
	Gm17_4127957	17	4127957	1	0,00017	3,766
	Gm17_4216767	17	4216767	1	0,00017	3,766
	Gm18_50670392	18	50670392	1	0,00029	3,543
	Gm19_44761515	19	44761515	1	0,00060	3,223

Merkmal	Marker	Chr	Position	FG	p	-log10(p)
Rohproteingehalt	Gm20_3880320	20	3880320	1	0,00029	3,544
	Gm03_46998040	3	46998040	1	0,00089	3,051
	Gm04_42754380	4	42754380	1	0,00096	3,020
	Gm12_38183927	12	38183927	1	0,00049	3,312
Rohölgehalt	Gm01_4365237	1	4365237	1	0,00090	3,044
	Gm04_6145192	4	6145192	1	0,00064	3,192
	Gm14_45959459	14	45959459	1	0,00002	4,721
	Gm17_1736595	17	1736595	1	0,00072	3,142
	Gm17_1918529	17	1918529	1	0,00072	3,142
	Gm17_4127957	17	4127957	1	0,00072	3,142
	Gm17_4216767	17	4216767	1	0,00072	3,142
	Gm17_38540012	17	38540012	1	0,00074	3,129
	Gm18_4188718	18	4188718	1	0,00094	3,027
Gm20_45116741	20	45116741	1	0,00078	3,109	
Arginin	Gm01_35587217	1	35587217	1	0,00088	3,057
	Gm03_41443410	3	41443410	1	0,00054	3,267
	Gm12_7753259	12	7753259	1	0,00015	3,824
	Gm12_35586020	12	35586020	1	0,00094	3,026
Cystein	Gm06_10240897	6	10240897	1	0,00071	3,146
	Gm07_36551753	7	36551753	1	0,00048	3,323
	Gm20_51113	20	51113	1	0,00083	3,078
Histidin	Gm03_41443410	3	41443410	1	0,00041	3,383
	Gm03_46508111	3	46508111	1	0,00089	3,052
	Gm03_46998040	3	46998040	1	0,00041	3,384
	Gm12_7753259	12	7753259	1	0,00005	4,294
	Gm12_35586020	12	35586020	1	0,00046	3,333
Isoleucin	Gm03_46998040	3	46998040	1	0,00059	3,232
	Gm12_7753259	12	7753259	1	0,00011	3,972
	Gm12_35586020	12	35586020	1	0,00083	3,083
Leucin	Gm03_41443410	3	41443410	1	0,00085	3,068
	Gm03_46998040	3	46998040	1	0,00063	3,198
	Gm12_7753259	12	7753259	1	0,00009	4,040
	Gm12_35586020	12	35586020	1	0,00069	3,159
Lysin	Gm03_41443410	3	41443410	1	0,00082	3,086
	Gm03_46508111	3	46508111	1	0,00084	3,075
	Gm03_46998040	3	46998040	1	0,00064	3,191
	Gm12_7753259	12	7753259	1	0,00010	4,021
	Gm12_35586020	12	35586020	1	0,00062	3,208
Methionin	Gm03_41443410	3	41443410	1	0,00062	3,206
	Gm12_7753259	12	7753259	1	0,00047	3,329
	Gm17_38461325	17	38461325	1	0,00085	3,070
	Gm17_38465611	17	38465611	1	0,00054	3,271
Phenylalanin	Gm03_41443410	3	41443410	1	0,00086	3,067
	Gm03_46998040	3	46998040	1	0,00069	3,160
	Gm12_7753259	12	7753259	1	0,00008	4,119
	Gm12_35586020	12	35586020	1	0,00063	3,200
Threonin	Gm03_41443410	3	41443410	1	0,00065	3,189
	Gm03_46998040	3	46998040	1	0,00061	3,215
	Gm12_7753259	12	7753259	1	0,00008	4,105
	Gm12_35586020	12	35586020	1	0,00082	3,084
Thryptophan	Gm03_41443410	3	41443410	1	0,00099	3,005
	Gm12_7753259	12	7753259	1	0,00017	3,761
	Gm12_38183927	12	38183927	1	0,00090	3,046
	Gm17_38461325	17	38461325	1	0,00055	3,261
	Gm17_38465611	17	38465611	1	0,00079	3,101
	Gm17_38540012	17	38540012	1	0,00094	3,026
	Gm17_38601758	17	38601758	1	0,00074	3,131
Valin	Gm03_46508111	3	46508111	1	0,00094	3,028
	Gm03_46998040	3	46998040	1	0,00067	3,172
	Gm12_7753259	12	7753259	1	0,00010	4,020
	Gm12_35586020	12	35586020	1	0,00071	3,148

Dieser Schlussbericht entstand in Zusammenarbeit der vier Verbundpartner des Projektes:

Saatzucht Bauer GmbH & Co KG
Freiherr von Moreau Saatzucht GmbH
Saatzucht Streng-Engelen GmbH & Co. KG
Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL)

Eingereicht wird der Schlussbericht durch die Projektkoordination Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung (IPZ)

Freitag, den 14. September 2018

Dr. Christine Riedel
Projektbearbeitung (IPZ)

Dr. Peter Doleschel
Institutsleitung (IPZ)