

Forschungsbericht

Nr. 183

Erhöhung der Wasser- und Nährstoffeffizienz bei
Gerste durch züchterische Verbesserung des
Wurzelsystems

Verfasser:

Stephan Reinert

Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz

Herausgeber: Lehr- und Forschungsschwerpunkt „Umweltverträgliche und Standort-gerechte Landwirtschaft“, Landwirtschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Meckenheimer Allee 172 15, 53115 Bonn
Tel.: 0228 – 73 2285; Fax.: 0228 – 73 1776
www.usl.uni-bonn.de

Forschungsvorhaben im Auftrag des Ministeriums für Klimaschutz,
Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes
Nordrhein-Westfalen
Bonn, 6. Dezember 2016

ISSN 1610-2460

Projektleitung: Prof. Dr. Jens Léon/ PD Dr. Ali Naz

Projektbearbeiter: Stephan Reinert

Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz
Katzenburgweg 5
53115 Bonn

Zitiervorschlag:

REINERT, S.; (2016): Erhöhung der Wasser- und Nährstoffeffizienz bei Gerste durch züchterische Verbesserung des Wurzelsystems. Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Bonn, Schriftenreihe des Lehr- und Forschungsschwerpunktes USL, Nr. 183, 60 Seiten.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Zusammenfassung.....	1
1 Einleitung.....	2
1.1 Gerste (<i>Hordeum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>).....	2
1.2 Problemstellung und Stand des Wissens.....	2
1.3 Zielsetzung.....	4
2 Material und Methoden.....	6
2.1 Pflanzenmaterial.....	6
2.2 Phänotypische Evaluierung von Wurzel- und Sprossmerkmalen.....	6
2.2.1 Aufbau des Phänotypisierungsexperimentes in den Jahren 2014 und 2015 ..	6
2.2.2 Trockentoleranzrating.....	8
2.3 Genotypisierung.....	8
2.4 Populationsstrukturanalyse.....	9
2.5 Statistische Analyse.....	10
2.6 Assoziationskartierungsmodell.....	11
2.7 Kandidatengenanalyse.....	12
3 Ergebnisse.....	13
3.1 Populationsstrukturanalyse.....	13
3.2 Merkmalsvariationen.....	14
3.3 QTL Detektion und Quantifizierung.....	27
Wurzeltrockengewicht.....	30
Wurzellänge.....	34
Sprosstrockengewicht.....	34
Anzahl der Bestockungstriebe.....	38
Wurzel/Spross-Verhältnis.....	42
3.4 Trockentoleranzrating.....	46
3.5 Kandidatengenanalyse.....	47
4 Diskussion.....	53

4.1 Charakterisierung der globalen Gerstenpopulation	53
Populationsstrukturanalyse	53
Linkage Disequilibrium.....	54
4.2 Merkmalsvariationen.....	54
4.3 QTL-Detektion und Quantifizierung.....	55
Wurzeltrockengewicht.....	55
Wurzellänge.....	56
Sprosstrockengewicht.....	56
Anzahl der Bestockungstriebe	57
Wurzel/Spross-Verhältnis	57
4.4 Trockentoleranzrating	57
4.5 Kandidatengenanalyse	58
5 Schlussfolgerung und Ausblick	60
Referenzen.....	61
Liste der Veröffentlichungen.....	66
Liste der Vorträge.....	66
Anhang.....	67

Zusammenfassung

Ein Wurzelsystem mit feinen Wurzelhaaren ist ein sichtbares Zeichen für die Anpassung an verschiedene Ökosysteme in Wildpopulationen von Gerste. In der vorliegenden Arbeit wurde eine große Gerstendiversität untersucht. Mit dieser ist die genetische Grundlage für die Wurzelsystemvariation sowie deren Verbindung zu Sprossmerkmalen unter bewässerten und unbewässerten Bedingungen erforscht worden. Hierfür analysierten wir fünf Wurzel- und zugehörige Sprossmerkmale (Wurzeltrockengewicht, Wurzellänge, Wurzel-Spross Verhältnis, Sprosstrockengewicht, Anzahl der Bestockungstriebe). Die genomweite Assoziationskartierung der phänotypischen Daten zusammen mit einer genetischen Karte, die 5892 SNP-Marker enthält, deckte 17 mögliche genetische Regionen auf, die quantitativen Einfluss auf Wurzel- und Sprossmerkmale haben. Unter diesen 17 QTL trugen 14 Loci exotische Wildformallele, welche eine Merkmalsverbesserung zur Folge hatten. Die vielversprechendsten QTL wurden mittels einer Haplotypenanalyse auf lokaler und globaler genomischen Ebene untersucht. Das signifikanteste QTL wurde auf Chromosom 1H detektiert und weist einen gleichzeitigen Effekt für das Wurzeltrockengewicht sowie die Anzahl der Bestockungstriebe auf. Eine Kandidatengenanalyse über die Zielregion identifizierte eine Aminosäuremutation in der konservierten Domäne des WRKY29 Transkriptionsfaktors zwischen verschiedenen Genotypen, die das Haupt- bzw. das Minorallel des QTL tragen. Ebenso zeigt das durch Trockenheit induzierte QTL / Allel QRdw.5H (5H, 95,0 cM) eine 37 Aminosäuren große Deletion in der konservierten Domäne des Gens CBF10B sowie eine Substitution in CBF10A. Die Identifizierung und weitere Charakterisierung dieser Gene ist essentiell für die genetische Entschlüsselung von Entwicklungs- und Adaptationsmechanismen in Gerste. Weiterhin konnte mithilfe der DRYM-Indexes eine Bewertung der Trockentoleranzfähigkeit der verschiedenen Genotypen durchgeführt werden. Mit Hilfe dieser Bewertung konnten acht Genotypen als besonders trocken tolerant identifiziert werden. Die japanische Landsorte (HOR19848) stach bei dieser Bewertung aufgrund ihrer hohen Toleranz für zwei Merkmale besonders heraus. Zusätzlich zeigte die Linie 041 aus der NRW Core-Collection hohe Toleranzwerte für das Merkmal Sprosstrockengewicht. Diese Genotypen könnten für eine weitere züchterische Verbesserung der Gerste in der Trockentoleranz verwendet werden.

1 Einleitung

1.1 Gerste (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*)

Die domestizierte Gerste (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*) entwickelte sich vor ca. 8000 Jahren aus Wildgerste (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*). Sie gehört zu der Familie Poaceae (Süßgräser), dem Stamm Triticeae und bildet die Größte Gruppe der einkeimblättrigen Pflanzen (Monokotyledonen) (Payne, 1969). Der Genus „*Hordeum*“ besteht aus 32 Spezies und 45 Taxa die sowohl annuelle sowie perennierende Spezies beinhaltet. Die meisten Spezies innerhalb dieses Genus sind diploid, aber auch hexaploide und autopolioide Pflanzen existieren (von Bothmer *et al.*, 2003). Gerste zählt zu einer der wichtigsten Pflanzen für die Nahrungsmittelproduktion und ist auf Platz 15 der wichtigsten Nutzpflanzen der Welt (FAO 2013, <http://faostat.fao.org>). Nahezu 75% der produzierten Gerste wird für die Tierfutterherstellung verwendet; 20% fallen für die Produktion von alkoholischen und nichtalkoholischen Getränken an und ca. 5% werden in der Fertigung von Nahrungsmitteln die für den menschlichen Verzehr geeignet sind verwendet (Blake *et al.*, 2011).

1.2 Problemstellung und Stand des Wissens

Aufgrund ihrer sessilen Lebensweise sind Pflanzen, im Gegensatz zu den meisten Tieren, nicht in der Lage sich aus Stresssituationen wie Trockenheit, hohem Salzgehalt, Kälte und Hitze durch Fortbewegung zu retten. Daher haben sie spezielle Mechanismen und Strategien entwickelt um solche Situationen zu überstehen. Gerade Trockenheit bzw. Wassermangel beeinflusst die agronomische Leistungsfähigkeit von Nutzpflanzen negativ, in überwiegend landwirtschaftlich geprägten Regionen weltweit. Bis zum Jahr 2080 wird aufgrund von extremen klimatischen Bedingungen ein Verlust des Ernteertrags von Weizen von 80% vorausgesagt (Deryng *et al.*, 2014). Aus diesem Grund sind Zuchtprogramme entwickelt worden, die die Züchtung von multitoleranten Nutzpflanzen zum Ziel haben. Allerdings hatte gerade die traditionelle Pflanzenzüchtung nur geringen Erfolg wegen der multigenischen Natur von Toleranzmechanismen (Ahmad and Prasad, 2012). In den letzten Jahrzehnten wurde intensive an den physiologischen, morphologischen und genetischen Mechanismen der Stresstoleranz geforscht (Cramer *et al.*, 2011; Aroca, 2012). Das Wissen aus dieser Forschung führte zu der Entwicklung von neuen Zuchttechniken sowie der Entstehung von modernen Zuchtprogrammen wie die markergestützte Züchtung um die abiotische Toleranz von Nutzpflanzen zu erhöhen.

Trockenheit oder Wassermangel haben einen enormen Einfluss auf Nutzpflanzen. Aufgrund der globalen Erwärmung stieg die global Durchschnittstemperatur seit 1800 um ca. 0,8°C (Carlowicz, 2010). Eine Konsequenz aus der globalen Erwärmung sind die steigende Desertifikation, Wassermangel und lange Trockenperioden, welche einen besonders starken

Effekt auf den Ackerbau in tropischen, semiariden und ariden Regionen in der Welt haben (Samarah, 2005; Pennisi, 2008). Einen besonders hohen Einfluss auf den Ertrag hat Trockenheit während der Kornfüllungsphase, was zu einem dramatischen Ertragsverlust führt. Neben Afrika und Asien ist ebenso die Landwirtschaft in Europa stark durch die globale Erwärmung und daraus resultierenden Trockenperioden stark beeinflusst.

Die heißen und trockenen Sommer 2003 und 2015 in Europa hatten einen großen Effekt auf die Finanzmärkte und führten zu einer Belastung von rund 15 Milliarden (De Bono *et al.*, 2004). Die Auswirkung dieser Hitzewellen zeigt die hohe Anfälligkeit der Landwirtschaft auf Trockenheit und deckt die Notwendigkeit für die Erforschung und Etablierung von stresstoleranten Pflanzensorten für eine nachhaltige Landwirtschaft auf, um für Klimaveränderung gerüstet zu sein. Ein wichtiger, aber bisher vernachlässigter Faktor für die Verbesserung der Trockentoleranz stellt das Wurzelsystem dar. Die Wurzeln sind das zentrale Organ der Pflanzen für die Wasser- und Nährstoffaufnahme und ermöglichen erst den Schritt der Pflanzen für das Leben an Land. Es ist bekannt, dass ein großes und tiefreichendes Wurzelsystem eine größere Kontaktfläche zum Boden besitzen und damit die Wasser- und Nährstoffaufnahme erleichtern (Chloupek *et al.*, 2010; Wasson *et al.*, 2012; Uga *et al.*, 2013; Barati *et al.*, 2015). Wurzeln sind das erste Organ in Pflanzen, welches Wasserengpässe detektiert und mittels chemischer und hydraulischer Signaltransduktion an die oberirdischen Pflanzenteile weiterleitet und die daraufhin mit verschiedenen Mechanismen wie Schließen der Spaltöffnungen, vermindertem Blattwachstum und der Synthese von verschiedenen Hormonen reagieren (Christmann *et al.*, 2007). Da die Kontrollmechanismen und frühen Reaktionen auf Trockenstressbedingungen auf die Signale zurückzuführen sind, wird dem Wurzelsysteme eine zentrale Rolle in der Anpassung an Trockenheit zugesprochen.

Aufgrund ihrer Selbstbefruchtung und der Diploidie ist Gerste (*Hordeum vulgare* L.) eine Modellpflanze für die Getreideforschung. Die große genetische Diversität im Gersten Genpool erlaubt einen weltweiten Anbau und bildet die Grundlage für eine Vielzahl von Anpassungsmechanismen der Wurzel als auch anderer Organe an diverse klimatische Bedingungen (Comas *et al.*, 2013; Allaby, 2015). Die hohe genetische Variation sowie die daraus resultierende Anpassungsfähigkeit der Gerste gilt es aufzuklären und für die Züchtung moderner widerstandsfähiger Gerstensorten nutzbar zu machen. Aufgrund der Übertragbarkeit der Ergebnisse aus der Gerstenforschung auf andere, verwandte Getreidearten können auch Arten wie Weizen von den Ergebnissen dieser Forschung zur Klimaanpassung profitieren.

Durch die Etablierung von quantitativen, genetischen Methoden wie der Assoziationsstudie ist die genetische Assoziation zwischen Merkmalen und Genregionen möglich. Unter einem QTL (Quantitative Trait Loci) versteht man die Position auf dem Chromosom, welche einen

Effekt auf die phänotypische Variation eines quantitativen Merkmals hat. Dieser Effekt tritt aufgrund von genetischen und/oder Umwelteinflüssen auf (The Complex Trait Consortium, 2003). Das Ziel einer Assoziationsstudie ist die Identifizierung von QTL mittels verschiedenen Populationen, welche maßgeblich die Auswahl der geeigneten Methode beeinflussen. Die Kopplungsanalyse (Linkage Analysis) und die Assoziationskartierung (Association Mapping) sind die hauptsächlich verwendeten Methoden für die Analyse von komplexen Merkmalen. Im Gegensatz zu Kopplungsanalyse untersucht eine Assoziationskartierung die funktionelle Variation in einem weitaus größerem Spektrum (Zhu *et al.*, 2008). Zusätzlich weist eine Assoziationskartierung noch drei weitere Vorteile auf: 1) eine erhöhte Kartierungsauflösung, 2) geringer Zeitaufwand und 3) eine größere Anzahl an detektierten Allelen (Yu and Buckler, 2006). Basierend auf dem Fokus der Forschung kann die Assoziationskartierung in zwei Kategorien unterteilt werden: 1) Kandidatengen Assoziationskartierung, welche Polymorphismen innerhalb von Kandidatengenen untersucht, die eine Rolle in der phänotypischen Variation spielen; 2) Genome-weite Assoziationsanalyse (GWAS). Die GWAS versucht im Gegensatz zur, Kandidatengen Assoziationskartierung, Signal für die Merkmalsvariation im gesamten Genom zu identifizieren (Risch and Merikangas, 1996). Ein entscheidender Punkt bei der GWAS ist die Erstellung einer geeigneten Population (Association Panel), dessen Mitglieder mit Bedacht ausgewählt werden sollten. Insbesondere bei Selbstbefruchtern, wie der Gerste, muss eine mögliche Verwandtschaft der verschiedenen Linien ausgeschlossen werden, da diese zur Verzerrung der Ergebnisse führen kann. Für die Assoziationskartierung eignet sich eine in unserer Arbeitsgruppe aufgebaute Gersten Core-Collection mit Bezug auf die NRW Core-Collection sehr gut. In dieser Collection wurde diverses Material mit spezifischer Anpassung an die Bedingungen von NRW zusammengeführt und steht uns zur Verfügung. Diese Collection wurde noch mit Wildgersten und Gersten Landsorten erweitert um so eine globale Gerstenkollektion zu erstellen, die an diverse klimatische Bedingungen und insbesondere an Trockenheit angepasst ist. Gerade die Wildgerste repräsentiert das immense Verbreitungsgebiet von Gerste sowie eine große genetische Diversität, die eine vielfältige Anpassung an verschiedene Klimazonen zur Folge hat.

1.3 Zielsetzung

Trockenstress ist ein Hauptfaktor, der den Ertrag von Nutzpflanzen stark beeinträchtigt, besonders im Hinblick auf die globale Erwärmung. Gerade das Wurzelsystem ist in diesem Zusammenhang von einer immensen Bedeutung. Bis heute gab es jedoch in der Pflanzenzüchtung kaum Anstrengungen das Wurzelsystem zu verbessern. In der Konsequenz werden Nutzpflanzen mit möglicherweise höherer Mineraldüngergabe als notwendig angebaut, die zusätzlich noch ein hohes Ertragsrisiko bei Trockenheit aufweisen. Aus diesem Grund, ist die Entwicklung von trockenoleranten Kultursorten von großer Wichtigkeit für die

Pflanzenzüchtung. Es ist bekannt, dass ein großes und / oder tiefer wurzelndes Wurzelsystem einen besseren Kontakt zum Boden ermöglicht und somit die Wasser- und Nährstoffaufnahme verbessert. Allerdings ist das genetische Potenzial der Wurzelsystemvariation bis heute noch nahezu unerforscht. Eine Verbesserung der Wasser- und Nährstoffaufnahme von landwirtschaftlichen Nutzpflanzen ist insbesondere im Hinblick auf die Anpassung der Pflanzen an ein verändertes Klima sowie die CO₂-Belastung bei der Produktion von Düngemitteln erstrebenswert. Darüber hinaus ist eine Verbesserung der Nährstoffaneignung für die konventionelle und ökologische Landwirtschaft gleichermaßen wichtig.

Aus diesem Grund, war das Ziel der Arbeit die Untersuchung von Wurzelsystem-variationen im Modellgetreide Gerste für eine nachhaltige Wasser- und Nährstoffversorgung unter Trockenheit. Der Vorfahre der modernen Gerste *Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum* weist eine hohe Anpassungsfähigkeit zu verschiedenen Klimabedingungen auf. Des Weiteren besitzt er eine große phänotypische Variation des Wurzelsystems was diese, aus dem „Fruchtbaren Halbmond“ stammende Spezies, zu einem perfekten Kandidaten für die Analyse des Wurzelsystems unter Trockenheit sowie die wurzelsystemabhängige Trockentoleranz macht. Daher bildet die Kombination von Wildgersten, Landsorten und modernen Kultursorten in einem Genpool ein enormes Potenzial zur Detektion von Wurzelvariationen sowie eine immense Bereicherung von Kulturgersten Genpools. Hierbei wurden folgende Ziele verfolgt:

1. *Identifizierung von geeigneten Sorten, die aufgrund ihres Wurzelsystems und der damit verbundenen Trockentoleranz an die Klimaveränderungen angepasst sind.*
2. *Identifizierung der Wurzelvariationen und der damit verbunden Merkmale in Kultur- und Wildgerste unter bewässerten und Trockenstress-Bedingungen.*
3. *Genotypisierung von Kultur- und Wildarten mithilfe von diagnostischer DNA-Marker*
4. *Analyse von Phänotyp und Genotyp via Assoziationskartierung zur Identifizierung von gekoppelten DNA-Markern der de runtersuchten Merkmale. Diese Markerloci (Genorte) bilden die Voraussetzung für eine markergestützte Selektion für vorteilhafte Wurzelmerkmale in der Pflanzenzüchtung.*

2 Material und Methoden

2.1 Pflanzenmaterial

Die untersuchte Population besteht aus 179 verschiedenen Genotypen, die aus 38 verschiedenen Ländern stammen sowie 19 Linien der NRW-Core-Collection (**Anhang Tabelle 1**). Sie beinhaltet 48 Wildgersten und 131 Kultursorten. Die 131 Kultursorten werden auf 72 Landsorten und 59 moderne Kulturgersten aufgeteilt. Die Samen sind aus der Saatgutbank des Leibniz Institutes für Pflanzengenetik und Nutzpflanzenwissenschaften (IPK, Gatersleben, Germany), Nordgen (NGB, Alnarp, Schweden) und dem Internationalen Zentrum für Agrarforschung in trockenen Gebieten (ICARDA, Beirut, Libanon).

2.2 Phänotypische Evaluierung von Wurzel- und Sprossmerkmalen

2.2.1 Aufbau des Phänotypisierungsexperimentes in den Jahren 2014 und 2015

Die Phänotypisierung wurde in den Jahren 2014 und 2015 am Campus Poppelsdorf in Bonn in Folientunneln durchgeführt. Die Verwendung eines Folientunnels ermöglichte nahezu natürliche Wachstumsbedingungen unter kontrollierten und Trockenstress-Bedingungen. Die 179 Genotypen wurden unter terminalem Trockenstress und Kontrollbedingungen phänotypisiert. Jeder Genotyp wurde jedes Jahr in vier Replikaten angepflanzt. Es wurde ein „Split-plot“-Design mit Sub-plots sowie einer Behandlung und zwei verschiedenen Level innerhalb der Behandlung (Kontrolle und Stress) gewählt. Die Sub-plots wurden in Reihen separiert, in welchen die Genotypen randomisiert angeordnet wurden. Die Randomisation wurde etwas eingeschränkt, um Positionseffekte auf einzelne Pflanzen innerhalb des Folientunnels zu minimieren. Aus diesem Grund, wurde der Topf des gleichen Genotyps unter Kontrollbedingungen direkt neben den Topf unter Stressbedingungen gestellt. Daraufhin wurde ein Samen je Genotyp in 5,5 L Rosentöpfe gepflanzt. Als Substrat wurde ein Gemisch aus 40% Mutterboden und 60% Sand verwendet (Cordel & Sohn, Salm, Germany). Für die Bewässerung wurde eine Tropfwasserbewässerung gewählt (Netafilm, Adelaide, Australien). Es wurde drei Mal am Tag bewässert, zusätzlich wurde über die Bewässerung 0,066g Kristalon™ Dünger (Christoffel GmbH & Co.KG, Trier, Deutschland) verabreicht. Um die Bodenfeuchtigkeit (VMC) innerhalb der Töpfe zu bestimmen wurde der DL2e Data Logger Bodenfeuchtesensor installiert und jeden Tag abgelesen um schnellstmöglich auf Veränderungen der Bodenfeuchte reagieren zu können. Beim Erreichen des BBCH-Stadiums 31 – 34 (Lancashire *et al.*, 1991) wurde die Bewässerung für die gestressten Pflanzen für zwei Wochen reduziert bis die Bodenfeuchte lediglich noch 5% betrug. Diese 5% VMC wurden für weitere zwei Wochen gehalten um einen

starken Trockenstress zu simulieren. Die Kontrollpflanzen wurden ohne Unterbrechung bis zur Probennahme bewässert. Nach der zweiwöchigen Trockenstressperiode sind fünf Wurzel- und Sprossmerkmale wie folgend phänotypisiert worden (**Tabelle 1**).

Tabelle 1: Liste der phänotypischen Merkmale, Abkürzung, Einheit und Methode der Messung in dem 2014 und 2015 durchgeführten Topfexperiment in Bonn-Poppelsdorf.

Merkmal	Abk.	Einheit	MoM
Anzahl der Bestockungstriebe	Til	Anzahl/Pflanze	Anzahl der Triebe wurden einen Tag vor der invasiven Messung gezählt
Sprosstrockengewicht	Sdw	g/Pflanze	Gewicht an Sprosstrockenmasse nach siebentägiger Trocknung bei 50°C
Wurzellänge	RI	cm	Messung der Wurzellänge beginnend beim Wurzelknoten bis zur Wurzelspitze
Wurzeltrockengewicht	Rdw	g/Pflanzen	Gewicht an Wurzeltrockenmasse nach siebentägiger Trocknung bei 50°C
Wurzel/Spross-Verhältnis	RS	-	Teilen von Rdw durch Sdw

Abk. = Abkürzung, MoM = Messmethode

Umweltfaktoren wie die Bodenfeuchte wurde während des Topfexperiments in den Jahren 2014 und 2015 gemessen um eine Vergleichbarkeit der phänotypischen Daten aus beiden Jahren zu ermöglichen. Die Bodenfeuchte (VMC) wurde mittels DL2e Data Logger Bodenfeuchtesensor gemessen. Außerdem erfolgte die Bewässerung automatisch, mithilfe der Tropfwasserbewässerung von Netafilm (Netafilm, Adelaide, Australien) um Ungenauigkeiten ausschließen zu können. Um schnellst möglich auf Veränderung der VMC reagieren zu können, wurde die DL2e Data Logger Bodenfeuchtesensor täglich abgelesen. Die Bodenfeuchte betrug 25% unter Kontrollbedingungen. Lediglich um den 10. Mai 2014 sowie um den 15. Mai 2015 sank die Bodenfeuchte unterhalb von 25% aufgrund von extrem hohen Temperaturen. Bei den gestressten Pflanzen wurde die Bewässerung am 22. April 2014 sowie am 14. Mai 2015 reduziert bis eine VMC von 5% erreicht worden war. Diese 5% VMC wurden für zwei Wochen konstant gehalten (**Abbildung 1**). Zusätzlich sollten im Rahmen der Forschungsarbeit verschiedene Wurzelparameter wie die Wurzellänge mit Hilfe einer Rhizotronanlage phänotypisiert werden. Um die dynamische Entwicklung der Wurzeln mit Hilfe von Rhizotronen zu verfolgen, wurden ausgewählte Genotypen, welche eine extreme

Entwicklung zeigen, in Zusammenarbeit mit dem Forschungszentrum Jülich auf ihre Wurzelattribute hin charakterisiert.

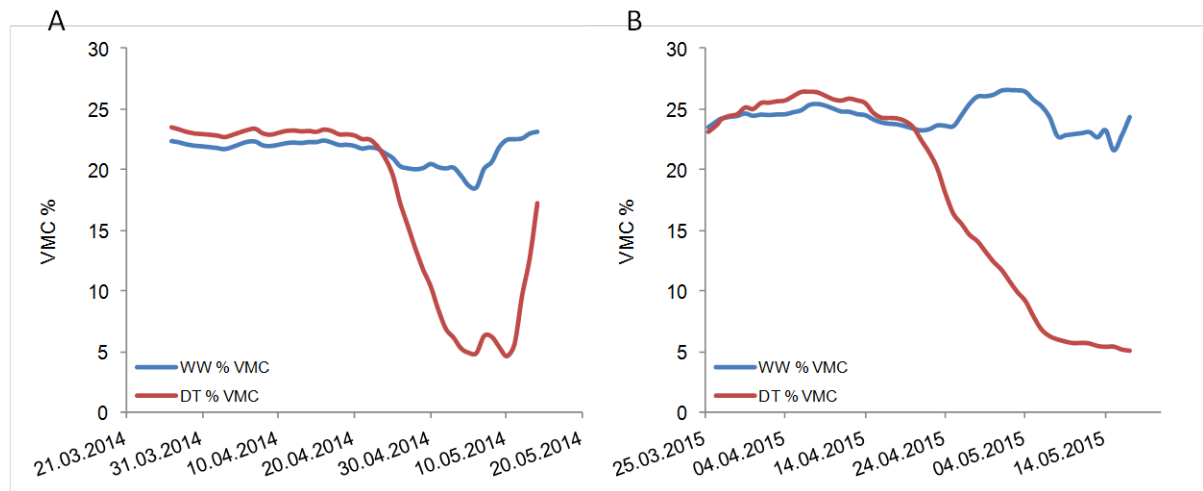


Abbildung 1: Bodenfeuchte (VMC) für das Topfexperiment in Folientunneln in Bonn-Poppelsdorf. Kontrollbedingungen (WW) in blau und Trockenstress (DT) in rot. A) VMC in 2014. B) VMC in 2015.

2.2.2 Trockentoleranzrating

Das Trockentoleranzrating für die 179 verschiedenen Genotypen wurde mittels des Index „Abweichung des relativen Stärkegehalts vom experimentellen Median“ (DRYM) nach Sprenger *et al.* (2015) berechnet. Der DRYM wurde für die Merkmale R_{dw}, RI und S_{dw} bestimmt.

$$DRYM_{G_x, E_i} = RelSY_{G_x, E_i} - median(RelSY_{E_i}) \quad (1)$$

$$RelSY = SY_{DT} - \bar{a}(SY_{G_x, WW}) \quad (2)$$

Durch die Division des phänotypischen Wertes unter Stressbedingungen (SY_{DT}) durch den Mittelwert des phänotypischen Wertes unter Kontrollbedingungen des jeweiligen Genotyps ($\bar{a}(SY_{G_x, WW})$) innerhalb des gleichen Jahres wurden der relative phänotypische Wert ($RelSY$) berechnet. Daraufhin konnte die DRYM für jeden einzelnen Genotypen (G_x) und Experiment (E_i) bestimmt werden, indem der Median des relativen phänotypischen Wertes des Experiments vom relative phänotypische Wert subtrahiert wurde (Sprenger *et al.*, 2015).

2.3 Genotypisierung

Die globale Gerstenpopulation wurde mithilfe des Illumina 9K iSelect SNP chip (Mayer *et al.*, 2012) genotypisiert. Die Genotypisierung wurde von TraitGenetics (TraitGenetics GmbH,

Seeland OT Gatersleben, Deutschland) durchgeführt. Die 7842 auf dem Chip enthaltenen Marker sind nach den Kriterien von Miyagawa *et al.* 2008 (Miyagawa *et al.*, 2008) aufgereinigt worden: minor allele frequency (MAF) >0.05; <0.95 für SNP call rate; >0.05 fehlende Werte, das Entfernen der monomorphen Marker wurde mit SAS 9.3 (SAS Institute 2008, CARY, NC, USA) durchgeführt. Nach der Aufreinigung blieben noch 5892 Marker übrig. Markerverteilung siehe **Tabelle 2**.

Tabelle 2: Verteilung der 5892 polymorphen SNP-Marker über die sieben Chromosomen von Gerste. Zusätzlich angegeben sind: Chromosomgröße in cM, Anzahl an Markern auf dem jeweiligen Chromosom, Größte Lücke zwischen zwei Markern sowie die Durchschnittliche Markerdichte.

Chr	Chr Größe (cM)	Anz Marker	Marker Lücke	Durchschnittl. Markerdichte
1H	133.1	523	4.4	3.9
2H	149.5	925	4.9	6.2
3H	155.0	794	8.8	5.1
4H	115.2	568	7.5	4.9
5H	169.7	1043	5.0	6.1
6H	126.6	663	6.6	5.2
7H	141.4	699	4.8	4.9
Un		677		

Chr = Chromosom

2.4 Populationsstrukturanalyse

Die Populationsstruktur wurde mittels der 5892 polymorphen SNP Marker und der Software STRUCTURE v2.3.4 berechnet. STRUCTURE basiert auf einem Bayesian Markov Chain Monte Carlo (MCMC) Modell. Die Einstellung für die Strukturanalyse entsprechend denen von Morrell and Clegg (2007). Die Detektion des ΔK -Wertes wurde mithilfe des Markov-Cluster-Algorithmus ermöglicht, welcher in CLUMPAK implementiert ist (Kopelman *et al.*, 2015). Die Population wurde basierend auf den Ergebnissen der Strukturanalyse in Subpopulationen (SPOP) eingeordnet. Die geschah mit Hilfe des „Membership Coeffizients“ (MoM). Genotypen die einen MoM von $\geq 0,85$ für eine der SPOPs besaßen, wurden in die jeweilige Gruppe eingeordnet.

Neben der Strukturanalyse mittels STRUCTURE wurden sowohl die Kinshipmatrix wie auch eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) und das Linkage Disequilibrium (LD) bestimmt. Sowohl Kinship, PCA und LD wurden in dem Statistikprogramm R berechnet unter zur Hilfenahme der 5892 SNP-Marker. Die für die Berechnung nötigen Softwarepakete waren:

1. PCA: FactoMineR
2. Kinshipmatrix: rrBLUP

3. LD: genetics

Die Analyse der genetischen Distanz zwischen zufällig ausgewählten Genotypen ist mithilfe der Rogers Distance (PROC distance) in dem Programm SAS 9.3 bestimmt worden. Der Vergleich der genetischen Verwandtschaft der ausgewählten Genotypen fand lokal und global für die signifikantesten Marker statt.

- Lokaler Vergleich: Für den Vergleich wurde ein 5 cM großer Bereich links und rechts vom signifikanten Marker bestimmt. Für alle Marker innerhalb dieses Bereiches wurde die Rogers Distance berechnet. Die durchschnittliche Markerdichte betrug 64.
- Globaler Vergleich: Die Rogers Distance wurde mit allen 5892 Markern für die ausgewählten Genotypen ermittelt.

2.5 Statistische Analyse

Eine zusammenfassende statistische Analyse wurde mittels SAS 9.3 bestimmt. Die Varianzanalyse (ANOVA) wurde mit einem linearem Modell (PROC GLM) berechnet:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + R_{j(Treatment)} + G_k + G_k \times T_i + G_k \times Y_l + G_k \times T_i \times Y_l + \varepsilon_{ijk} \quad (3)$$

μ ist der Mittelwert, T_i der fixe Effekt der i -ten Behandlung, R_j der fixe Effekt der j -ten Replikation, G_k der fixe Effekt des k -ten Genotyps, $G_k \times T_i$ der fixe Interaktionseffekt vom k -ten Genotyps mit der i -ten Behandlung, $G_k \times Y_l$ ist der fixe Interaktionseffekt vom k -ten Genotyps im l -ten Jahr und $G_k \times T_i \times Y_l$ ist der fixe multiple Interaktionseffekt des k -ten Genotyps mit der i -ten Behandlung und dem l -ten Jahr.

Um die Heritabilität (H^2) nach Falconer und Mackay (1996) und Holland *et al.*, (2003) zu bestimmen wurden einzelnen Koeffizienten in SAS 9.3 mithilfe des Befehls PROC VARCOMP berechnet. Varianz der Genotypen (V_G), Varianz der Genotypen innerhalb der Behandlungen ($V_{G \times T}$), Die Varianz der Genotypen innerhalb der Jahre ($V_{G \times Y}$) und die Varianz der experimentellen Fehlers (V_E). Hierbei sind:

t = die Anzahl der Behandlungen ($t = 2$)

y = die Anzahl der Jahre ($y = 2$)

r = die durchschnittliche Anzahl der Replikationen ($r = 3,8$)

$$H^2 = \frac{V_G}{V_G + \frac{V_{G \times T}}{t} + \frac{V_{G \times Y}}{y} + \frac{V_{G \times T \times Y}}{ty} + \frac{V_E}{tyr}} \quad (4)$$

Die Pearson Korrelation wurde in SAS 9.3 unter der Zuhilfenahme der PROC CORR Prozedur bestimmt. Der Korrelationskoeffizient wurde zwischen die fünf Wurzel- und Sprossmerkmalen R_{dw}, R_l, S_{dw}, T_{il} und R_s ermittelt.

2.6 Assoziationskartierungsmodell

Um die phänotypische-genotypische Assoziation von Merkmalen zu errechnen verwendeten wir SNP-Marker, Populationsstrukturdaten und die Kinshipmatrix. Die Populationsstruktur sowie die Kinshipmatrix wurden mit den 5892 polymorphen SNP-Markern berechnet. Die Aufreinigung der SNP-Marker erfolgte auf Basis der minor alleles frequency >0.05, einer SNP call rate <0.95 und fehlenden Werten >0.05. Die genomweite Assoziationskartierung erfolgte auf der Grundlage der GRAMMAR Methode entworfen durch Aulchenko, wo die Populationsstruktur durch die erste Hauptkomponente und die Kinshipmatrix beschrieben wird (Aulchenko *et al.*, 2007). Ein „Mixed“-Modell in SAS 9.3 (PROC MIXED) wurde für die Berechnung der Haupt- und Marker / Behandlungsinteraktionseffekte verwendet. Das Modell sah wie folgt aus:

$$Y_{ij} = \mu + M_i + L_i(M_i) + \varepsilon_{ij} \quad (5)$$

Hierbei ist Y_{ijk} der phänotypische Wert; μ ist der Mittelwert; M_i ist der fixe Effekt des i -ten Markers pro Genotyp/Haplotyp; T_j ist der zufällige Effekt der j -ten Behandlung; $M_i * T_j$ ist der Interaktionseffekt des i -ten Markers und der j -ten Behandlung; $L_k(M_i)$ ist der zufällige Effekt des k -ten Genotyps geschachtelt mit dem i -ten Marker pro Genotyp/Haplotyp und ε_{ijk} sind die Residuen. Da QTL-Modell beinhaltet eine iterative Multilocus-Prozedur, dabei wird der SNP-Marker mit den meisten Informationen als ein fester Faktor in jedem Schritt und jeder Wiederholung betrachtet. Alle weiteren Marker werden dann wieder in der nächsten Runde der Berechnung verwendet und reanalysiert. Der Startpunkt der nächsten Berechnung wird durch die vorangegangene Berechnung bestimmt. Die p -Werte von signifikanten Markern werden durch die „Probability of false discovery rate“ (PFDR) korrigiert (Benjamini and Yekutieli, 2005). Diese Prozedur wird sooft wiederholt bis kein Marker mehr detektiert wird. Dies führt zu einer Abnahme von signifikanten Markern und letztendlich zu einer Reduktion von falsch positiven QTL. Ein „confidence“ Interval von 5 cM links und rechts jedes signifikanten Markers bestimmt. Die SNP wurden zu einem QTL kombiniert, basierend auf ihrem berechneten signifikanten p -Wertes aus der ersten Wiederholung der Multilocus-Prozedur. Aus diesem Grund war die Größe der genetischen Intervalle abhängig von den flankierenden SNP-Markern (Sannemann *et al.*, 2015).

2.7 Kandidatengenanalyse

Die Markersequenzen der signifikantesten QTL wurden mit Sequenzen in den Datenbanken des National Centre for Biotechnology Information (NCBI) und IPK verglichen. Zusätzlich wurden die Marker mit den bekannten Positionen von Genen mithilfe des Genome Zipper gegenübergestellt. Daraufhin wurden die Kodierungssequenzen (CDS) von möglichen Kandidatengen in vier verschiedenen Genotypen (BCC906, HOR4206, ICB181160 und ICB180006) amplifiziert (Primer siehe **Tabelle 3**). Im Anschluss daran sind die CDS dieser Gene mittels der LIGHTRUN Sequenzierung von GATC (GATC Biotech AG, Konstanz, Deutschland) sequenziert worden. Die Sequenzen der Kandidatengene aus den verschiedenen Genotypen sind mithilfe der MUSCLE alignment Methode, implementiert in MegAlign Pro (DNASTAR Inc., Madison, USA), gegenübergestellt und verglichen worden.

Tabelle 3: Primerliste der für die Verschiedenen Kandidatengene.. TA: Bindetemperatur in Grad Celsius, Größe des amplifizierten Fragments in Basenpaaren (bp)

Primer	TA°C	Sequenz	Fragment (bp)
<i>HvCBF10A-fwd</i>	63.0	TCACACTCCTCACTAAGCTCA	825
<i>HvCBF10A-rev</i>	63.0	AGTCAAACAAAGCAGAGTCCA	
<i>HvCBF10B-fwd</i>	63.0	ACGTCTTCACACACTCCACA	852
<i>HvCBF10B-rev</i>	63.0	AGGCTGCAGAATCAAACGA	
<i>HWRKY29-fwd</i>	60.0	GAGTGTGAGAGTGAGACCCG	957
<i>HWRKY29-rev</i>	60.0	GGACCGAATTCAGCCATCAC	

3 Ergebnisse

3.1 Populationsstrukturanalyse

Die Populationsstruktur der globalen Gerstenpopulation wurde ermittelt um strukturelle Muster, wie Subpopulationen, innerhalb der Population zu identifizieren. Durch die Bestimmung des besten ΔK –Wertes, mittels CLUMPAK, konnten drei Substrukturen (SPOP) innerhalb der Population identifiziert werden (**Abbildung 2**). Aufgrund dieser Substrukturen mussten Kinship und PCA in die genomweite Assoziationskartierung integriert werden um den Effekt dieser Strukturen auf die Analyse so gering wie möglich zu halten.

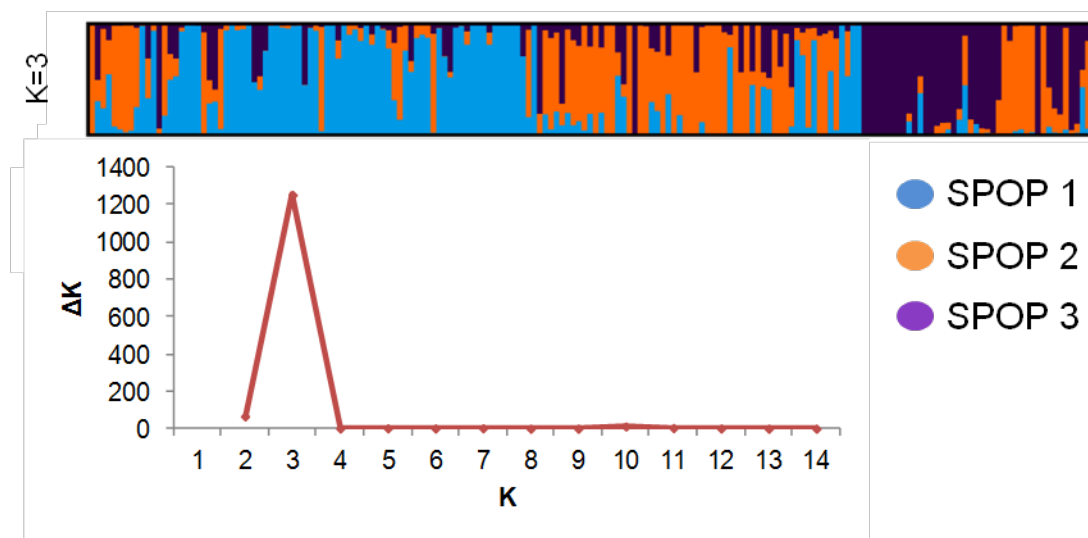


Abbildung 2: Populationsstruktur- und Differenzierungsanalyse für die globale Gerstenpopulation. Die Populationsstruktur für die 179 verschiedenen Genotypen unter Zuhilfenahme der 5892 polymorphen SNP-Marker deckte drei Subpopulationen (SPOP) auf ($K = 3$). Die genetische Verteilung der einzelnen Genotypen auf die drei Subpopulationen ist durch eine farbliche vertikale Linie symbolisiert, wobei blau SPOP 1, orange SPOP 2 und lila SPOP 3 ist.

Um die genetische Rekombination zwischen den verschiedenen Chromosomen zu bestimmen wurde das Linkage Disequilibrium (LD) berechnet. Diese Analyse zeigt deutlich, dass eine Abnahme des LD über alle Chromosomen und Genotypen auftritt (**Abbildung 3D**). Die Rekombinationsfraktion von Chromosom 7H nimmt im Verlauf von 6,7 cM von 0,17 auf weniger als 0,1 ab. Dementgegen bleibt die Rekombinationsfraktion für Chromosomen 1H bis 6H durchgehend unter 0,1. Um Unterschiede der genetischen Rekombination aufgrund des genomischen Hintergrundes der verschiedenen Genotypen zu bestimmen, wurde das LD für die drei verschiedenen Subspezies, die in dieser Population verwendet wurden. Die modernen Kultursorten weisen die höchste Kopplungsfraktion über die sieben Gerstenchromosomen (**Abbildung 3A**). Im Gegensatz dazu, zeigen Gerstenwildformen die niedrigste Kopplungsfraktion für alle Chromosomen (**Abbildung 3B**). Dementgegen besitzen die

Landsorten eine Kopplungsfraction zwischen der der modernen Kultursorten und der von den Wildformen (**Abbildung 3C**).

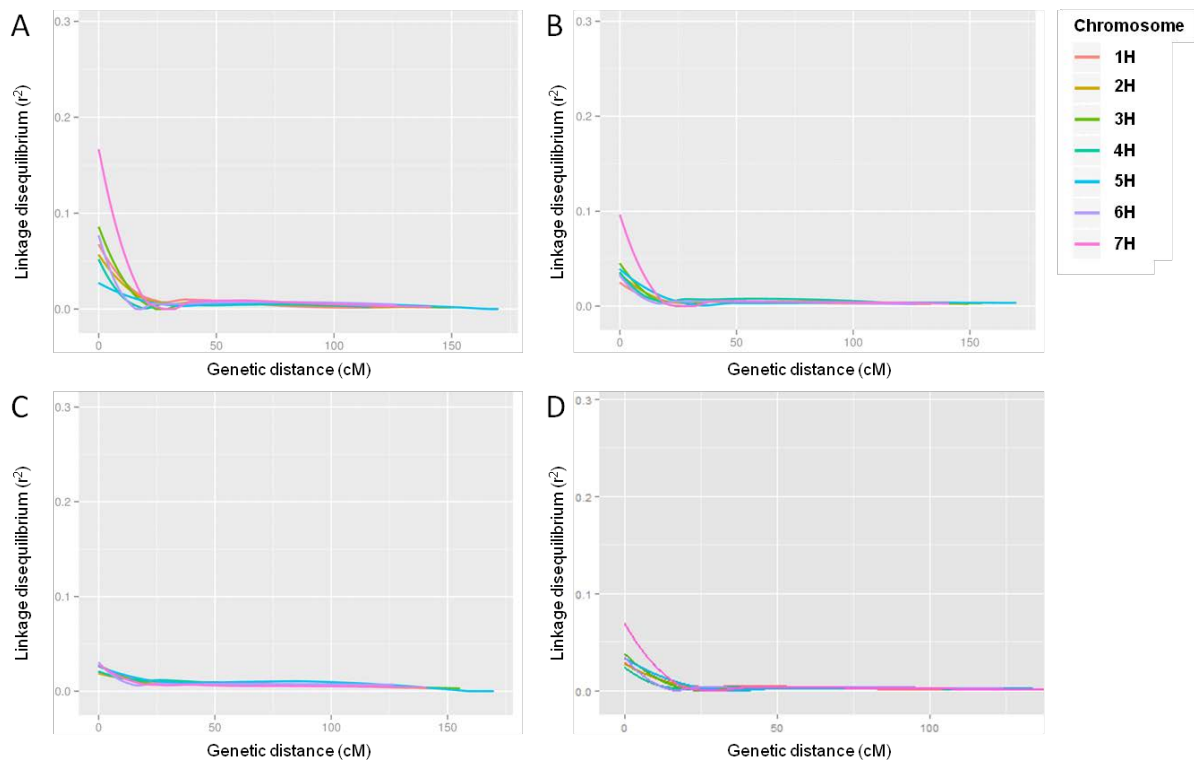


Abbildung 3: Abnahme des Linkage Disequilibriums berechnet mit 5892 polymorphen SNP-Markern für die globale Gerstenpopulation. Die verschiedenen farbigen Linien repräsentieren die sieben Gerstenchromosomen. A) LD-Abnahme Plot für moderne Kultursorten. B) LD-Abnahme Plot für Landsorten. C) LD-Abnahme Plot für Wildformen. D) LD-Abnahme Plot für die gesamte Population.

3.2 Merkmalsvariationen

Die Variationsanalyse für die fünf Wurzel- und Sprossmerkmale wies eine große Diversität zwischen den verschiedenen Genotypen innerhalb der Population auf. Zusätzlich konnten hohe signifikante Unterschiede zwischen der Kontroll- und der Trockenvariante bei den verschiedenen Merkmalen aufgedeckt werden. Der Genotyp pro Behandlungseffekt war hoch signifikant für alle Merkmale mit der Ausnahme von RI. Jedoch wies der Interaktionseffekt des Genotyps pro Jahr hoch signifikante Unterschiede für alle Merkmale auf. Ebenso zeigte der Genotyp pro Behandlung und Jahr-Effekt signifikante Unterschiede für die Merkmale Rdw, Sdw und Til. Die Heritabilitätskoeffizienten waren für die Merkmale (0,62), RI (0,48), Sdw (0,54), RS (0,66) hoch. Die höchste Heritabilität wurde für Til (0,90) beobachtet (**Tabelle 4**).

Tabelle 4: Varianze Analyse für fünf Wurzel- und Sprossmerkmale berechnet für 179 Genotypen. Die Daten stammen aus einem Topfexperiment mit Kontroll- und Trockenstressbedingungen, welches in den Jahren 2014 und 2015 in Folientunneln in Bonn-Poppelsdorf durchgeführt wurde.

Trait	SOV	DF	MS	F Wert	P Wert	H ²
Rdw	Behandlung	1	9584,51	800,31	<0,001	0,62
	Replikation _(Behandlung)	6	12,61	1,05	ns	
	Genotyp	177	35,09	4,54	<0,001	
	Genotyp x Behandlung	177	11,44	1,48	<0,001	
	Genotyp x Jahr	173	39,70	5,14	<0,001	
	Genotyp x Behandlung x Jahr	171	10,10	1,31	<0,01	
RI	Behandlung	1	15975,35	315,94	<0,001	0,48
	Replikation _(Behandlung)	6	329,11	6,51	<0,001	
	Genotyp	177	94,85	2,40	<0,001	
	Genotyp x Behandlung	177	38,14	0,97	ns	
	Genotyp x Jahr	173	134,55	3,41	<0,001	
	Genotyp x Behandlung x Jahr	171	60,94	1,54	<0,001	
Sdw	Behandlung	1	119560,89	2908,64	<0,001	0,54
	Replikation _(Behandlung)	6	359,57	8,75	<0,001	
	Genotyp	177	115,48	5,35	<0,001	
	Genotyp x Behandlung	177	38,14	1,77	<0,001	
	Genotyp x Jahr	173	206,48	9,57	<0,001	
	Genotyp x Behandlung x Jahr	171	29,19	1,35	<0,01	
Til	Behandlung	1	18928,75	355,34	<0,001	0,90
	Replikation _(Behandlung)	6	54,65	1,03	<0,001	
	Genotyp	177	395,32	41,91	<0,001	
	Genotyp x Behandlung	177	25,75	2,73	<0,001	
	Genotyp x Jahr	173	275,03	29,16	<0,001	
	Genotyp x Behandlung x Jahr	171	11,50	1,22	<0,05	
RS	Behandlung	1	84,24	284,03	<0,001	0,66
	Replikation _(Behandlung)	6	0,25	0,83	ns	
	Genotyp	177	1,18	5,78	<0,001	
	Genotyp x Behandlung	177	0,31	1,53	<0,001	
	Genotyp x Jahr	173	0,44	2,17	<0,001	
	Genotyp x Behandlung x Jahr	171	0,30	1,48	<0,001	

Merkmale: Rdw = Wurzeltrockengewicht, RI = Wurzellänge, Sdw = Sprosstrockengewicht, Til = Anzahl der Bestockungstriebe, RS = Wurzel/Spross-Verhältnis, SOV = Quelle der Variation, DF = Freiheitsgrade, MS = Summe der Mittleren Quadrate, *p*-Wert = gibt die Signifikanz des berechneten Wertes bei den verschiedenen Signifikanzniveaus an 0,05, 0,01 und 0,001, ns: insignifikant, H² = Heritabilität

Um den Zusammenhang der verschiedenen Wurzel- und Sprossmerkmale darzustellen wurde eine Pearson Korrelation zwischen den Merkmalen Rdw, RI, Sdw, Til und RS unter Kontroll- und Trockenstressbedingungen ermittelt (**Tabelle 5**). Der Vergleich von Rdw und RS ergab die höchste signifikante positive Korrelation unter Kontrollbedingungen (0,80). Weiterhin ergab die Korrelationsanalyse von Sdw und RS eine hoch signifikante negative Korrelation unter Kontrollbedingungen (-0,53). Unter Trockenstressbedingungen zeigten Rdw und Til die

höchste signifikante positive Korrelation mit 0,49 und die stärkste negative Korrelation unter Trockenstressbedingungen wurde zwischen Sdw und RS (-0,47) detektiert.

Tabelle 5: Pearson Korrelationskoeffizienten der phänotypischen Mittelwerte zwischen Wurzel- und Sprossmerkmalen unter Kontroll- und Trockenstressbedingungen. Die Daten stammen aus einem Topfexperiment, welches in den Jahren 2014 und 2015 in Folientunneln in Bonn-Poppelsdorf durchgeführt wurde

	Merkmal	Rdw	RI	RS	Sdw	Til
Kontrolle	Rdw	1				
	RI	0,11**	1			
	RS	0,80***	0,18***	1		
	Sdw	ns	-0,13***	-0,53***	1	
	Til	0,39***	0,14***	0,54***	0,45***	1
Stress	Rdw	1				
	RI	0,14***	1			
	RS	0,42***	0,13***	1		
	Sdw	0,16***	ns	-0,47***	1	
	Til	0,49***	0,25***	0,46***	0,23***	1

Merkmale: Rdw = Wurzelrockengewicht, RI = Wurzellänge, Sdw = Sprossrockengewicht, Til = Anzahl der Bestockungstriebe, RS = Wurzel/Spross-Verhältnis; *, **, *** = Gibt das das Signifikanzniveau bei 0,05 (*), 0,01 (**) und 0,001 (***), ns: insignifikant

Der Vergleich der Merkmalsmittelwerte weist signifikante Variationen zwischen den verschiedenen Umwelten (Kontrolle und Stress) sowie den Jahren 2014 und 2015 auf (**Abbildung 3 bis Abbildung 12**). Zusammenfassend war festzustellen dass eine signifikante Reduktion der Merkmalswerte unter Trockenstress beobachtet werden konnte. Der populationsweite Mittelwertvergleich zeigte starke Unterschiede unter Kontroll- (9,7 g) und Trockenstressbedingungen (5,1 g) für das Merkmal Rdw im Jahr 2014 (**Abbildung 3**). Ähnlich starke Variationen konnten für das Jahr 2015 gemessen werden (**Abbildung 4**). Ebenso konnten hohe Unterschiede für Sdw, Til und RS unter Trockenstress- und Kontrollbedingungen beobachtet werden (**Abbildung 7 bis Abbildung 12**). Lediglich Merkmal RI wies geringe Merkmalsvariationen zwischen Kontroll- und Trockenstress-bedingungen in den Jahren 2014 und 2015 auf (**Abbildung 5 und Abbildung 6**).

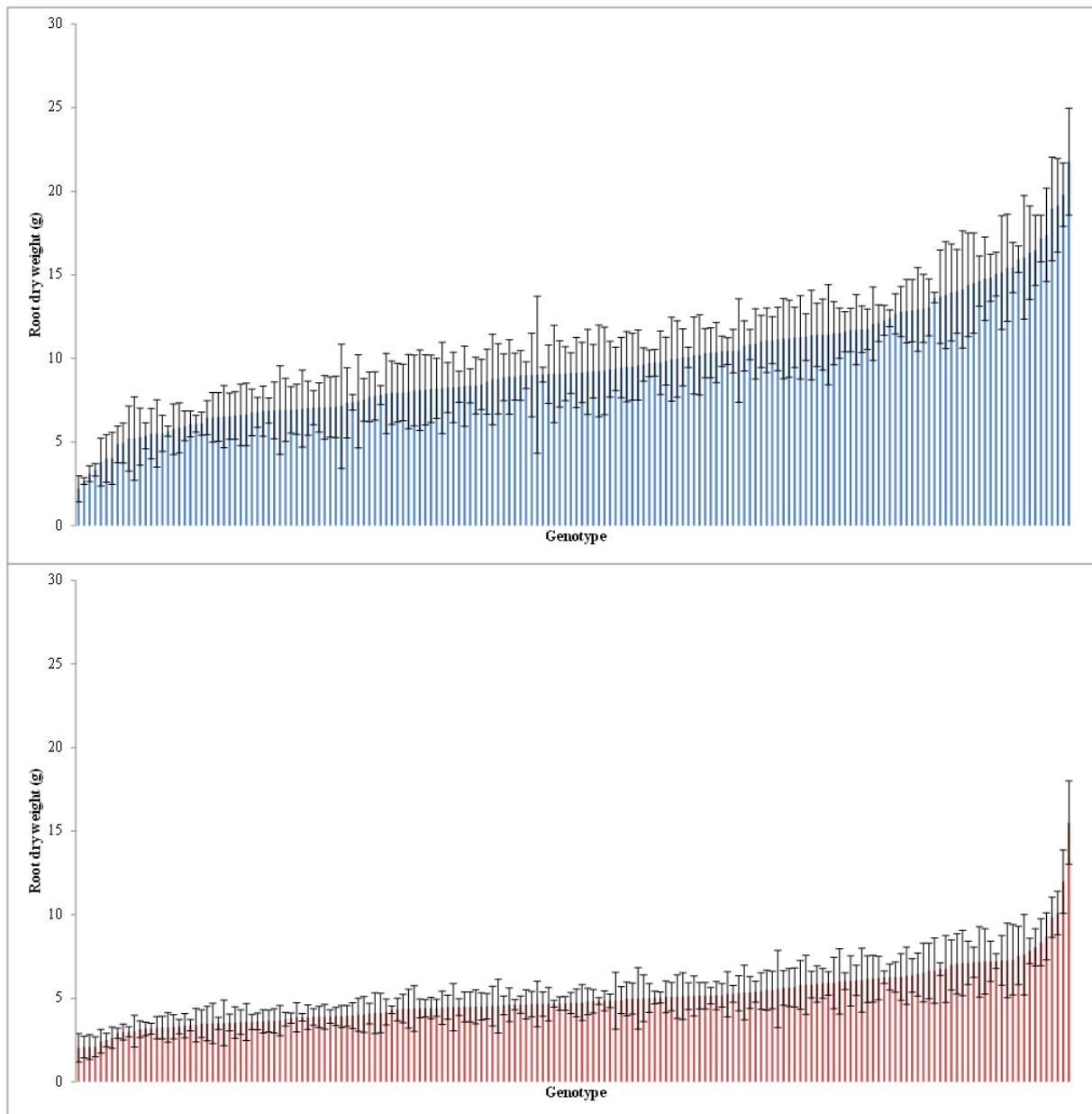


Abbildung 3: Phänotypische Variation für das Wurzeltrockengewicht (Rdw) in 2014 gemessen unter Kontroll- und Trockenstressbedingungen an 179 Genotypen. A) Rdw (g) für Gerstenakzessionen unter Kontrollbedingungen. B) Rdw (g) für Gerstenakzessionen unter Trockenstressbedingungen. N = 4

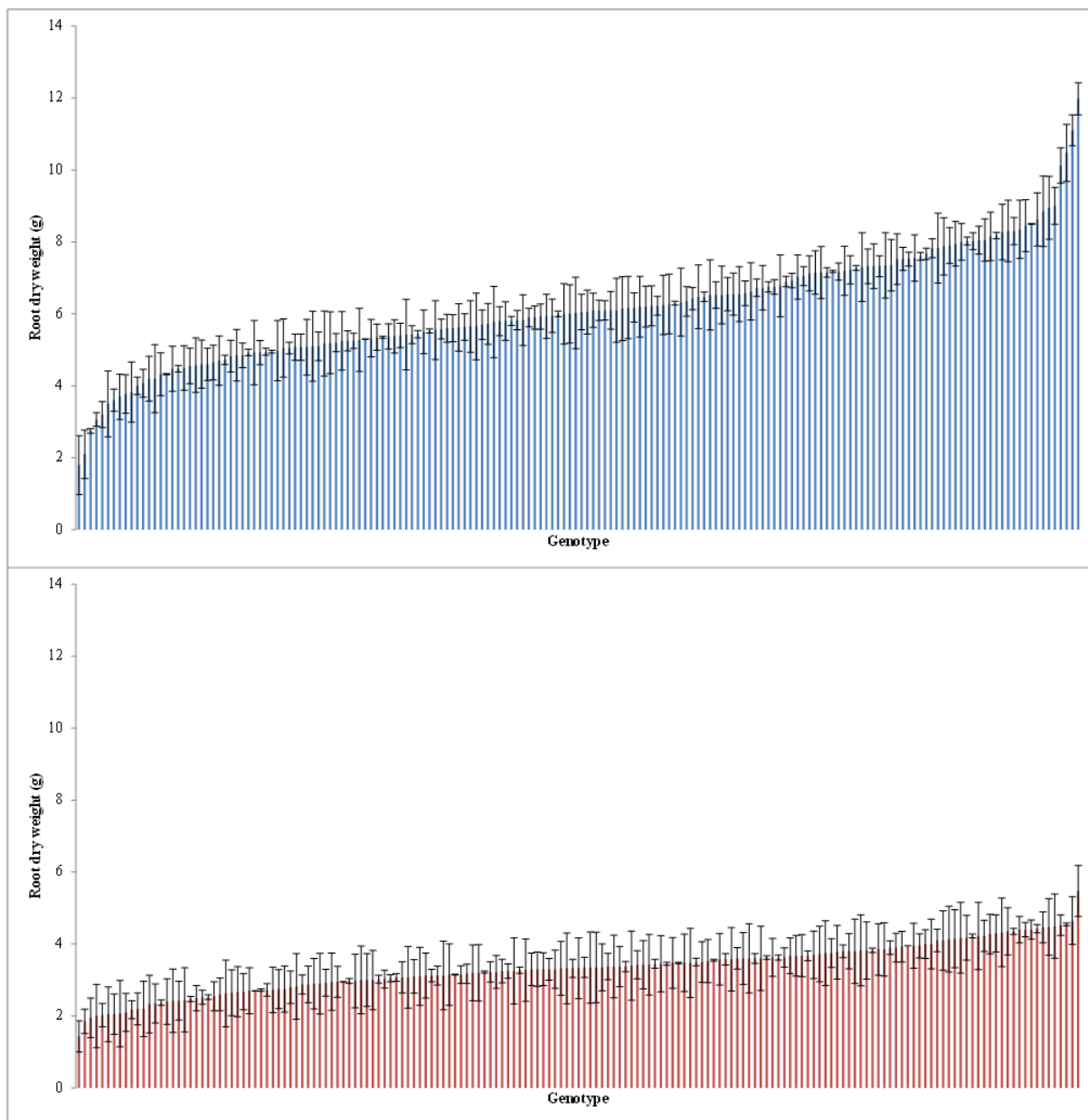


Abbildung 4: Phänotypische Variation für das Wurzeltrockengewicht (Rdw) in 2015 gemessen unter Kontroll- und Trockenstressbedingungen an 179 Genotypen. A) Rdw (g) für Gerstenakzessionen unter Kontrollbedingungen. B) Rdw (g) für Gerstenakzessionen unter Trockenstressbedingungen. N = 4

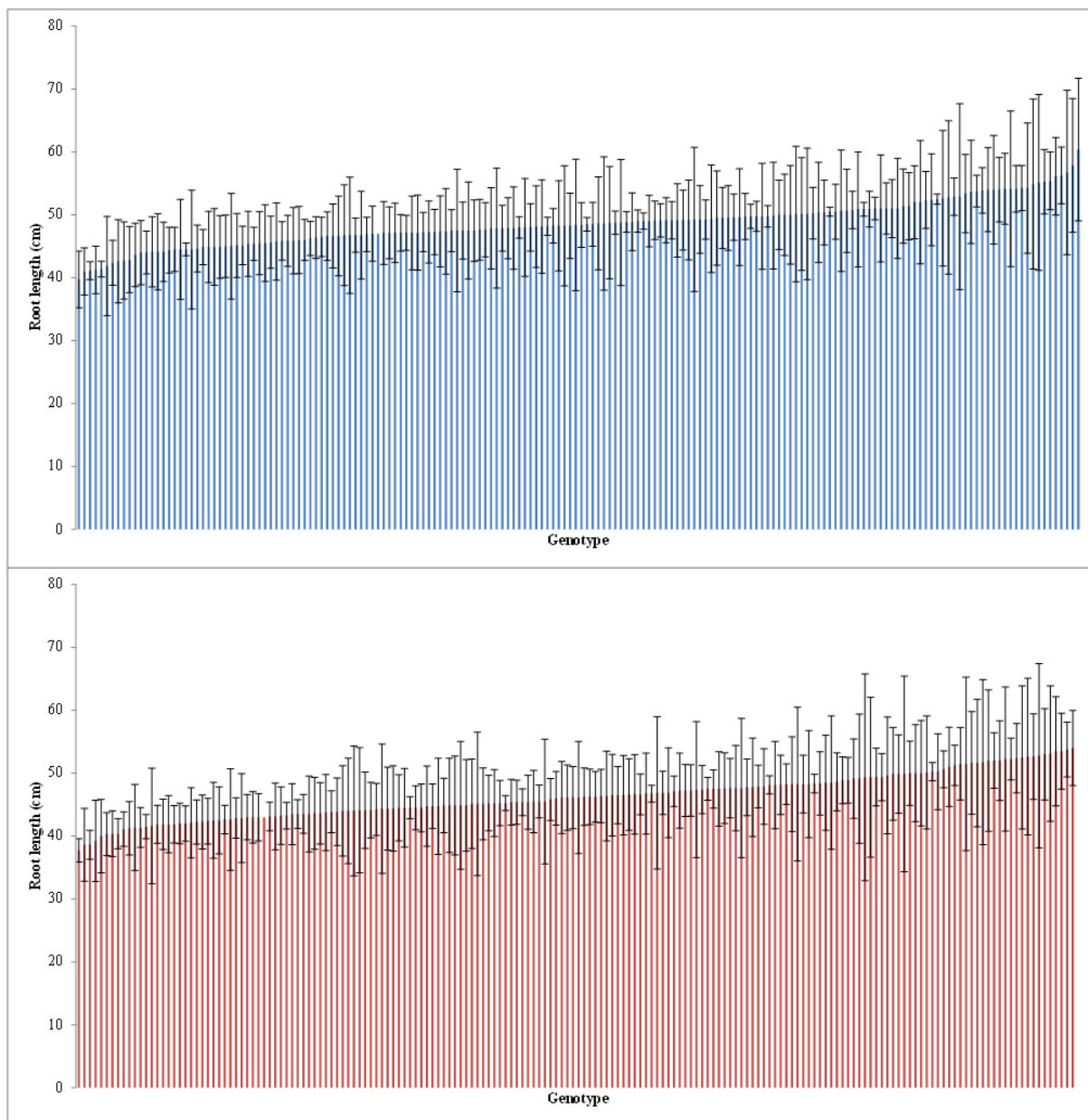


Abbildung 5: Phänotypische Variation für die Wurzellänge (RI) in 2014 gemessen unter Kontroll- und Trockenstressbedingungen an 179 Genotypen. A) RI (cm) für Gerstenakzessionen unter Kontrollbedingungen. B) RI (cm) für Gerstenakzessionen unter Trockenstressbedingungen. N = 4

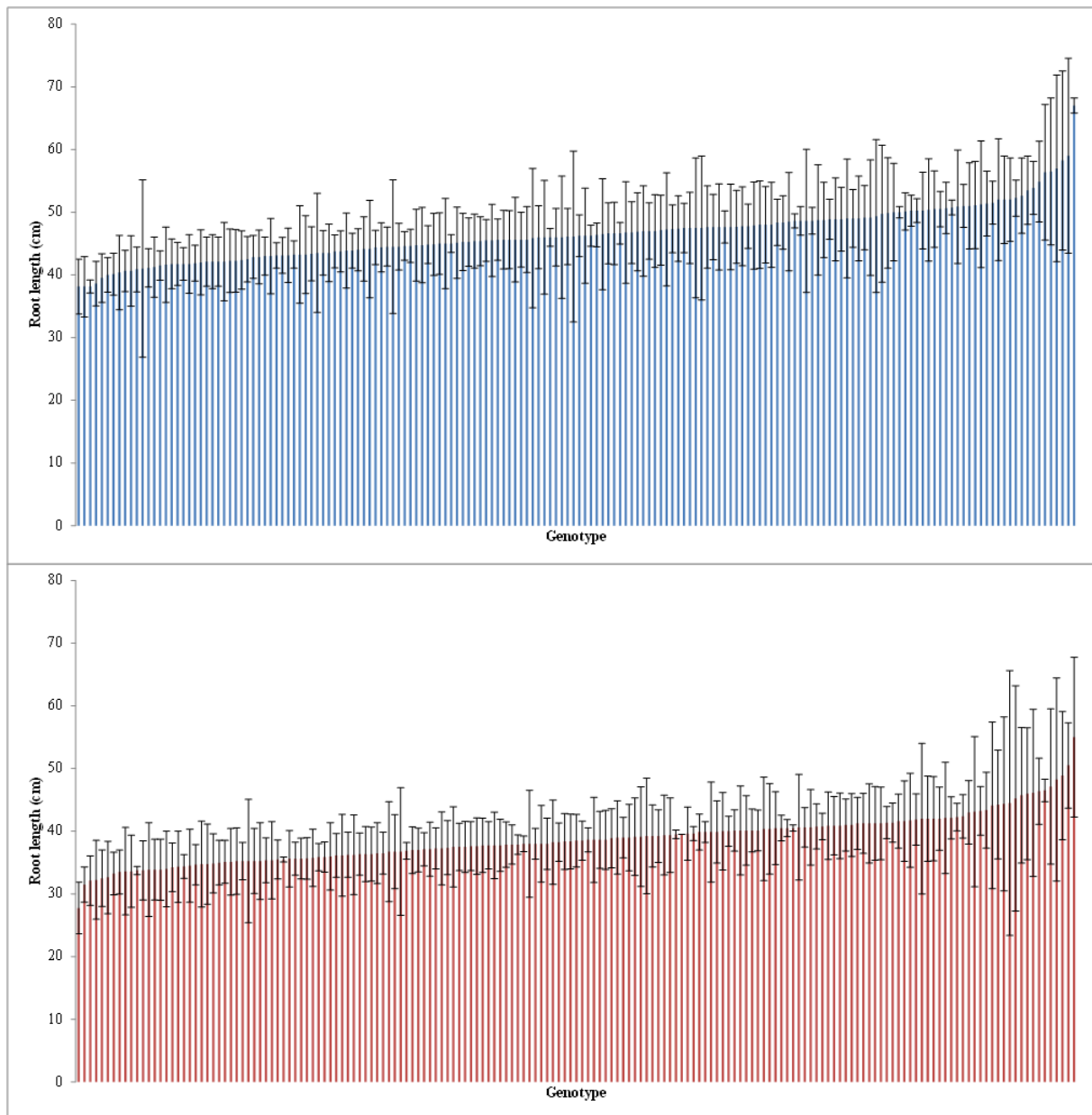


Abbildung 6: Phänotypische Variation für die Wurzellänge (RI) in 2015 gemessen unter Kontroll- und Trockenstressbedingungen an 179 Genotypen. A) RI (cm) für Gerstenakzessionen unter Kontrollbedingungen. B) RI (cm) für Gerstenakzessionen unter Trockenstressbedingungen. N = 4

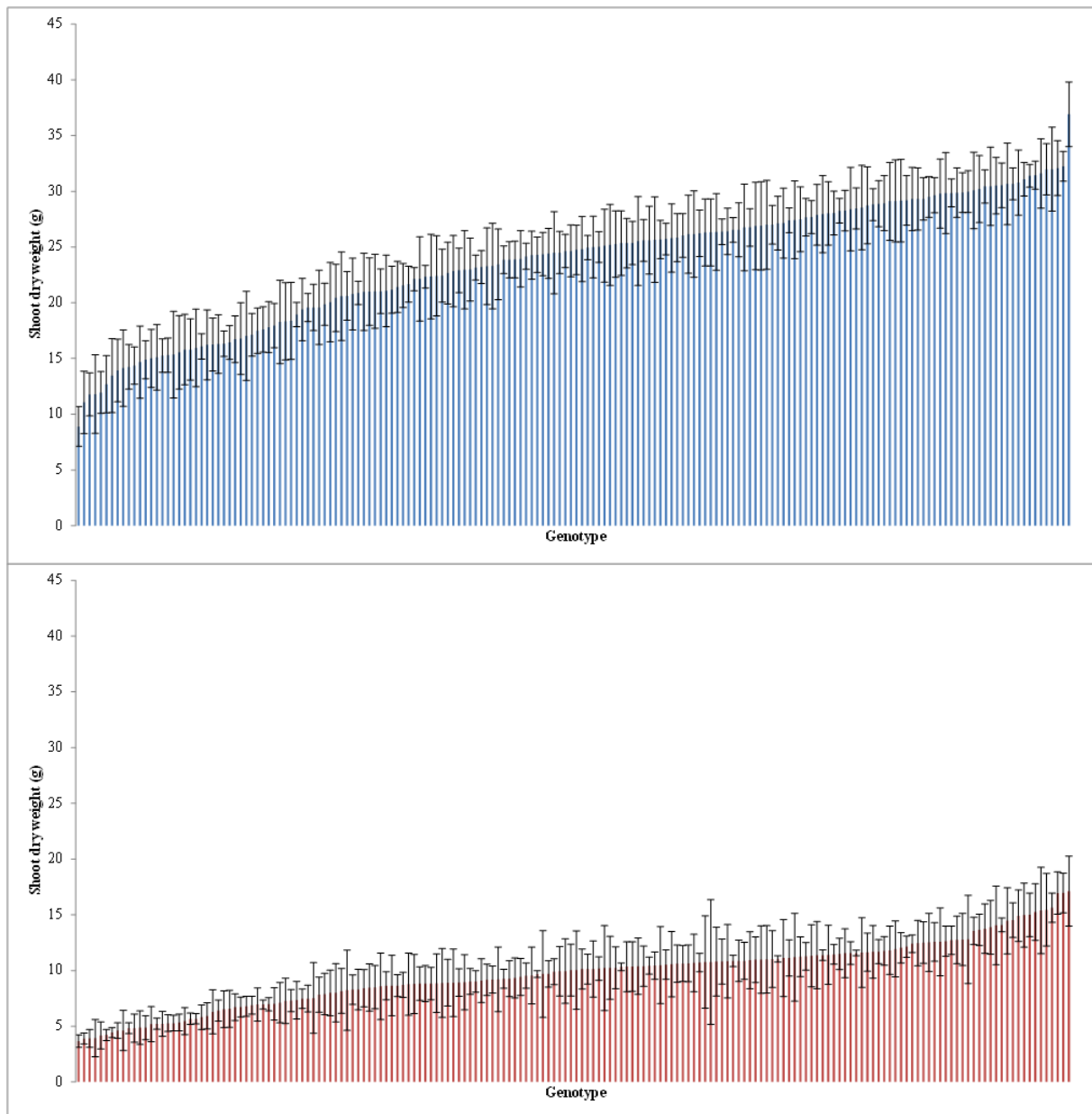


Abbildung 7: Phänotypische Variation für das Sprossstrockengewicht (Sdw) in 2014 gemessen unter Kontroll- und Trockenstressbedingungen an 179 Genotypen. A) Sdw (g) für Gerstenakzessionen unter Kontrollbedingungen. B) Sdw (g) für Gerstenakzessionen unter Trockenstressbedingungen. N = 4

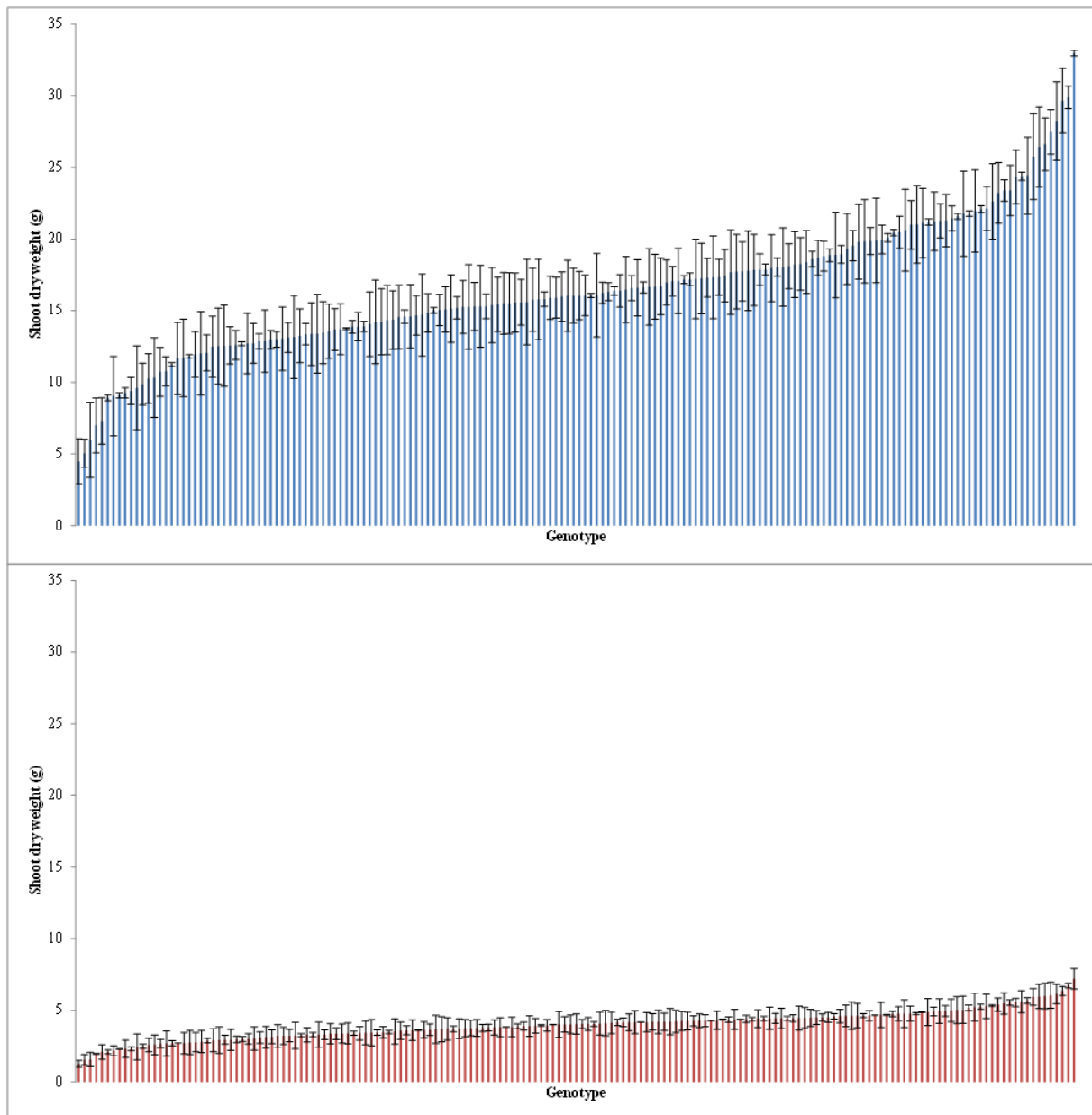


Abbildung 8: Phänotypische Variation für das Sprossrockengewicht (Sdw) in 2015 gemessen unter Kontroll- und Trockenstressbedingungen an 179 Genotypen. A) Sdw (g) für Gerstenakzessionen unter Kontrollbedingungen. B) Sdw (g) für Gerstenakzessionen unter Trockenstressbedingungen. N = 4

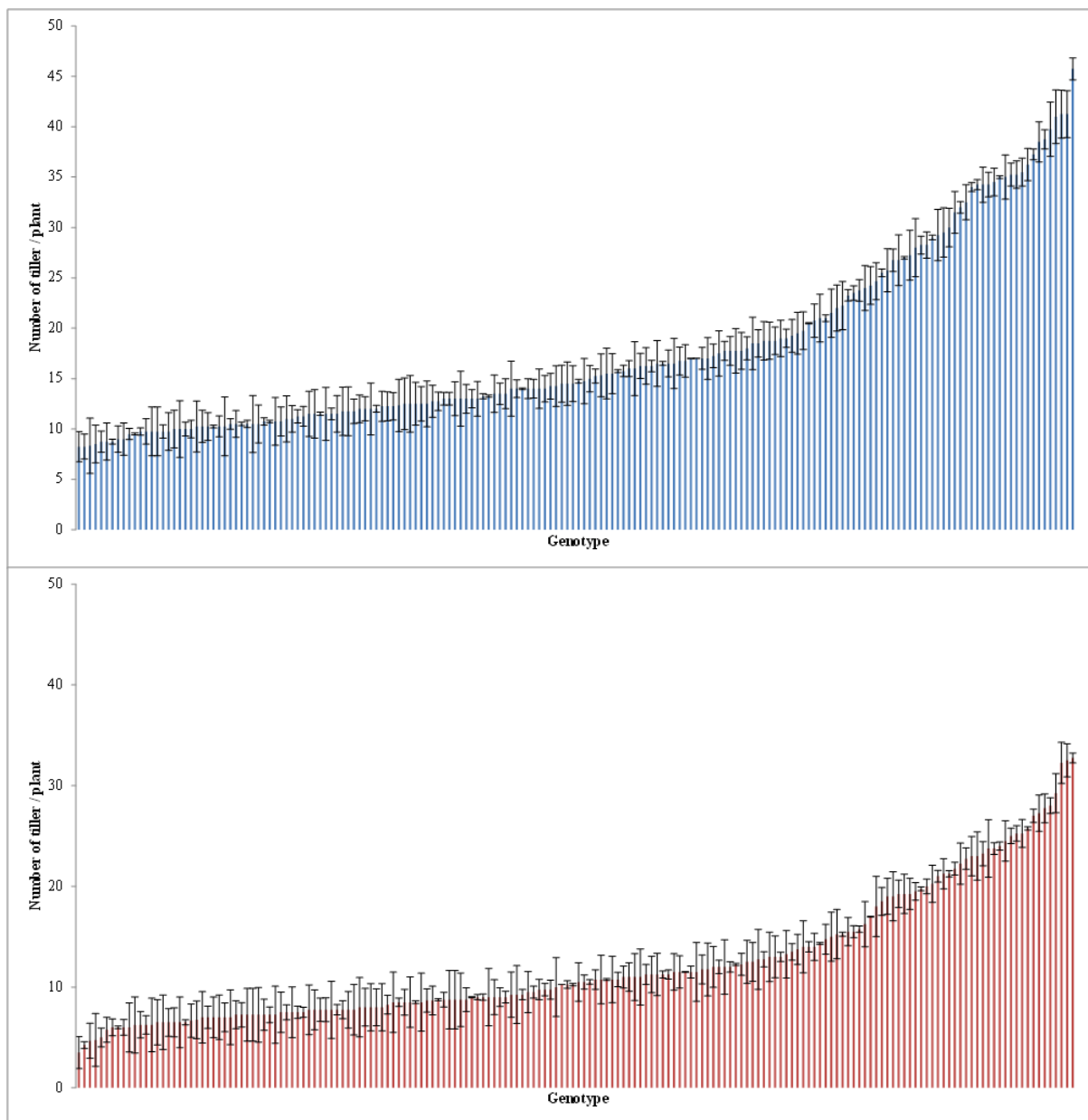


Abbildung 9: Phänotypische Variation für die Anzahl der Bestockungstrieb (Til) in 2014 gemessen unter Kontroll- und Trockenstressbedingungen an 179 Genotypen. A) Til für Gerstenakzessionen unter Kontrollbedingungen. B) Til für Gerstenakzessionen unter Trockenstressbedingungen. N = 4

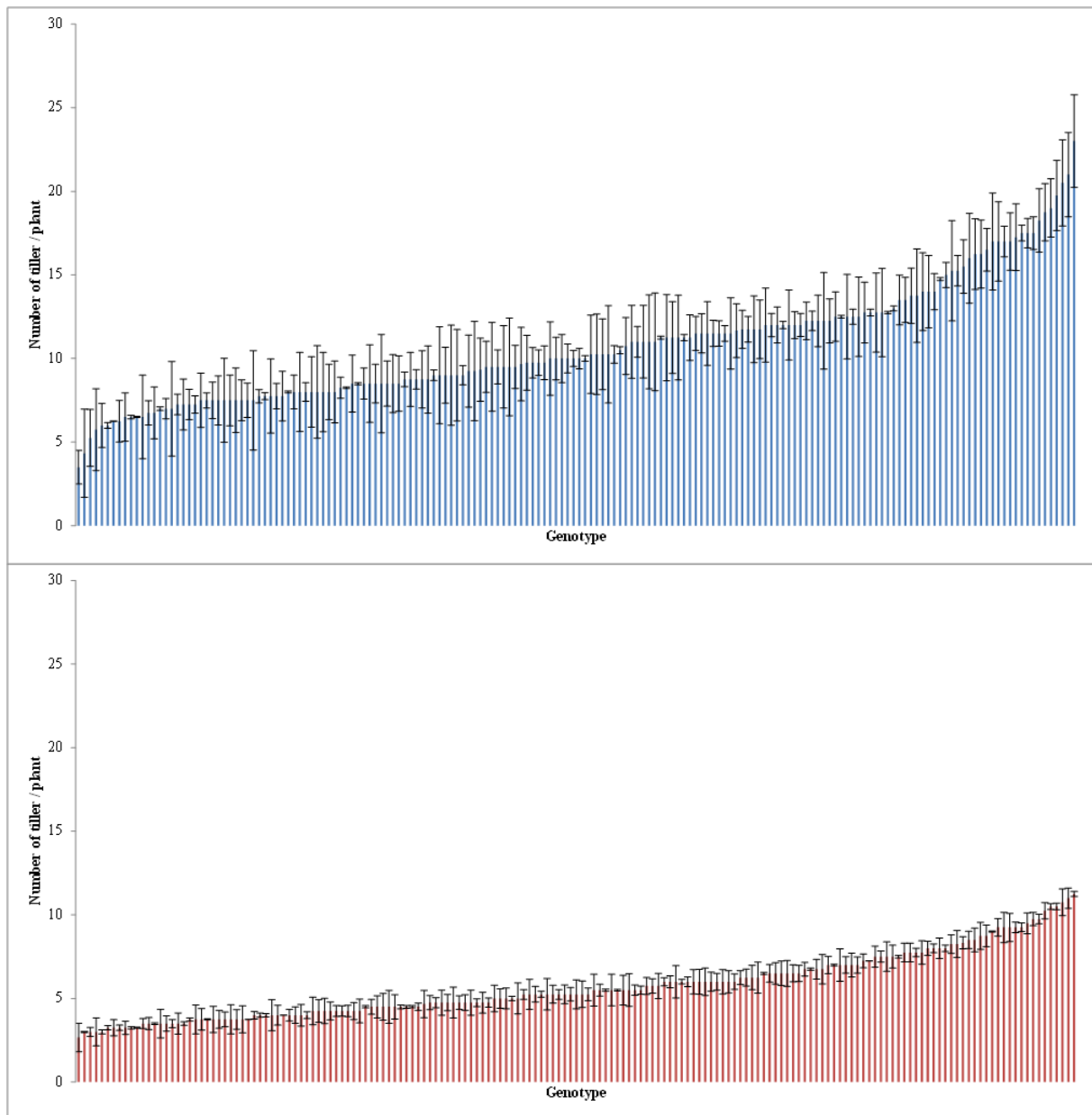


Abbildung 10: Phänotypische Variation für die Anzahl der Bestockungstriebe (Til) in 2015 gemessen unter Kontroll- und Trockenstressbedingungen an 179 Genotypen. A) Til für Gerstenakzessionen unter Kontrollbedingungen. B) Til für Gerstenakzessionen unter Trockenstressbedingungen. N = 4

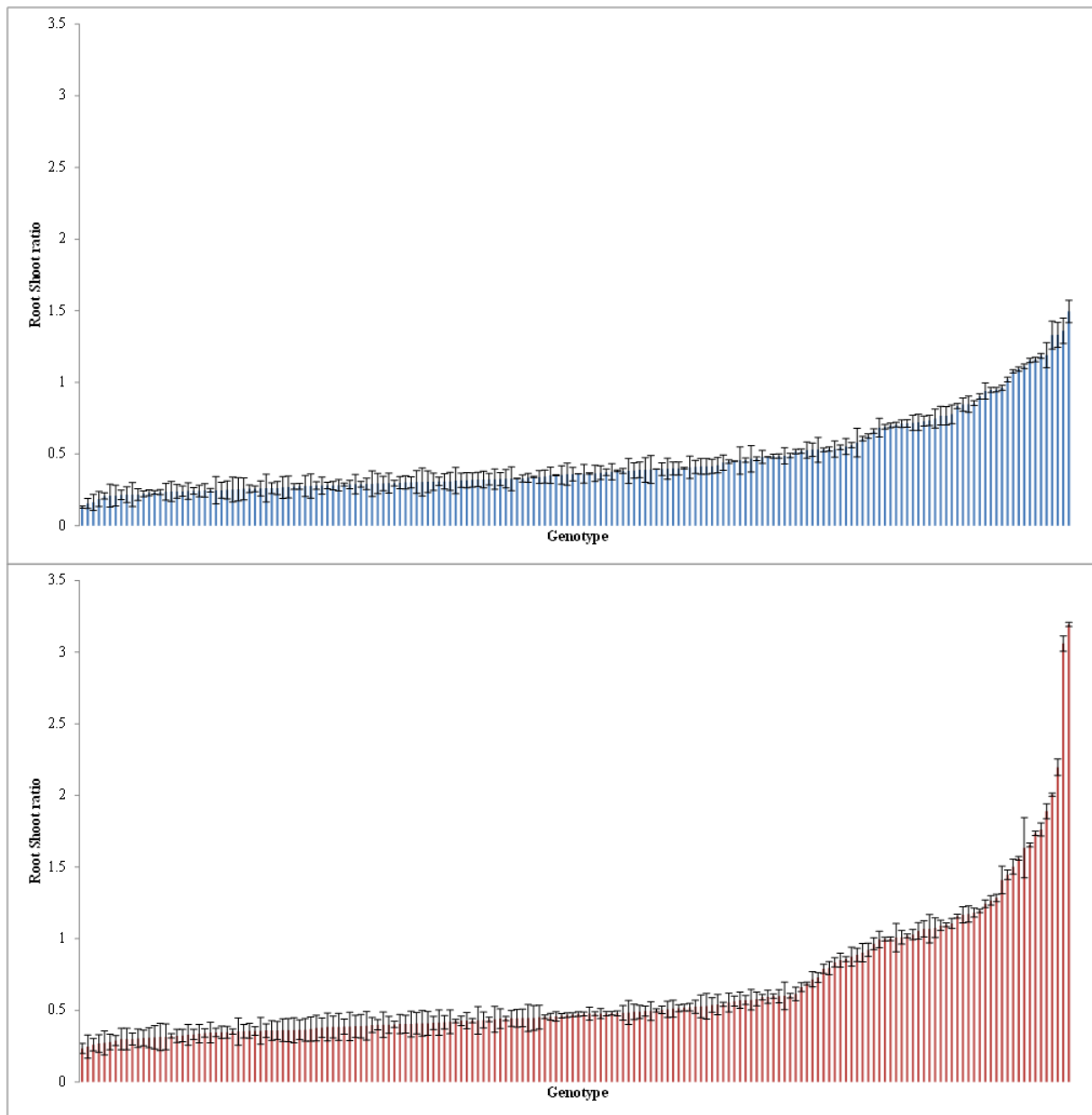


Abbildung 11: Phänotypische Variation für das Wurzel/Spross-Verhältnis (RS) in 2014 gemessen unter Kontroll- und Trockenstressbedingungen an 179 Genotypen. A) RS für Gerstenakzessionen unter Kontrollbedingungen. B) RS für Gerstenakzessionen unter Trockenstressbedingungen. N = 4

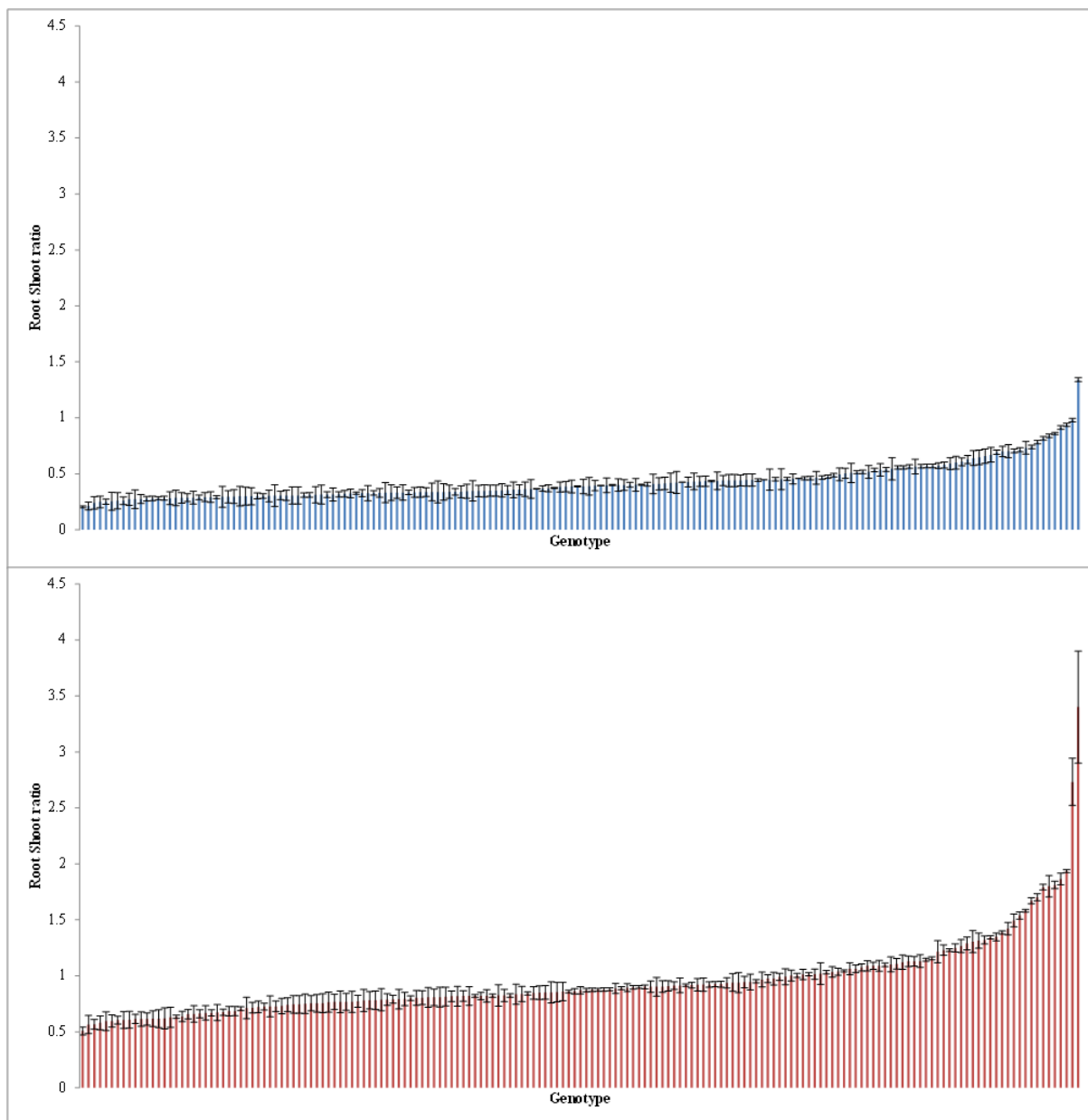


Abbildung 12: Phänotypische Variation für das Wurzel/Spross-Verhältnis (RS) in 2014 gemessen unter Kontroll- und Trockenstressbedingungen an 179 Genotypen. A) RS für Gerstenakzessionen unter Kontrollbedingungen. B) RS für Gerstenakzessionen unter Trockenstressbedingungen. N = 4

3.3 QTL Detektion und Quantifizierung

Die genomweite Assoziationskartierung deckte 17 signifikante Marker / Merkmalsassoziationen für die fünf analysierten Wurzel- und Sprossmerkmale auf. Insgesamt zeigten neun der 17 Marker für die fünf Merkmale lediglich einen Haupteffekt, drei Marker unter den 17 signifikanten Markern zeigten lediglich einen Marker / Behandlungseffekt und fünf Marker von den 17 Markern wiesen sowohl einen Haupt- wie auch einen Marker / Behandlungseffekt für die fünf Wurzel- und Sprossmerkmale auf (**Tabelle 6**). Eine QTL-Karte, die die assoziierten Regionen sowie die flankierenden SNP-Marker zeigt, ist in **Abbildung 13** zu finden.

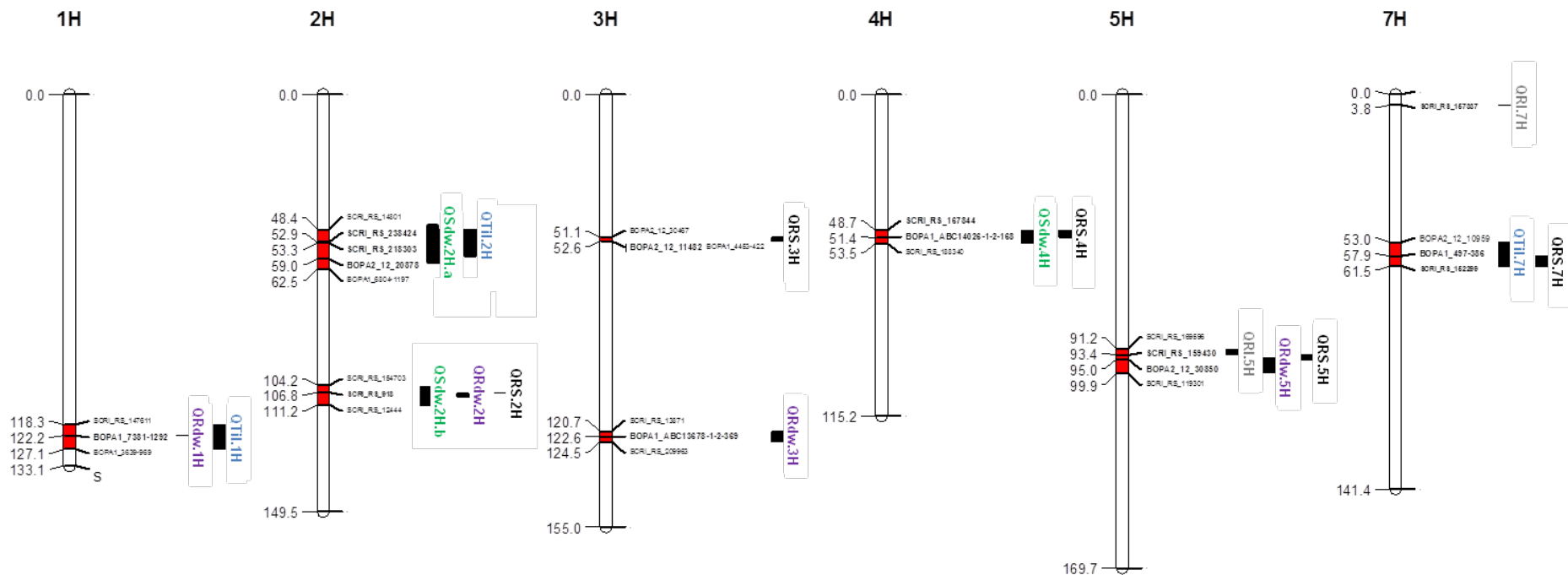


Abbildung 13: QTL-Karte für die Assoziationskartierung von fünf verschiedenen Wurzel- und Sprossmerkmalen detektiert in einer globalen Gerstenpopulation. Die 17 signifikanten QTL sind auf sechs Chromosomen lokalisiert (1H, 2H, 3H, 4H, 5H und 7H). Lila: Wurzel-/Spross-Verhältnis (Rdw); Grau: Wurzellänge (RI); Grün: Sprosstrockengewicht (Sdw); Blau: Anzahl der Bestockungstrieb (Til); Schwarz: Wurzel-/Spross-Verhältnis (RS). Die flankierenden Bereiche der QTL sind durch rote und schwarze Linien markiert.

Tabelle 6: Liste von signifikanten QTL Regionen für Wurzel- und Sprossmerkmale. Es sind Markerinformationen und der Effekt des Alleles auf das Merkmal angegeben.

Merkmal	QTL	Marker	Effekt	Pos (cM)	FR	LOD	Var (%)	Major/Minor	Major	Het	Minor	RP (%)
Rdw	QRdw.1H	BOPA1_7381-1292	M	1H (122,17)	122,09 - 122,17	11,57	13,81	G/A	5,84	4,09	7,48	82,76
	QRdw.2H	SCRI_RS_918	MxT	2H (106,80)	106,79 - 107,97	17,77	18,59	T/C	7,85	7,15	5,60	40,18
	QRdw.3H	BOPA1_ABC13678-1-2-369	M	3H (122,59)	120,68 - 124,54	14,54	20,76	A/G	5,90	6,70	8,39	42,20
	QRdw.5H	BOPA2_12_30850	M / MxT	5H (95,00)	94,44 - 99,93	26,20	24,93	G/A	6,96	7,52	9,48	36,16
RI	QRI.5H	SCRI_RS_159430	M	5H (93,40)	91,16 - 93,40	16,14	14,29	T/C	46,00	47,50	48,67	5,80
	QRI.7H	SCRI_RS_157337	M	7H (3,82)	3,82 - 3,82	15,37	10,12	C/T	47,33	45,75	44,00	7,57
Sdw	QSdw.2H.a	BOPA2_12_20878	M	2H (58,99)	54,32 - 62,46	40,70	33,66	A/G	20,80	26,62	15,88	67,65
	QSdw.2H.b	SCRI_RS_918	MxT	2H (106,80)	104,15 - 111,26	32,05	27,85	T/C	17,61	19,56	22,85	29,76
	QSdw.4H	SCRI_RS_167844	M	4H (48,65)	48,65 - 53,47	22,66	19,86	G/A	21,24	16,83	16,42	29,32
Til	QTil.1H	BOPA1_7381-1292	M	1H (122,17)	118,34 - 127,09	102,61	53,20	G/A	10,00	14,50	15,00	50,00
	QTil.2H	SCRI_RS_218303	M	2H (53,26)	48,44 - 58,05	39,55	35,91	C/T	11,00	19,50	14,00	77,27
	QTil.7H.	BOPA1_497-386	M / MxT	7H (57,93)	52,97 - 61,47	35,99	28,84	G/A	11,00	13,00	20,00	81,82
RS	QRS.2H	SCRI_RS_918	MxT	2H (106,80)	106,80 - 106,80	14,15	15,08	T/C	0,42	0,38	0,30	38,33
	QRS.3H	BOPA2_12_11482	M / MxT	3H (52,62)	51,14 - 52,62	17,76	13,54	A/C	0,36	0,81	0,37	125,00
	QRS.4H	BOPA1_ABC14026-1-2-168	M	4H (51,40)	48,65 - 51,40	13,94	15,88	A/G	0,34	0,36	0,42	23,53
	QRS.5H	BOPA2_12_30850	M / MxT	5H (95,00)	93,40 - 95,00	66,09	29,30	G/A	0,35	0,38	0,55	57,14
	QRS.7H	SCRI_RS_152299	M / MxT	7H (61,47)	57,93 - 61,47	11,19	12,86	C/T	0,34	0,39	0,39	14,71

Merkmale: Rdw = Wurzeltrockengewicht, RI = Wurzellänge, Sdw = Sprosstrockengewicht, Til = Anzahl der Bestockungstriebe, RS = Wurzel/Spross-Verhältnis; M = Haupteffekt; MxT = Marker/Behandlungseffekt; Pos = Position auf dem Chromosom in cM; FR = Flankierende Region; LOD = LOD score; Var (%) = Genetische Variation erklärt durch ein einziges QTL; Major/Minor = Hauptallel und Minorallel; Major/Het/Minor = Phänotypischer Effekt des homozygoten Hauptallels, des heterozygoten Allels und des homozygoten Minorallels; RP (%) = Relative Performance des positiven Allels verglichen mit dem negativen Allel

Wurzelrockengewicht

Wir detektierten vier mögliche QTL für Rdw auf den Chromosomen 1H, 2H, 3H und 5H. Zwei dieser QTL wiesen Haupteffekte und Marker/Behandlungseffekte auf. Die zusammenfassende Statistik so wie die relative Performance für diese QTL ist in Tabelle 6 zu finden. Unter den signifikanten QTL für Rdw konnte das stärkste QTL (QRdw.5H) auf Chromosom 5H zwischen 94,44 und 99,93 cM lokalisiert werden. Das Minorallel beeinflusst die relative Performance des Merkmals bei +36,16%. Ein weiteres nennenswertes QTL war QRdw.1H auf Chromosom 1H zwischen 122,09 und 122,17 cM. Dieses QTL beeinflusste die RP des Merkmals mit 82,76% (**Tabelle 6**). Der Effekt des signifikantesten QTL (QRdw.5H) wurde in einem Pin-Plot dargestellt, um die Auswirkung der verschiedenen Allele auf das Merkmal visualisieren zu können. Genotypen, welche das homozygote Allel Adenin/Adenin (A/A) für dieses QTL tragen zeigen das höchste Wurzelrockengewicht. Dementgegen wird ein mäßiger bis schlechter phänotypischer Effekt beobachtet für Genotypen, die das homozygote Allel Guanin/Guanin (G/G) trugen (**Abbildung 14A**). Die Analyse der Allelverteilung ergab, dass Guanin das Hauptallel und Adenin das Minorallel war (**Abbildung 14B**). Genotypen die das Minorallel trugen sind überwiegend Wildformen. Das homozygote A/A zeigte den höchsten Effekt auf Rdw (Durchschnittlich 13 g) wohingegen das homozygote Hauptallel G/G lediglich durchschnittlich ein Rdw von 5 g verursachte. Das heterozygote bzw heterogene Allel zeigte einen durchschnittlichen Effekt (**Abbildung 14C**).

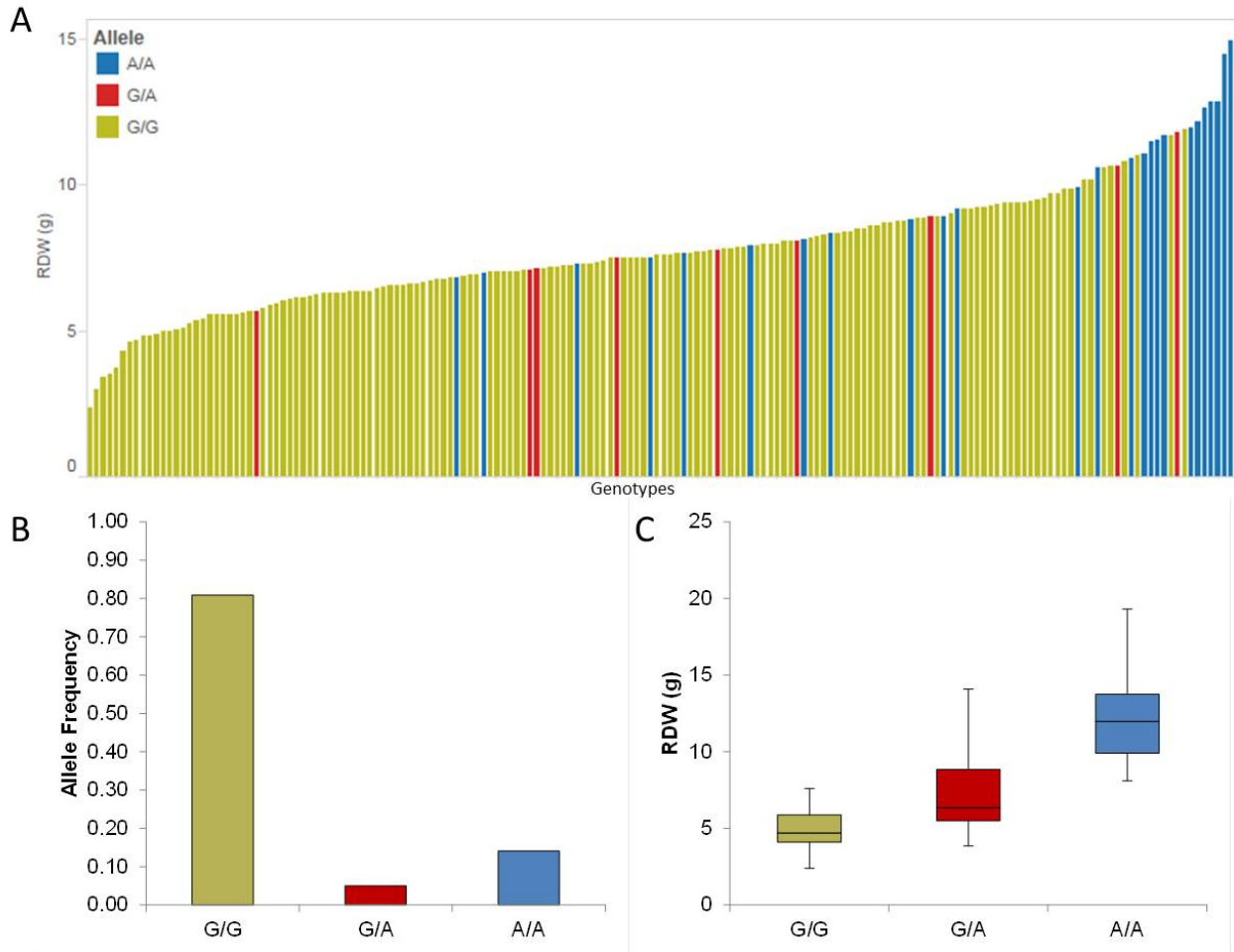


Abbildung 1: Quantifizierung des Allel-abhängigen Merkmalseffekt von QRdw.5H. A) Pin-Plot Analyse basierend auf dem Alleleffekt von Rdw über die gesamte Population. Die Genotypen sind nach ihren phänotypischen Mittelwerten aus 2014 und 2015 sortiert. B) Allelfrequenz von QRdw.5H. C) Whisker-Plot aus zehn zufällig ausgewählten Genotypen pro Allel um den Allel-abhängigen Effekt darzustellen. Gelb: Hauptallel; Rot: Heterozygotes / Heterogenes Allel; Blau: Minorallel.

Für eine Haplotypenanalyse wurden 30 Genotypen für die vielversprechendste QTL-Region willkürlich ausgewählt und ihre genetische Verwandtschaft auf lokaler sowie globaler Genomebene untersucht. Basierend auf der LD-Analyse wurde für den lokalen Vergleich ein 5 cM großer Bereich links und rechts vom signifikanten Marker ausgewählt und alle Marker in diesem Bereich für den Vergleich verwendet. Der Vergleich der genetischen Verwandtschaft von QRdw.5H auf lokaler Ebene enthüllte eine Substruktur-abhängige Verteilung des Minorallels A/A. Es war lediglich eine geringe genetische Ähnlichkeit zwischen SPOP 1 und SPOP 2 sowie zwischen SPOP 2 und SPOP 3 zu beobachten. Ebenso wurde eine hohe genetische Diversität zwischen den Genotypen innerhalb der SPOPs 1 und 2 zu erkennen. Im Gegensatz dazu, zeigten die Genotypen innerhalb SPOP 3 eine hohe genetische Ähnlichkeit auf lokaler Ebene (**Abbildung 15A**). Interessanterweise trugen alle Genotypen innerhalb der

SPOP 3 das homozygote Minorallel A/A. Wie der lokale genetische Vergleich wies der globale genetische Vergleich eine Struktur-abhängige Verteilung der Minorallels A/A. Lediglich Genotypen innerhalb der SPOP 3 zeigen eine hohe genetische Ähnlichkeit zueinander auf. Genotypen innerhalb der SPOP 1 und SPOP 2 sind äußerst divers zueinander (**Abbildung 15B**).

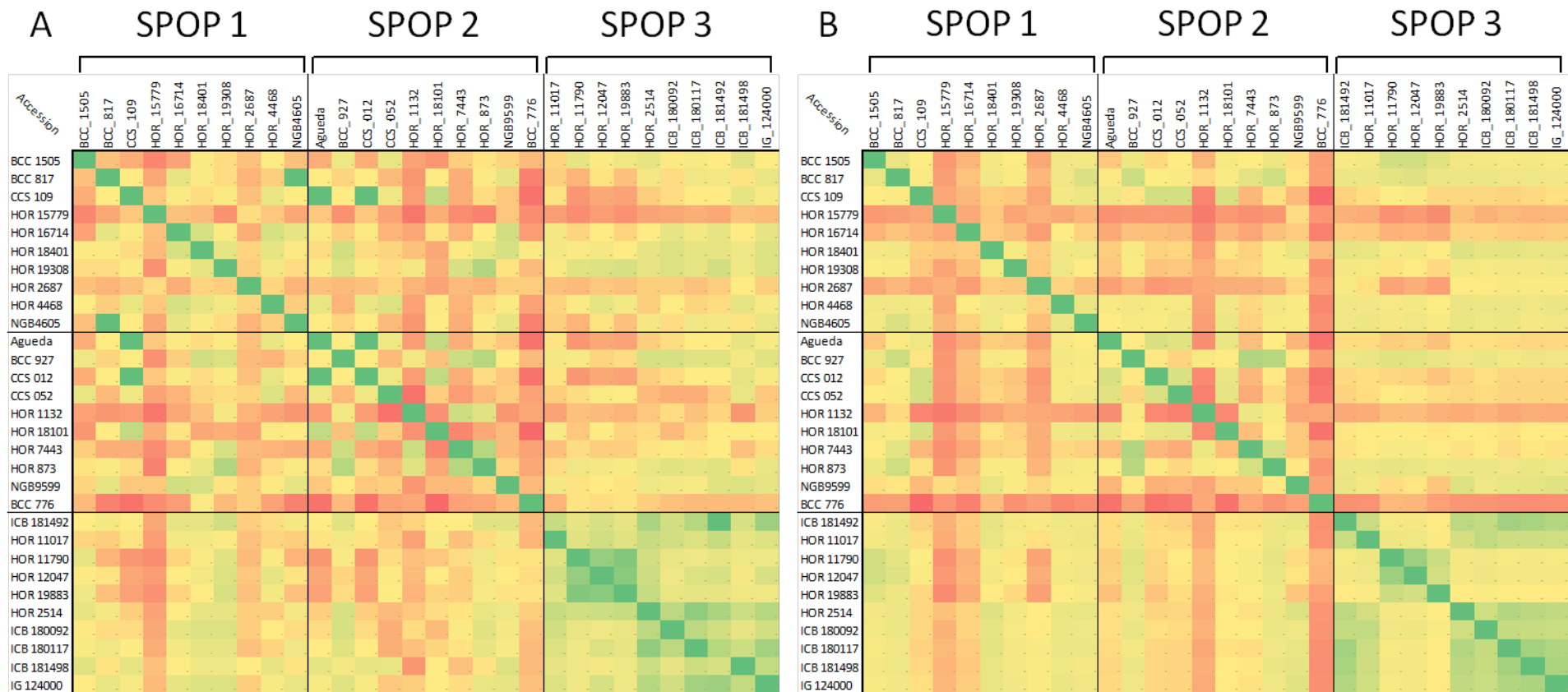


Abbildung 15: Genetischer Vergleich auf lokaler und globaler genomischer Ebene für QRdw.5H. Jede Gruppe besteht aus 30 zufällig gewählten Genotypen aus der globalen Gerstenpopulation. A) Vergleich lokaler genomischer Gruppen. B) Vergleich globaler genomischer Gruppen. Dunkelgrün: Rogers Distanzkoeffizient von 1,00, Dunkelrot: Distanzkoeffizient von 0,00

ICB181492, HOR19883, HOR11790, ICB180092, ICB181498, IG124000

Wurzellänge

Wir identifizierten zwei mögliche QTL für RL auf den Chromosomen 5H und 7H. Beide signifikanten Marker wiesen lediglich einen Haupteffekt auf. Basierend auf dem LOD schien der QTL auf Chromosom 7H das stärkste QTL für dieses Merkmal zu sein. QRI.7H liegt bei 3,82 cM und hat einen Effekt von 7,57% auf RP wenn das homozygote Hauptallel C/C vorliegt. Genotypen die das homozygote Minorallel trugen, sind überwiegend Genotypen aus dem Nahen Osten (**Tabelle 6**).

Sprosstrockengewicht

Die Assoziationskartierung enthüllte drei signifikante QTL-Regionen für das Merkmal Sdw. Die drei QTL-Regionen lagen auf den Chromosomen 2H und 4H (**Tabelle 6**). Zwei der drei signifikanten Marker zeigten einen Haupteffekt wohingegen einer nur einen Marker/Behandlungseffekt trug. Das QTL auf Chromosom 2H war das signifikanteste QTL (QSdw.2H.a) für das Merkmal Sdw. Es lag zwischen 54,32 cM und 62,46 cM und beeinflusste anscheinend die RP mit 67,65% (**Tabelle 6**). Um die Auswirkung der verschiedenen Allele des stärksten QTL (QSdw.2H.a) auf das Merkmal visualisieren zu können wurde ein Pin-Plot erstellt. Genotypen die das heterozygote Allel A/G trugen, wiesen den höchsten phänotypischen Wert auf. Im Gegensatz dazu, zeigten Genotypen mit dem homozygoten G/G Allel einen mäßigen Effekt (**Abbildung 16A**). Die Analyse der Allelverteilung ergab, dass Adenin das Hauptallel und Guanin das Minorallel war (**Abbildung 16B**). Genotypen die das heterozygote/heterogene Allel Adenin/Guanin (A/G) trugen zeigten den stärksten Phänotyp mit durchschnittlich 27 g, wohingegen das Minorallel G/G nur einen moderaten Effekt erzeugte (**Abbildung 16C**).

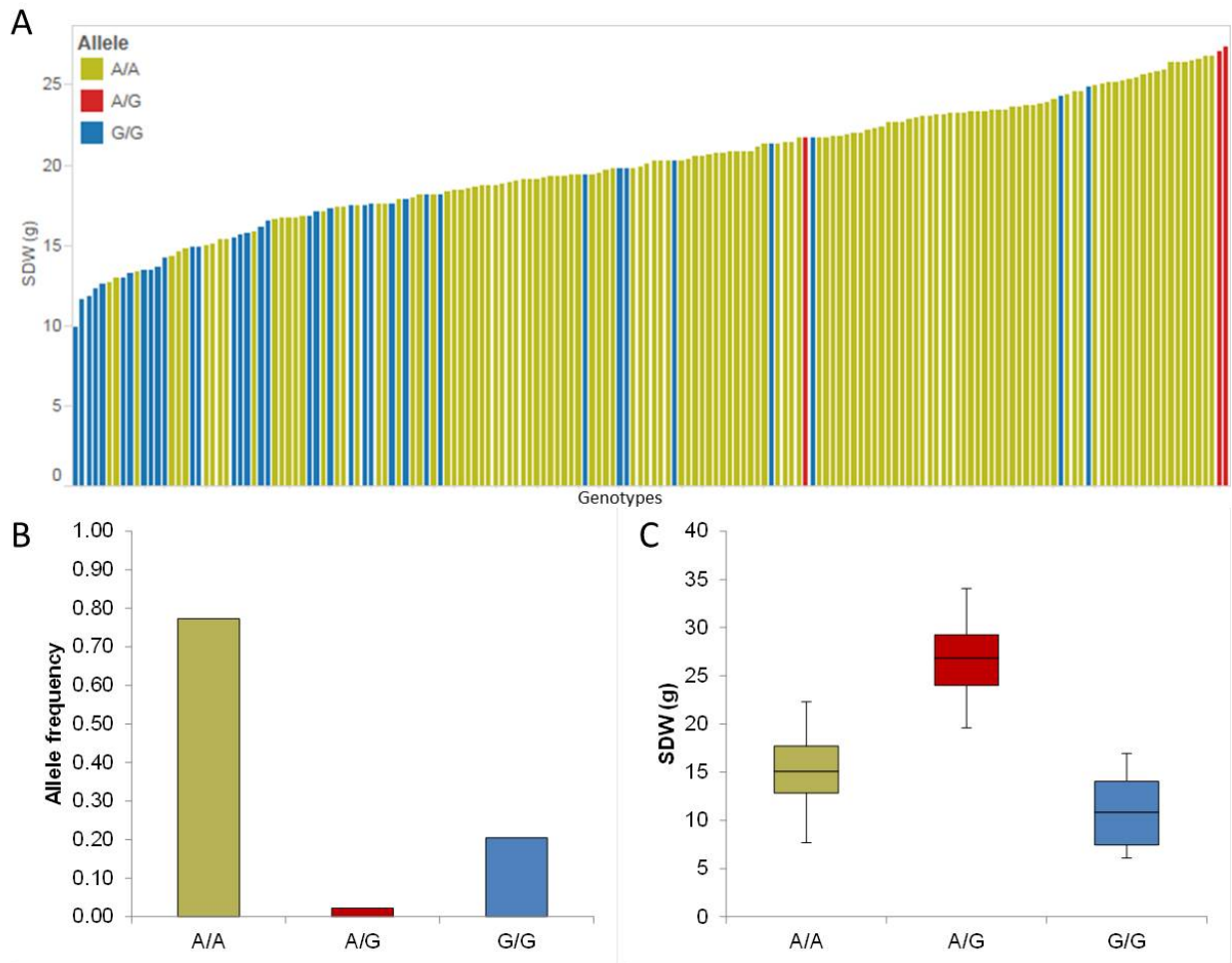


Abbildung 16: Quantifizierung des Allel-abhängigen Merkmalseffekts von QSDw.2H.a. A) Pin-Plot Analyse basierend auf dem Alleleffekt von Sdw über die gesamte Population. Die Genotypen sind nach ihren phänotypischen Mittelwerten aus 2014 und 2015 sortiert. B) Allelfrequenz von QSDw.2H.a. C) Whisker-Plot aus zehn zufällig ausgewählten Genotypen pro Allel um den Allel-abhängigen Effekt darzustellen. Gelb: Hauptallel; Rot: Heterozygotes / Heterogenes Allel; Blau: Minorallel.

Für eine Haplotypenanalyse wurden 30 Genotypen für die vielversprechendste QTL-Region willkürlich ausgewählt und ihre genetische Verwandtschaft auf lokaler sowie globaler Genomebene untersucht. Basierend auf der LD-Analyse wurde für den lokalen Vergleich ein 5 cM großer Bereich links und rechts vom signifikanten Marker ausgewählt und alle Marker in diesem Bereich für den Vergleich verwendet. Der Vergleich der genetischen Verwandtschaft von QSDw.2H.a auf lokaler Ebene enthüllte eine Substruktur-abhängige Verteilung des Minorallels A/A. Es war lediglich eine geringe genetische Ähnlichkeit zwischen SPOP 2 und SPOP 3 sowie zwischen SPOP 1 und SPOP 3 zu beobachten. Ebenso war eine hohe genetische Diversität zwischen den Genotypen innerhalb der SPOPs 2 und 3 zu erkennen. Im Gegensatz dazu, zeigten die Genotypen innerhalb SPOP 1 eine hohe genetische Ähnlichkeit auf lokaler Ebene (**Abbildung 17A**). Interessanterweise trugen alle Genotypen innerhalb der SPOP 1 das homozygote Minorallel A/A. Wie der lokale genetische Vergleich wies der globale

genetische Vergleich eine Struktur-abhängige Verteilung der Minorallels A/A. Lediglich Genotypen innerhalb der SPOP 1 zeigen eine hohe genetische Ähnlichkeit zueinander auf. Genotypen innerhalb der SPOP 2 und SPOP 3 sind äußerst divers zueinander (**Abbildung 17B**).

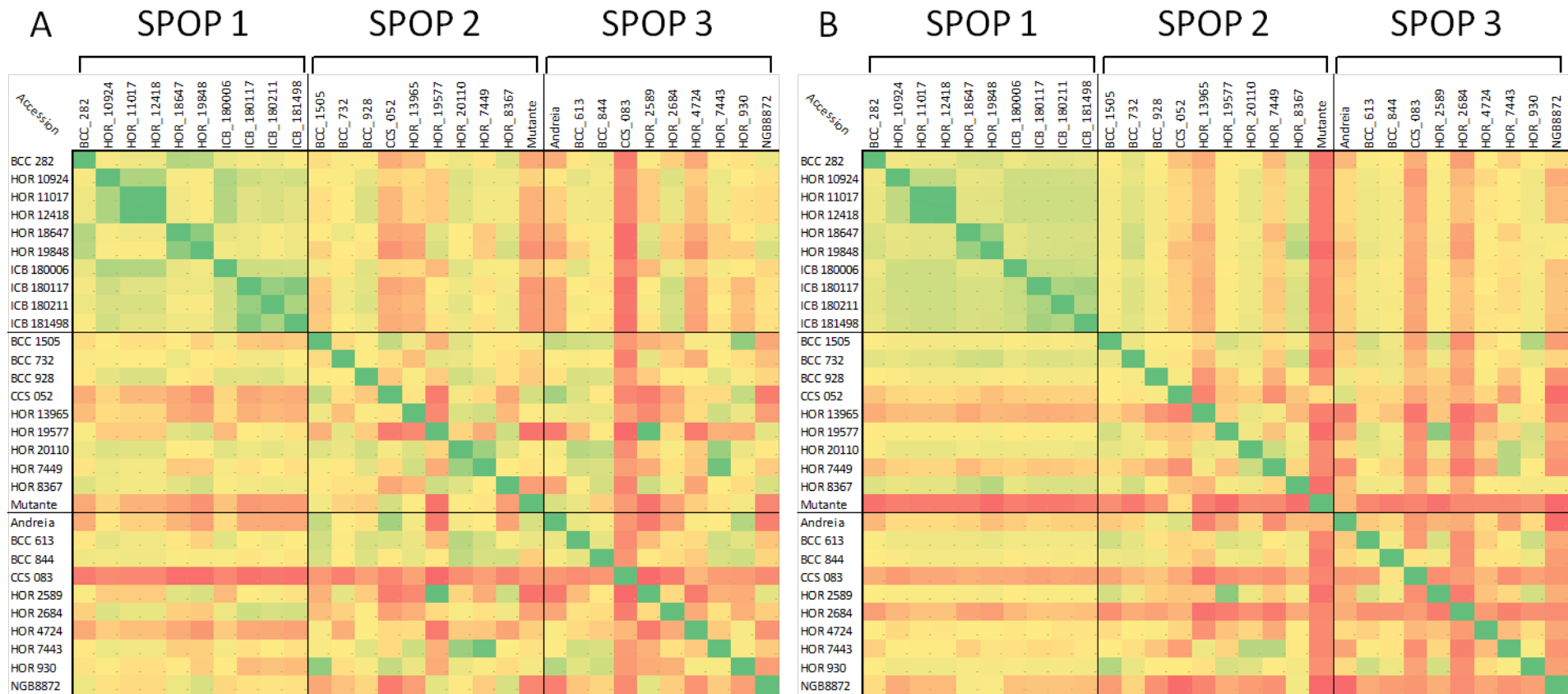


Abbildung 17: Genetischer Vergleich auf lokaler und globaler genomischer Ebene für QSDw.2H.a. Jede Gruppe besteht aus 30 zufällig gewählten Genotypen aus der globalen Gerstenpopulation. A) Vergleich lokaler genomischer Gruppen. B) Vergleich globaler genomischer Gruppen. Dunkelgrün: Rogers Distanzkoeffizient von 1,00, Dunkelrot: Distanzkoeffizient von 0,00

Anzahl der Bestockungstriebe

Mittels genomweiter Assoziationskartierung wurden vier signifikante QTL auf den Chromosomen 1H, 2H und 7H (**Tabelle 6**) für Til enthüllt. Die Marker auf den Chromosomen 1H und 2H wiesen einen Haupteffekt auf. Im Gegensatz dazu zeigte der Marker auf einen Haupteffekt sowie einen Marker/Behandlungseffekt. Der signifikanteste QTL für Til (QTil.1H) war auf Chromosom 1H zwischen 118,38 cM und 127,09 cM lokalisiert. Hierbei hatte das Minorallel einen Effekt auf den Phänotyp, der die RP um 50% erhöhte. Die allel-abhängigen Unterschiede des Phänotyps über alle Genotypen wurden durch einen Pin-Plot untersucht. Hierfür wurde für das vielversprechendste QTL (QTil.1H) ein Pin-Plot erstellt. Genotypen die das homozygote Allel A/A trugen wiesen die höchsten phänotypischen Werte auf, verglichen zu Genotypen mit dem homozygoten G/G Allel (**Abbildung 18A**). Aufgrund der Allelfrequenz konnte das homozygote G/G Allel als Hauptallel und das homozygote A/A Allel als Minorallel nachgewiesen werden (**Abbildung 18B**). Genotypen mit dem homozygoten Minorallel A/A produzierten im Durchschnitt 28 Bestockungstriebe, wohingegen Genotypen mit dem homozygoten Hauptallel G/G nur durchschnittlich 8 Bestockungstriebe trugen (**Abbildung 18C**).

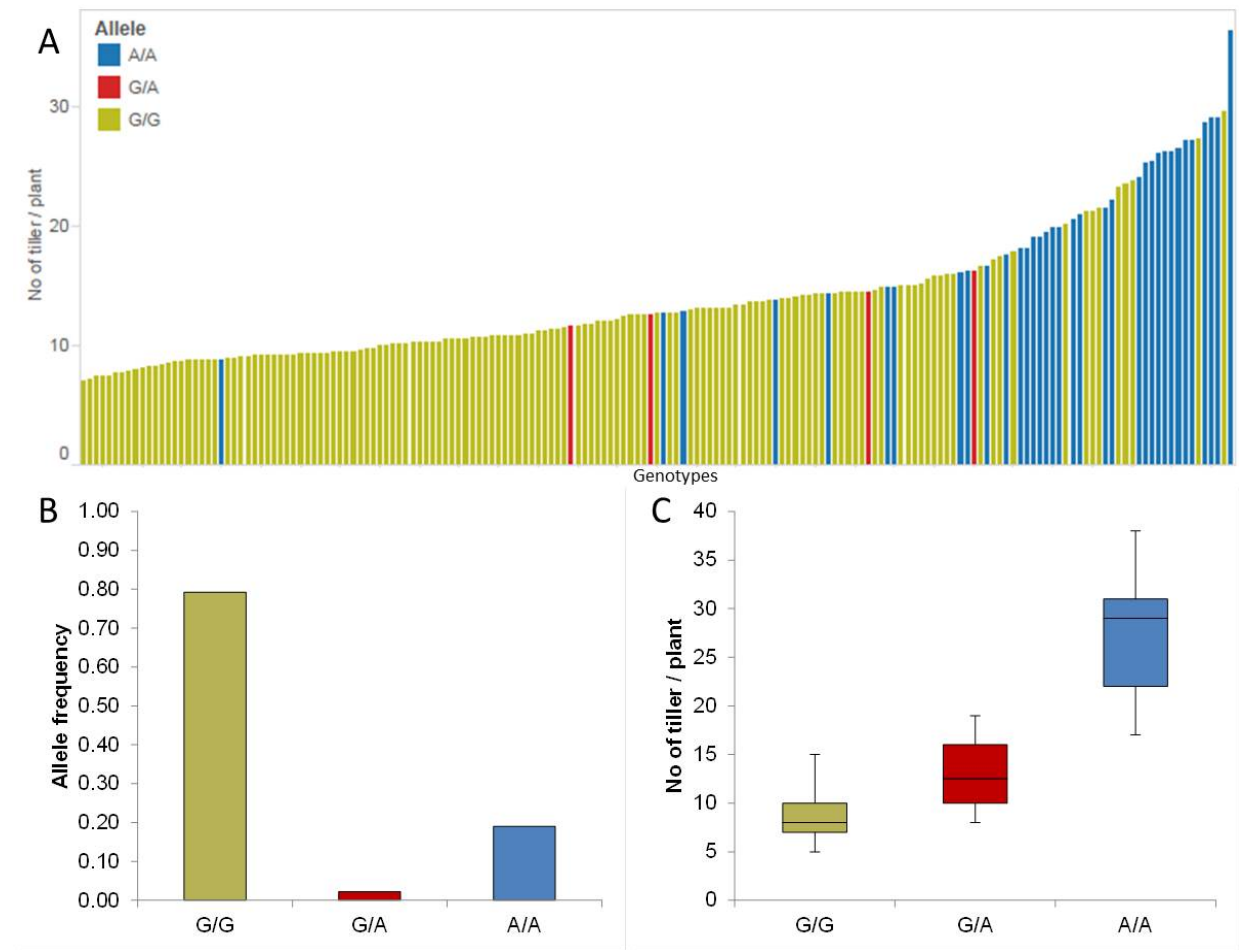


Abbildung 18: Quantifizierung des Allel-abhängigen Merkmalseffekts von QTil.1H. A) Pin-Plot Analyse basierend auf dem Alleleffekt von Til über die gesamte Population. Die Genotypen sind nach ihren phänotypischen Mittelwerten aus 2014 und 2015 sortiert. B) Allelfrequenz von QTil.1H. C) Whisker-Plot aus zehn zufällig ausgewählten Genotypen pro Allel um den Allel-abhängigen Effekt darzustellen. Gelb: Hauptallel; Rot: Heterozygotes / Heterogenes Allel; Blau: Minorallel.

Um den genetischen Hintergrund der verschiedenen Genotypen, die das homozygote G/G bzw. A/A Allel tragen, genauer zu untersuchen wurde ein lokaler und globaler Vergleich der genetischen Verwandtschaft der verschiedenen Genotypen durchgeführt. Der lokale Vergleich für das QTL QTil.1H wurde mit Markern aus dem Bereich von 117,49 cM bis 127,06 cM berechnet. Aus dieser Untersuchung ergab sich, dass SPOP 1 und SPOP 2 eine hohe genetische Diversität untereinander aufweisen. Dementgegen konnte eine moderate genetische Ähnlichkeit zwischen SPOP 1 /SPOP 3 und SPOP 2 / SPOP3 detektiert werden. Bei der Analyse der genetischen Ähnlichkeit zwischen den Genotypen innerhalb einer SPOP konnte gezeigt werden, dass die Genotypen in SPOP 3 einen hohen Verwandtschaftsgrad aufweisen. Im Gegensatz dazu zeigten Individuen in SPOP 1 bzw. in SPOP 2 eine zu vernachlässigende genetische Ähnlichkeit (**Abbildung 19A**). Die globale Analyse der genetischen Verwandtschaft der haplotypischen Gruppen deckte ähnliche Erkenntnisse auf. Es war nur eine geringe Verwandtschaft zwischen den SPOPs zu erkennen. Zwischen den Genotypen in SPOP 3 jedoch, konnte eine hohe Ähnlichkeit gezeigt werden. Wohin gegen Akzessionen innerhalb SPOP 1 und SPOP 2 eine hohe Diversität besitzen (**Abbildung 19A**).

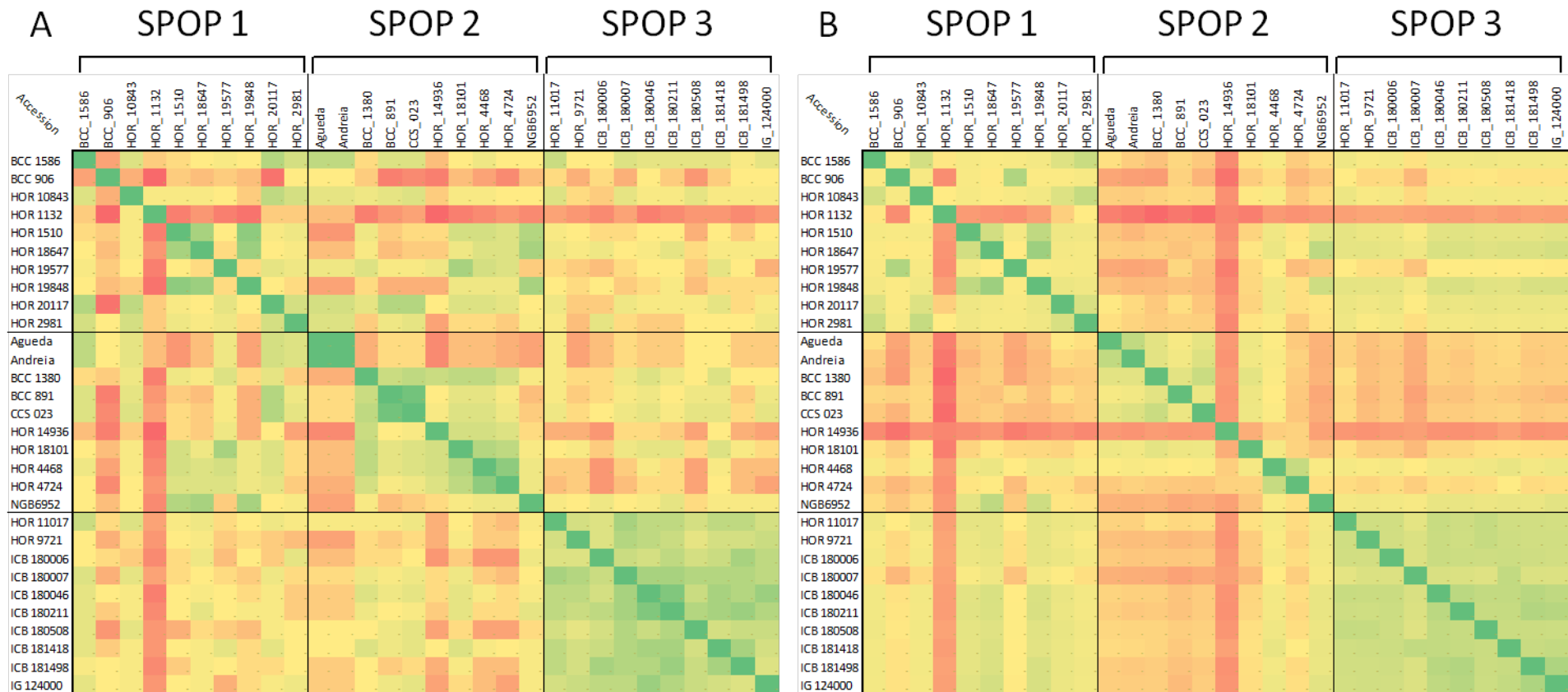


Abbildung 19: Genetischer Vergleich auf lokaler und globaler genomischer Ebene für QTil.1H. Jede Gruppe besteht aus 30 zufällig gewählten Genotypen aus der globalen Gerstenpopulation. A) Vergleich lokaler genomischer Gruppen. B) Vergleich globaler genomischer Gruppen. Dunkelgrün: Rogers Distanzkoeffizient von 1,00, Dunkelrot: Distanzkoeffizient von 0,00

Wurzel/Spross-Verhältnis

Für das Merkmal RS berechneten wir fünf putative QTL-Regionen auf den Chromosomen 2H, 3H, 4H, 5H und 7H (**Tabelle 6**). Ein Marker mit einem Hauteffekt wurde auf Chromosom 4H identifiziert. Auf Chromosom 2H war ein signifikanter Marker mit einem Marker/Behandlungseffekt lokalisiert. Auf den Chromosomen 3H, 5H und 7H wurde jeweils ein signifikanter Marker mit einem Haupteffekt sowie Marker/Behandlungseffekt detektiert. QTL QRS.5H auf Chromosom 5H zwischen 93,40 cM und 95,00 cM war der stärkste Marker für das Merkmal RS. Genotypen die das homozygote A/A tragen wiesen eine Steigerung der RP von 57,14% auf. Um die phänotypische Variation aufgrund des Allels, welches der jeweilige Genotyp trägt, genauer zu analysieren, erstellten wir einen Pin-Plot für das QTL QRS.5H (**Abbildung 20A**). In Genotypen mit dem homozygoten A/A Allel konnten die höchsten phänotypischen Werte beobachtet werden. Im Gegensatz dazu, zeigten Genotypen mit dem homozygoten G/G Allel die geringsten Werte für RS (**Abbildung 20A**). Die Analyse der Allelverteilung innerhalb der Population ergab, dass das Allel G das Hauptallel und das Allel A das Minorallel ist (**Abbildung 20B**). Genotypen die das homozygote Minorallel tragen wiesen ein durchschnittliches Wurzel/Spross-Verhältnis von 0,9 auf. Auf der anderen Seite konnte in Genotypen mit dem Hauptallel lediglich ein Durchschnittswert von 0,3 beobachtet werden (**Abbildung 20C**).

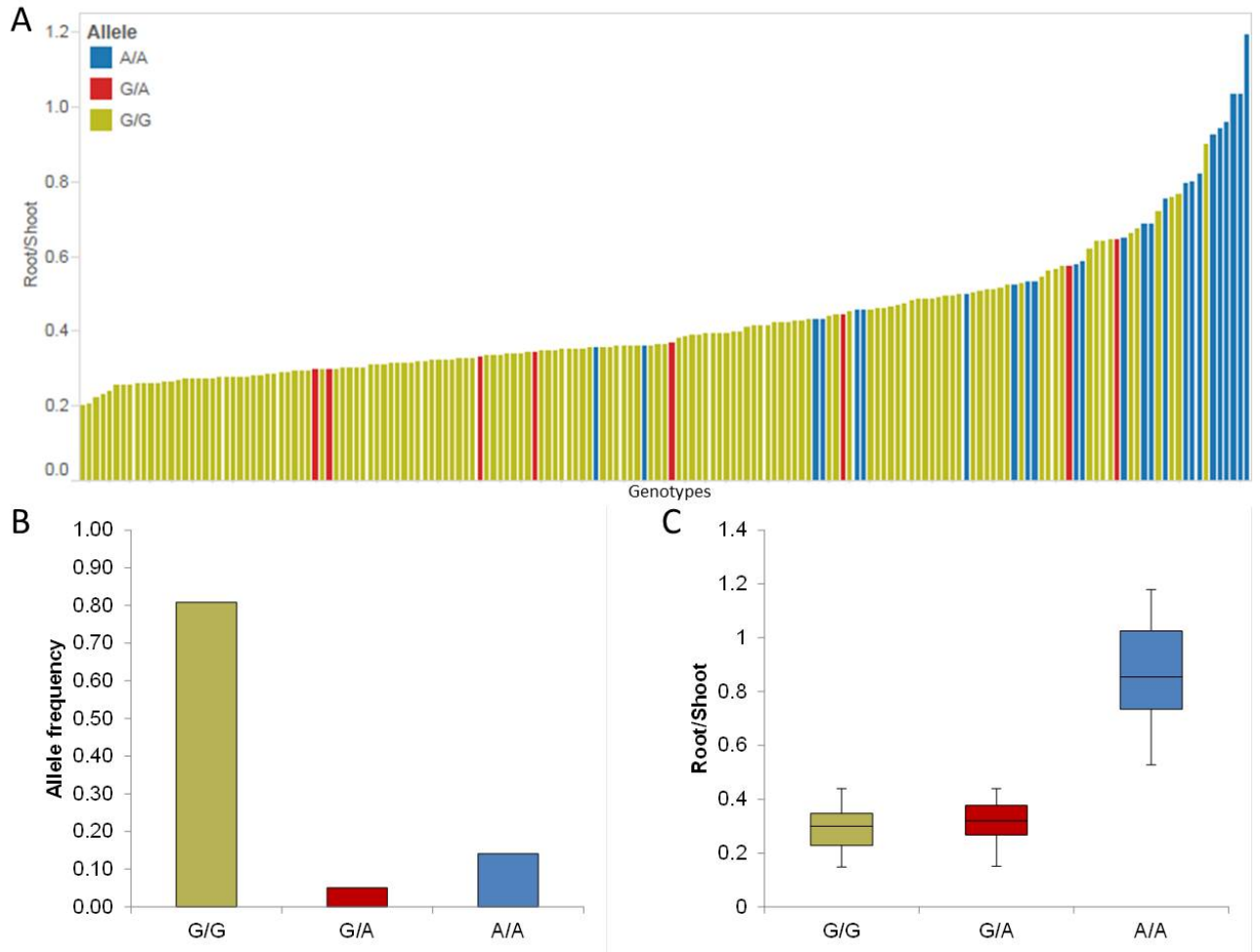


Abbildung 20: Quantifizierung des Allel-abhängigen Merkmalseffekts von QRS.5H. A) Pin-Plot Analyse basierend auf dem Alleleffekt von RS über die gesamte Population. Die Genotypen sind nach ihren phänotypischen Mittelwerten aus 2014 und 2015 sortiert. B) Allelfrequenz von QRS.5H. C) Whisker-Plot aus zehn zufällig ausgewählten Genotypen pro Allel um den Allel-abhängigen Effekt darzustellen. Gelb: Hauptallel; Rot: Heterozygotes / Heterogenes Allel; Blau: Minorallel.

Wir analysierten die genetische Ähnlichkeit in Genotypen die das homozygote Hauptallel G/G und in Genotypen, die das homozygote Minorallel A/A tragen, auf lokaler und globaler genomischer Ebene. Der lokale Vergleich wurde in der Region von 90,18 cM und 98,89 cM durchgeführt. Die Berechnung zeigte eine geringe genetische Verwandtschaft zwischen den Subpopulationen eins, zwei und drei. Jedoch konnte gezeigt werden, dass Genotypen innerhalb SPOP 3 einen hohen Verwandtschaftsgrad aufweisen, mit Ausnahme eines Genotyps (BCC776). Allerdings wurde beobachtet, dass die Genotypen innerhalb SPOP 1 und SPOP 2 nur eine geringe genetische Ähnlichkeit besitzen (**Abbildung 21A**). Der globale Vergleich von zufällig ausgewählten Genotypen zeigte ein vergleichbares Bild. Es wurde nur eine geringe Ähnlichkeit zwischen den drei verschiedenen SPOPs (SPOP 1, SPOP 2, SPOP 3) detektiert werden. Jedoch zeigten, wie für den lokalen Vergleich, Genotypen innerhalb SPOP 3 während des globalen Vergleichs eine geringe genetische Diversität. Die Genotypen in SPOP 1 und SPOP 2 wiesen untereinander nur eine schwache genetische Verwandtschaft auf (**Abbildung 21B**).

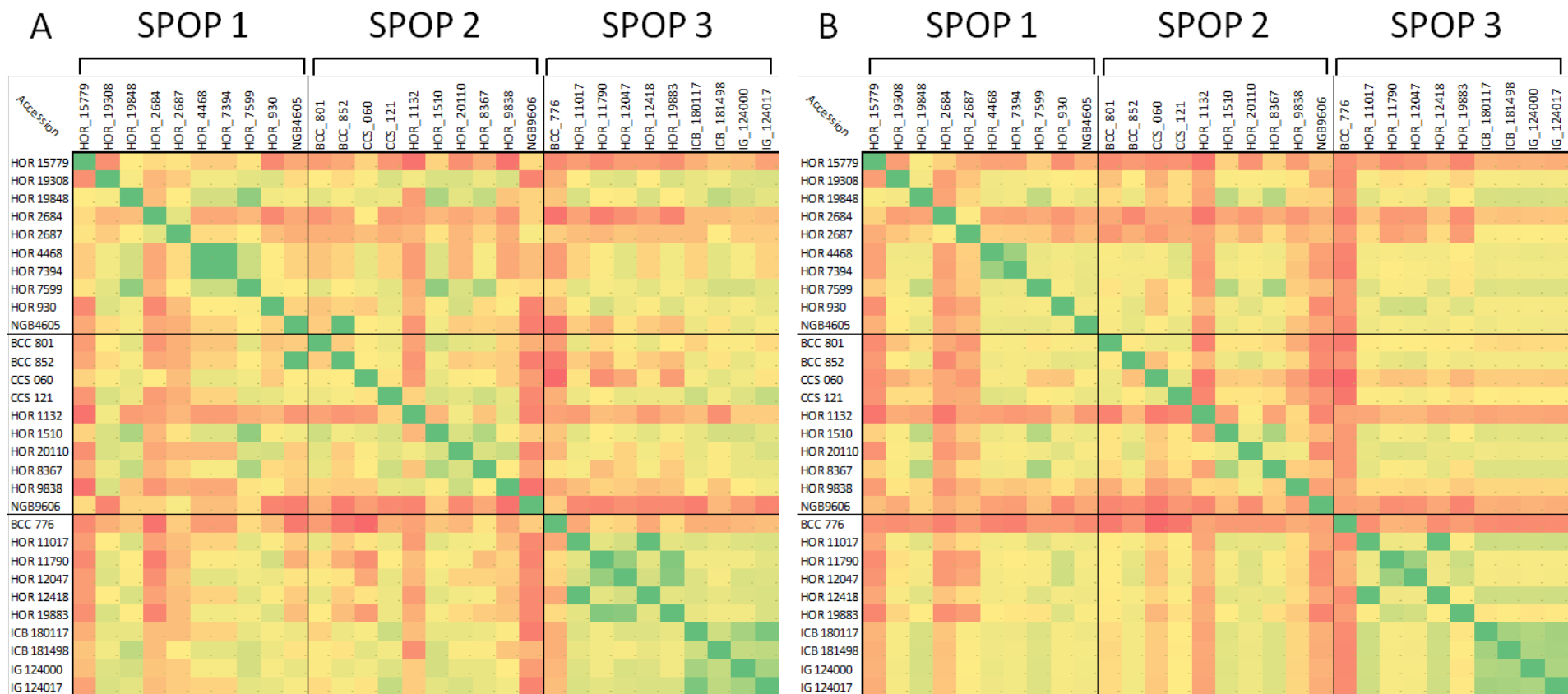


Abbildung 21: Genetischer Vergleich auf lokaler und globaler genomischer Ebene für QRS.5H. Jede Gruppe besteht aus 30 zufällig gewählten Genotypen aus der globalen Gerstenpopulation. A) Vergleich lokaler genomischer Gruppen. B) Vergleich globaler genomischer Gruppen. Dunkelgrün: Rogers Distanzkoeffizient von 1,00, Dunkelrot: Distanzkoeffizient von 0,00

3.4 Trockentoleranzrating

Aufgrund der agronomischen Wichtigkeit von trockenoleranten Linien für die Pflanzenzüchtung, wurden die Genotypen der globalen Gerstenpopulation in Bezug auf ihre Trockentoleranz bzw. Anfälligkeit auf Trockenheit bewertet und sortiert. Hierfür wurde die von Sprenger *et al.* (2015) entwickelte Trockentoleranzwertungsmethode angewandt. Die Methode „Abweichung des relativen Stärkegehalts vom experimentellen Median“ (DRYM) beinhaltet den Median was eine bessere Unterscheidung von toleranten und sensitiven Linien ermöglicht. Zusätzlich ist der Index auf den Wert 0 zentriert was bedeutet, dass alle Werte unterhalb 0 für Sensitivität und alle Werte über 0 für Toleranz stehen.

Um die Fähigkeit der Trockentoleranz sowie Trockensensitivität für die Genotypen der globalen Population bewerten zu können sind alle Genotypen mittels des DRYM für die Merkmale Rdw, RI und Sdw bewertet worden. Für die Graphik in **Abbildung 22** wurden lediglich die drei besten und drei schlechtesten Genotypen für das jeweilige Merkmal ausgewählt. Der trockenoleranteste Genotyp für Rdw war Akzession HOR19848, eine Landsorte aus Japan, mit dem Wert 0,5. Eine nur geringfügig verringerte Toleranz zeigte Genotyp HOR18401, eine Wildform aus Pakistan (0,45). Der Genotyp HOR18101 wies die geringste Toleranzwertung für die drei ausgewählten Genotypen auf (0,4). Im Gegensatz dazu, konnte für die Genotypen CCS141 (Linie 141 aus der NRW Core-Collection), HOR1479 (Landsorte aus China) und HOR2687 (Wildform aus dem Iran) Werte zwischen -0,25 und -0,35. Aus diesem Grund wurden diese Linien als trocken sensitiv bewertet. Für das Merkmal Sdw sind hohe DRYM-Werte für die Genotypen CCS041 (Linie 041 aus der NRW Core-Collection), NGB4668 (Landsorte aus Afghanistan) und HOR19848 (Landsorte aus Japan) berechnet worden. Der toleranteste Genotyp war CCS041 (0,2) gefolgt von NGB4668 (0,19) und HOR19848 (0,18). Die Genotypen CCS141, HOR1479 (Landsorte aus China) und HOR2687 (Wildform aus dem Iran) wurden basierend auf DRYM als sensitiv bewertet. Die Indexwerte lagen zwischen -0,2 (HOR1479) und -0,25 (CCS141). Im Allgemeinen lagen die DRYM-Werte für Sdw enger zusammen als für das Merkmal Rdw. Ähnlich wie Sdw, waren die Indexwerte für RI nah zusammen, so zeigten die Genotypen HOR9565, eine Landsorte aus Peru (0,19), ICB181162, eine Wildform aus Iran (0,18) und ICB180013, eine Wildform aus Jordanien (0,17) positive Indexwerte. Als sensitiv wurden die Genotypen CCS141 (moderne Kultursorte aus Deutschland), HOR1479 (Landsorte aus China) und HOR2687 (Wildform aus dem Iran) aufgrund ihrer negativen Werte bewertet. Hier zeigte CCS141 den negativsten Wert mit -0,8. Die anderen beiden Genotypen hatten Indexwerte von -0,4 (HOR1479) und -0,6 (HOR2687). Interessanterweise, zeigten für alle Merkmale die Genotypen CCS141, HOR1479 und HOR2687 die schlechteste Toleranzwertung. Auf der anderen Seite, wurde die Landsorte aus Japan, HOR19848, für die Merkmale Rdw und Sdw als Tolerant bewertet (**Abbildung 22**).

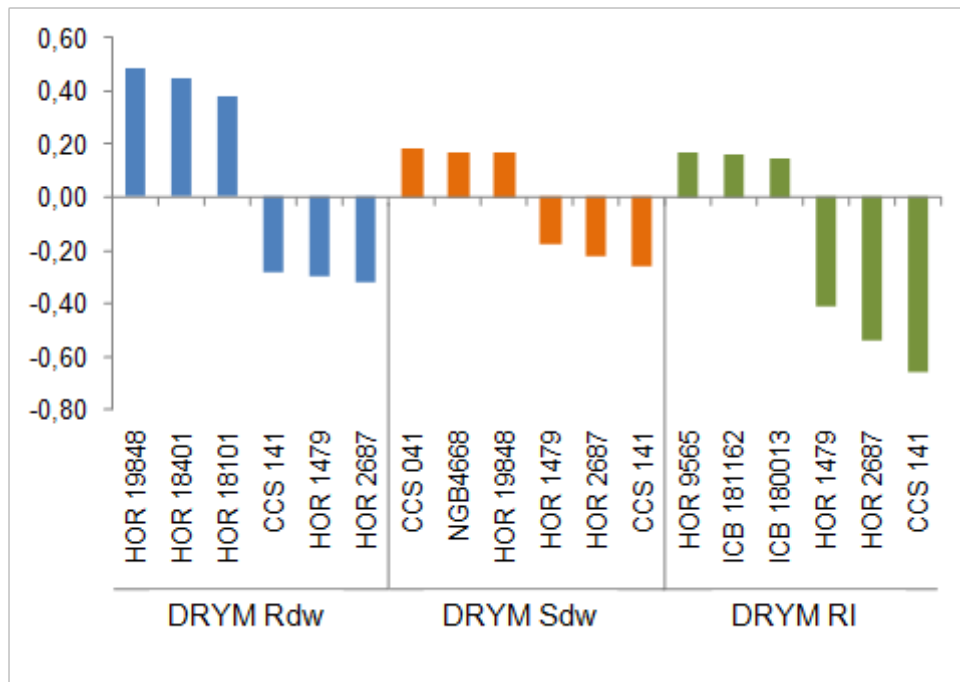


Abbildung 22: Bewertung der Trockentoleranz basierend auf Sprenger *et al.* (2015) „Abweichung des relativen Stärkegehalts vom experimentellen Median“ (DRYM). Die Bewertung wurde für die drei Merkmale Wurzeltrockengewicht (Rdw), Wurzellänge (RI) und Sprosstrockengewicht (Sdw) durchgeführt. Es wurden nur jeweils die drei tolerantesten sowie sensitivsten Genotypen ausgewählt.

3.5 Kandidatengenanalyse

Putative QTL-Effekte wurden auf genetischen und physikalischen Karten von Gerste detektiert um Kandidatengene für die jeweiligen QTL auswählen zu können. Für diese Untersuchung fokussierten wir uns auf einen „Hotspot“ in auf Chromosom 1H bei 122,17 cM. Dieser „Hotspot“ war mit assoziiert mit Spross- und Wurzelvariationen. In einer *In silico* Analyse mit dem assoziierten Marker BOPA1_7381_1292 konnte auf dem Gersten Genome Zipper ein WRKY-Transkriptionsfaktorgen (WRKY29), welches bekannt für seine Rolle in der Wurzel- und Sprossentwicklung ist (Bakshi and Oelmüller, 2014), identifiziert werden. Wir sequenzierten das komplette WRKY29-Gen in ausgewählten Genotypen die das Haupt- und Minorallel für die QTL QRdw.1H und QTil1H trag. Bei dem vergleich dieser Sequenzen mit einer Referenzsequenz wurden zwei wichtige SNP-Positionen detektiert. Der erste SNP liegt 451 bp und der zweite SNP 515 bp hinter dem Startkodon (ATG) (**Abbildung 23**). Der erste identifizierte Polymorphismus führt zu einer Aminosäuresubstitution von Valin 51 (V) zu Leucin 51 (L) innerhalb der konservierten Domäne des WRKY29-Proteins. Die zweite Mutation war ebenfalls eine Substitution von Prolin 72 (P) zu Leucin 72 (L) direkt neben der konservierten WRKY29-Domäne (**Abbildung 24**)

Sloop	cggtgcacgcaccggcacacgcagggctgcgccgccaccaagcaggtgcagcgcgcgacg
BCC906	cggtgcacgcaccggcacacgcagggctgcgccgccaccaagcaggtgcagcgcgcgacg
ICB180006	cggtgcacgcaccggcacacgcagggctgcgccgccaccaagcaggtgcagcgcgcgacg *****
	+451
Sloop	gccgaccgctgctcttcgacgtcgtgtactggggcgcgcacacctgcccggggccgcg
BCC906	gccgaccgctgctcttcgacgtcgtgtactggggcgcgcacacctgcccggggccgcg
ICB180006	gccgaccgctgctcttcgacgtcgtgtactggggcgcgcacacctgcccggggccgcg *****
	+515
Sloop	gtcctgggcggcacggagcagcagctgccgccgctgctgccttcggccaggagcagcag
BCC906	gtcctgggcggcacggagcagcagctgccgccgctgctgccttcggccaggagcagcag
ICB180006	gtcctgggcggcacggagcagcagctgccgccgctgctgccttcggccaggagcagcag *****
Sloop	agcccgccggccgcccgcgggaaggggttcagttgccggcagagcccgtgactccgttt
BCC906	agcccgccggccgcccgcgggaaggggttcagttgccggcagagcccgtgactccgttt
ICB180006	agcccgccggccgcccgcgggaaggggttcagttgccggcagagcccgtgactccgttt *****
Sloop	tccttcccctcctcgccggcgagctcctggtgccagcttaccgggagctacggctacgcg
BCC906	tccttcccctcctcgccggcgagctcctggtgccagcttaccgggagctacggctacgcg
ICB180006	tccttcccctcctcgccggcgagctcctggtgccagcttaccgggagctacggctacgcg *****
Sloop	gcgcctggtggaggcctcgggggtgacatggagctcgagggtcaactcgacgagctgttc
BCC906	gcgcctggtggaggcctcgggggtgacatggagctcgagggtcaactcgacgagctgttc
ICB180006	gcgcctggtggaggcctcgggggtgacatggagctcgagggtcaactcgacgagctgttc *****
Sloop	ttgcacatgtcagagtttttttag
BCC906	ttgcacatgtcagagtttttttag
ICB180006	ttgcacatgtcagagtttttttag *****

Abbildung 23: DNA-Vergleich des WRKY29 Transkriptionsfaktors in der modernen Kultursorte Morex (BCC906) und der Wildgerste ICB180006. Als Referenzsequenz diente die moderne Kultursorte Sloop (DQ863113). Der Vergleich wurde mit dem Program MAFFT alignment software (Nuin *et al.*, 2006) durchgeführt. Die roten Boxen zeigen die SNPs, “*” steht für identische Nukleotide in allen drei Sequenzen; “:” symbolisiert konservierte Substitutionen. “ “ symbolisiert nicht-konservierte Substitutionen.

```

1                                                                                               60
Sloop      MEDAAATLATELDGLLAMARELEARVDGDQGAPGAARELCSALAASVDRAVRLAGRGRNA
BCC906     MEDAAATLATELDGLLAMARELEARVDGDQGAPGAARELCSALAASVDRAVRLAGRGRNA
ICB180006  MEDAAATLATELDGLLAMARELEARVDGDQGAPGAARELCSALAASVDRAVRLAGRGRNA
*****

61                                                                                               120
Sloop      GARAGVNGQLRSGRKAAAARKVTRQVRVASMQDLGPLDDGMSWRKYGQKGI LGATYPRSYF
BCC906     GARAGVNGQLRSGRKAAAARKVTRQVRVASMQDLGPLDDGMSWRKYGQKGI LGATYPRSYF
ICB180006  GARAGVNGQLRSGRKAAAARKVTRQVRVASMQDLGPLDDGMSWRKYGQKGI LGATYPRSYF
*****
          +++++
121                                                                                             180
Sloop      RCTHRHTQGCAATKQVQRATADPLLFDVVYVGAHTCAGAAVLGGTEQQLPPAAAFGQEQQ
BCC906     RCTHRHTQGCAATKQVQRATADPLLFDVVYVGAHTCAGAAVLGGTEQQLPPAAAFGQEQQ
ICB180006  RCTHRHTQGCAATKQVQRATADPLLFDVVYVGAHTCAGAAVLGGTEQQLPPAAAFGQEQQ
*****:*****

181                                                                                             240
Sloop      SPPAAAPEGVQLPAEPVTPFSFPSSPASSWCQLTGSYGYAAPGGGLGVDMELEGQLDEL
BCC906     SPPAAAPEGVQLPAEPVTPFSFPSSPASSWCQLTGSYGYAAPGGGLGVDMELEGQLDEL
ICB180006  SPPAAAPEGVQLPAEPVTPFSFPSSPASSWCQLTGSYGYAAPGGGLGVDMELEGQLDEL
*****

241
Sloop      LHMSEFF
BCC906     LHMSEFF
ICB180006  LHMSEFF
*****

```

Abbildung 24: Vergleich der Proteinsequenzen in der modernen Kultursorte Morex (BCC906) und der Wildgerste ICB180006. Als Referenzsequenz diente die moderne Kultursorte Sloop (DQ863113). Der Vergleich wurde mit dem Programm MAFFT alignment Software (Nuin *et al.*, 2006) durchgeführt. Die DNA-Bindedomäne innerhalb der WRKY-Domäne ist durch die graue Markierung gezeigt. Aminosäureaustausche sind durch eine dunkelgraue Markierung markiert. “+” zeigt das WRKY-Signaturmotiv. Die durchgezogene Linie über den Sequenzen symbolisiert ein antiparalleles Betafaltblatt. “*” steht für identische Aminosäuren in allen drei Sequenzen; “:” symbolisiert konservierte Substitutionen. “ ” symbolisiert nicht-konservierte Substitutionen.

Eine zweite Kandidatengenregion, die wir untersuchten trägt den QTL-Effekt des QTL QRdw.5H, welches die höchste genetische Variation für Rdw zu Folge hatte. Dieser Effekt schien trockenstressinduziert zu sein. Innerhalb einer 5 cM großen Region auf Chromosom 5H identifizierten wir die regulatorischen Gene CBF10B und CBF10A, welche lediglich 5089 bp vom assoziierten Marker (BOPA2_12_30850) entfernt liegen. Die Sequenzanalyse von ausgewählten Genotypen die das Haupt- bzw. Minorallel in CBF10B tragen, enthüllte eine Makrodeletion von 111 bp (**Abbildung 25**). Diese Mutation führt zu einer 37 Aminosäuren großen Deletion der konservierten CBF10B-Domäne in ICB180006 (**Abbildung 27A**). Bei der Sequenzanalyse für CBF10A, in den gleichen Genotypen wie CBF10B, wurden sieben SNPs an folgenden Positionen beobachtet: +53, +168, +177, +219, +252, +294 und +304 nach dem ATG (**Abbildung 26**). Diese Mutationen führen zu Aminosäuresubstitutionen, wo die Substitution an Position +304 von Thymin (T) zu Cytosin (C) einen Aminosäureaustausch von Serin (S) zu Prolin (P) in der konservierten CBF10A-Domäne zur Folge hat (**Abbildung 27B**).

Optic	atggacatgggcgaggtctcgagctctccccctcctcttccaacgagaacgcgtcgga
HOR4206	atggacatgggcgaggtctcgagctctccccctcctcttccaacgagaacgcgtcgga
ICB180006	atggacatgggcgaggtctcgagctctccccctcctcttccaacgagaacgcgtcgga *****
	+97
Optic	cggtcgtcgacggccaagcgcccggcgggcgcaactaagttccgcgagacaaggcaccgc
HOR4206	cggtcgtcgacggccaagcgcccggcgggcgcaactaagttccgcgagacaaggcaccgc
ICB180006	cggtcgtcgacggccaagcgcccggcgggcgcaactaagttccgcgagacaaggcaccgc *****
Optic	gtgtaccgcggtgcggcgcggggcaacgcgaacggtgggtatgagaggtgctgctc
HOR4206	gtgtaccgcggtgcggcgcggggcaacgcgaacggtgggtatgagaggtgctgctc
ICB180006	gtgtaccgcggtgcggcgcggggcaacgcgaacggtgg----- *****
Optic	cccgcaagcgcggtcgctcggctctggctcgggacttacgccaagccgagatcgagcg
HOR4206	cccgcaagcgcggtcgctcggctctggctcgggacttacgccaagccgagatcgagcg
ICB180006	-----
Optic	cgcgcaacgatgcccgaatgctcgccctgggcgtccgctccgcccgcggctcaacttc
HOR4206	cgcgcaacgatgcccgaatgctcgccctgggcgtccgctccgcccgcggctcaacttc
ICB180006	-----gtccgctccgcccgcggctcaacttc *****
Optic	ccggactccgctggctgctcgcctgcccgtccgcgcaactccgatctcgccgacgtccgg
HOR4206	ccggactccgctggctgctcgcctgcccgtccgcgcaactccgatctcgccgacgtccgg
ICB180006	ccggactccgctggctgctcgcctgcccgtccgcgcaactccgatctcgccgacgtccgg *****

Abbildung 25: DNA-Vergleich des CBF10B Transkriptionsfaktors in der modernen Kultursorte Cape (HOR 4206) und der Wildgerste ICB180006. Als Referenzsequenz diente die moderne Kultursorte Optic. Der Vergleich wurde mit dem Programm MAFFT alignment Software (Niu *et al.*, 2006) durchgeführt. Die roten Boxen zeigen die SNPs, “*” steht für identische Nukleotide in allen drei

Sequenzen; “.” symbolisiert konservierte Substitutionen. “ “ symbolisiert nicht-konservierte .Substitutionen.

			+53
Nure	atggacatgggccttgaggtctcgagctctccccctcctcttccaacgagaa	cgcgtcg	
HOR4206	atggacatgggccttgaggtctcgagctctccccctcctcttccaacgagaa	cgcgtcg	
ICB180006	atggacatgggccttgaggtctcgagctctccccctcctcttccaacgagaa	cgcgtcg	
	*****	*****	
Nure	ggacggtcgtcgacggccaagcgcccgggggcgaccaagtccgagacaaggcac		
HOR4206	ggacggtcgtcgacggccaagcgcccgggggcgaccaagtccgagacaaggcac		
ICB180006	ggacggtcgtcgacggccaagcgcccgggggcgaccaagtccgagacaaggcac		
	*****	*****	
			+168 +177
Nure	ccggtgtaccgcggtgctggcgccgggcaacgccgaacggtgggtatgagaggtgcgc		
HOR4206	ccggtgtaccgcggtgctggcgccgggcaacgccgaacggtgggtatgagaggtgcgc		
ICB180006	ccggtgtaccgcggtgctggcgccgggcaacgccgaacggtgggtatgagaggtgcgc		
	*****	*****	***
			+219
Nure	gtccccggcaagcgggcgctcggtctggctcgggacttacgccacggccgagatcgca		
HOR4206	gtccccggcaagcgggcgctcggtctggctcgggacttacgccacggccgagatcgca		
ICB180006	gtccccggcaagcgggcgctcggtctggctcgggacttacgccacggccgagatcgca		
	*****	*****	
			+252 +294
Nure	gcgcgcgcaacgatgccgcaatgctcgccctgggcgccgctccgcccgcgctcaac		
HOR4206	gcgcgcgcaacgatgccgcaatgctcgccctgggcgccgctccgcccgcgctcaac		
ICB180006	gcgcgcgcaacgatgccgcaatgctcgccctgggcgccgctccgcccgcgctcaac		
	*****	*****	*****
			+305
Nure	ttctcggactccgctggctgctcgccgtgccgtccgcgcaactccgatctcgccgacgtc		
HOR4206	ttctcggactccgctggctgctcgccgtgccgtccgcgcaactccgatctcgccgacgtc		
ICB180006	ttctcggactccgctggctgctcgccgtgccgtccgcgcaactccgatctcgccgacgtc		
	***	*****	

Abbildung 26: DNA-Vergleich des CBF10A Transkriptionsfaktors in der modernen Kultursorte Cape (HOR 4206) und der Wildgerste ICB180006. Als Referenzsequenz diente die moderne Kultursorte Nure. Der Vergleich wurde mit dem Programm MAFFT alignment Software (Nuin *et al.*, 2006) durchgeführt. Die roten Boxen zeigen die SNPs, “*” steht für identische Nukleotide in allen drei Sequenzen; “.” symbolisiert konservierte Substitutionen. “ “ symbolisiert nicht-konservierte .Substitutionen.

A

```

1                               60
Optic  MDMGEVSSSPSSSNENASGRSSTAKRPAGRTKFRERHPVYRGVRRRGNAERWVCEVRV
HOR4206 MDMGEVSSSPSSSNENASGRSSTAKRPAGRTKFRERHPVYRGVRRRGNAERWVCEVRV
ICB180006 MDMGEVSSSPSSSNENASGRSSTAKRPAGRTKFRERHPVYRGVRRRGNAERW-----
*****

61                               120
Optic  PGKRGARLWLGTYATAEIAARANDAAMLALGVRSAARLNFPDSAWLLAVPSAHSDLADVR
HOR4206 PGKRGARLWLGTYATAEIAARANDAAMLALGVRSAARLNFPDSAWLLAVPSAHSDLADVR
ICB180006 -----VRSARLNFPDSAWLLAVPSAHSDLADVR
*****

121                               180
Optic  RAAVEAVADLQRREAAGGSITATVGEEASRGAPAESSSESEDAGSSETSKPSAGGDLAVP
HOR4206 RAAVEAVADLQRR-----EASRGAPAESSSESEDAGSSETSKPSAGGDLAVP
ICB180006 RAAVEAVADLQRREAAGGSITATVGEEASRGAPAESSSESEDAGSSETSKPSAGGDLAVP
*****

181                               240
Optic  VGMDVEMFRLDFFPEMEFGSYYASLAEALLMDPPPVANSTGAYWDNGEFGEVATEFALWS
HOR4206 VGMDVEMFRLDFFPEMEFGSYYASLAEALLMDPPPVANSTGAYWDNGEFGEVATEFALWS
ICB180006 VGMDVEMFRLDFFPEMEFGSYYASLAEALLMDPPPVANSTGAYWDNGEFGEVATEFALWS
*****

```

B

```

1                               60
Nure   MDMGLEVSSSPSSSNENASGRSSTAKRPAGRTKFRERHPVYRGVRRRGNAERWVCEVR
HOR4206 MDMGLEVSSSPSSSNENASGRSSTAKRPAGRTKFRERHPVYRGVRRRGNAERWVCEVR
ICB180006 MDMGLEVSSSPSSSNENASGRSSTAKRPAGRTKFRERHPVYRGVRRRGNAERWVCEVR
*****

61                               120
Nure   VPGKRGARLWLGTYATAEIAARANDAAMLALGGRSAARLNFPDSAWLLAVPSAHSDLADV
HOR4206 VPGKRGARLWLGTYATAEIAARANDAAMLALGGRSAARLNFPDSAWLLAVPSAHSDLADV
ICB180006 VPGKRGARLWLGTYATAEIAARANDAAMLALGGRSAARLNFPDSAWLLAVPSAHSDLADV
*****

121                               180
Nure   RRAAVEAVADLQRREAAGGSISATVDEEASCGAPAESSSESDGAGSSETSKPSADGDLAV
HOR4206 RRAAVEAVADLQRREAAGGSISATVDEEASCGAPAESSSESDGAGSSETSKPSADGDLAV
ICB180006 RRAAVEAVADLQRREAAGGSISATVDEEASCGAPAESSSESDGAGSSETSKPSADGDLAV
*****

181                               240
Nure   PVGMDIEMFRLDFFPEMEFGSYYASLAEALLMDPPPVANSTGAYWDNGEFGEVATEFALW
HOR4206 PVGMDIEMFRLDFFPEMEFGSYYASLAEALLMDPPPVANSTGAYWDNGEFGEVATEFALW
ICB180006 PVGMDIEMFRLDFFPEMEFGSYYASLAEALLMDPPPVANSTGAYWDNGEFGEVATEFALW
*****

241
Nure   S
HOR4206 S
ICB180006 S
*
```

Abbildung 27: Vergleich der Proteinsequenzen von CBF10B und CBF10A in verschiedenen Gerstenakzessionen. Der Vergleich wurde mit dem Programm MAFFT alignment Software (Nuin *et al.*, 2006) durchgeführt. Die DNA (CRT/DER)-Binde AP2/ERF-Domäne ist durch eine hellgraue Markierung markiert. Aminosäureaustausche sind durch eine dunkelgraue Markierung markiert. "+" zeigt das CBF-Signaturmotiv DSAW (Jaglo *et al.*, 2001). Die durchgezogene Linie über den Sequenzen symbolisiert ein antiparalleles Betafaltblatt (Allen *et al.*, 1998). "*" steht für identische Aminosäuren in allen drei Sequenzen; "." symbolisiert konservierte Substitutionen. ":" symbolisiert semikonservierte Substitutionen. " " symbolisiert nicht-konservierte Substitutionen. A) CBF10B-Vergleich von Referenzsequenz Optic (AAX28956), Cape (HOR 4206) und ICB180006. B) CBF10A-Vergleich von Referenzsequenz Nure (DQ445241), Cape (HOR4206) und ICB180006.

4 Diskussion

Die genetische Diversität von Gerstenpopulationen ist bekannt für ihre morphologische Vielfalt sowie geographische und umweltbedingte Anpassung. Diese Eigenschaften erlauben das Wachstum von Gerstengenotypen von borealen zu äquatorialen Regionen weltweit. Insgesamt kann man sagen, dass diese Merkmalsdiversität ein Produkt der Pflanzenevolution und zusätzlichen Kräften, wie der natürlichen Selektion, ist. Das erste Ziel in dieser Arbeit war die Entwicklung von neuen genetischen Ressourcen basierend auf morphologischen Neuheiten, geographischen Unterschieden und umweltbedingter Adaptation. Mithilfe der so erstellten Population führten wir eine genomweite Assoziationskartierung durch, womit wir, unter der Zuhilfenahme einer detaillierten genetischen Karte, die genetische Grundlage von Wurzel- und Sprossmerkmalen und deren Rolle in der Trockenstresstoleranz analysierten. Es ist bekannt, dass die Wurzelarchitektur eine primäre Rolle in der Adaptation von Pflanzen zu Trockenheit besitzt (Chloupek *et al.*, 2010; Wasson *et al.*, 2012; Barati *et al.*, 2015). Zusätzlich wurden bereits viele GWAS Analysen an Gerste durchgeführt um die Diversität zu untersuchen (Nandha *et al.* (2014) und Russell *et al.* (2014)). Bisher blieb die genaue genetische Zerlegung von Wurzelmerkmalen inkomplett, aufgrund der schwierigen phänotypischen Untersuchung von Wurzelmerkmalen.

4.1 Charakterisierung der globalen Gerstenpopulation

Populationsstrukturanalyse

Die Populationsstruktur wurde mithilfe des Programmes STRUCTURE berechnet, um die Variabilität der Assoziationspopulation zu bestimmen (Pritchard *et al.*, 2000; Falush *et al.*, 2003, 2007; Hubisz *et al.*, 2009). Aufgrund der Zusammensetzung der Population aus Wildformen, Landsorten und modernen Kultursorten war ein hoher Grad an Substrukturen zu erwarten. Mittels des ΔK -Wertes berechnet durch einen Markov-Clustering Algorithmus konnten drei Subpopulationen in der globalen Population detektiert werden. Diese drei Clustern sprechen für ein hohes Maß an Variabilität zwischen den Genotypen in dieser Population. Allerdings musste gerade wegen dieser Variabilität und der Clusterbildung eine Korrektur für die GWAS durchgeführt werden. Um Effekte durch auftretende Strukturen zu verringern wurden die Kinship-Matrix und die PCA bei der Assoziationskartierung berücksichtigt. Interessanterweise, wiesen zwei der drei Subpopulation eine subspezies-spezifische Verteilung auf. So besteht SPOP 1 hauptsächlich aus Wildformen und SPOP 3 aus modernen Kultursorten. Aufgrund der weltweiten Auswahl der Genotypen für die vorliegende Arbeit war eine hohe Variabilität erwünscht und erwartet. Neben den subspezies-spezifischen Verteilungen konnte eine geographische Verteilung in der Population entdeckt werden. Diese geographische Verteilung ist in einem gewissen Maße auf die Adaptation verschiedener Genotypen an deren natürlichen Lebensraum zu erklären. Besonders die

geographische Verteilung der Wildformen in SPOP 1 bestätigt dies. In 2015, beschrieb Allaby (2015) einen hohen Grad an Adaptation und Variabilität in Gerstenwildformen aufgrund verschiedener Zentren der Domestikation im Nahen Osten und Asien. Diese Ergebnisse werden zudem von den Ergebnissen von Morrell und Clegg (2007) und Dai *et al.*, (2012) gestützt.

Linkage Disequilibrium

2006 postulierten Caldwell *et al.* (2006) dass ein genaues Wissen über das Linkage Disequilibrium (LD) essentiell für eine effektive und korrekte genomweite Assoziationskartierung sei. Die Geschichte der Population (Anzahl der Generationen); das Zuchtssystem sowie die Spezies beeinflussen die Abnahme des LD. Die LD-Analyse der globalen Gerstenpopulation zeigte eine schnelle Reduktion des LD innerhalb der ersten 1 cM. Diese schnelle Abnahme kann durch die Zusammensetzung der Population erklärt werden. Die Kombination von Wildformen, Landsorten und modernen Kultursorten führt, aufgrund der sehr langen Populationsgeschichte der Wildformen mit sehr vielen Generationen sowie langen Populationsgeschichte der Landsorten, zu einer rapiden Verringerung des LD. Im Vergleich dazu, sinkt das LD für die subspezies-spezifischen Gruppen noch schneller (Wildformen), vergleichsweise (Landsorten) und langsamer (moderne Kultursorten). So zeigten Zhou *et al.* (2012) in einer Elite Gerstenpopulation aus den Vereinigten Staaten, dass sich die Abnahme des LD in modernen Kultursorten in dieser Population ähnlich verhält wie für moderne Kultursorten in der globalen Gerstenpopulation. Ebenso entspricht die schnelle Verringerung des LD für Wildformen und Landsorten den theoretischen Annahmen für selbstbefruchtende Pflanzen. Weiterhin konnten Morrell *et al.* (2005) zeigen, dass die LD-Abnahme in wilder Gerste ähnlich wie in "outcrossing" Spezies wie Mais ist. Zusammenfassend ist zu sagen, dass das geringe allgemeine LD sowie die schnelle Abnahme ein Zeichen für eine hohe Variabilität der Population ist.

4.2 Merkmalsvariationen

Wurzelmerkmale waren und sind immer noch äußerst wichtig für die Verbesserung der Trockentoleranz von modernen Kultursorten (Comas *et al.*, 2013). Aus diesem Grund sind in dieser Arbeit Wurzel- und Sprossmerkmale an 179 verschiedenen Genotypen in einer Assoziationskartierung untersucht worden.

Die phänotypische Evaluierung zeigte signifikante Unterschiede für die Merkmale Rdw, Sdw, Til und RS unter kontrollierten und trockengestressten Bedingungen. Besonders Gerstenwildformen zeigten ein im Durchschnitt besseres Verhalten unter Trockenstress, bezogen auf die Wurzelvariationen, als moderne Kultursorten. 2014 untersuchten Nandha *et al.* 27 Wildformen aus dem Nahen Osten und 20 moderne Kultursorten und zeigten, dass die Präsenz von besonderen Allelen die Wurzelvariation fördert. Ebenso zeigten Tyagi *et al.*

(2011), dass eine signifikante Umwelthanpassung in Wildformen aus dem "Fruchtbaren Halbmond" auftritt. Weiterhin zeigen unsere Daten eine hohe Heritabilität über die Prüffahre 2014 und 2015 für verschiedene Wurzel- und Sprossmerkmale. Die Heritabilität ist eines der wichtigsten Kriterien für die Auswahl von Pflanzen in der Pflanzenzucht. So sind Merkmale, die eine hohe Heritabilität über verschiedene Jahre und in verschiedenen Umwelten aufweisen ein guter Hinweis für die Zuchtauswahl.

4.3 QTL-Detektion und Quantifizierung

In der vorliegenden Arbeit sind 17 signifikante QTL für Wurzel- und Sprossmerkmalen mittels einer genomweiten Assoziationskartierung detektiert worden. Die Anzahl der QTL ist vergleichsweise niedrig was auf die besonders strengen statistischen Kriterien zurückzuführen ist. Wir wählten diese so streng aus, um die Gefahr der Detektion von falsch positiven QTL so gering wie möglich zu halten. Insgesamt wurden neun QTL mit einem Hauptmarkereffekt, drei mit einem Marker/Behandlungseffekt und fünf mit beiden Effekten identifiziert. Unter den identifizierten QTL zeigten 14 Loci (78%) den Effekt des exotischen Allels aus Wildgersten, welche mit einem gesteigerten Merkmal einherging. Zusätzlich zeigten sieben Loci (39%) der exotischen Allele eine signifikante Interaktion unter Trockenstress. Diese Daten beweisen, dass dieser Population ein großes genetisches Potential innewohnt, welches die Verbesserung von Wurzel- und Sprossmerkmalen unter Trockenstress ermöglicht. Da die Quantifizierung von QTL in Assoziationsstudien wegen des heterogenen Hintergrunds nicht einfach ist haben wir mittels Pin-Plot Analyse und Untersuchung der genetischen Verwandtschaft die phänotypische Verteilung für verschiedene QTL und Merkmale versucht. Die Analysen enthüllten, dass Wildformen hauptsächlich die für die Merkmalssteigerung nötigen Allele tragen und diese Wildformen eine hohe genetische Ähnlichkeit aufweisen. Ähnliche Ergebnisse konnten Zhao *et al.*, (2011) zeigen. Sie untersuchten die genetische Verwandtschaft in verschiedenen Reis Genotypen und entdeckten, dass eine genetische Ähnlichkeit zwischen Genotypen besteht, die eine phänotypische und geographische Ähnlichkeit besitzen.

Wurzeltrockengewicht

Das Wurzeltrockengewicht ist ein wichtiges Merkmal was Hinweise auf die Anpassung an Umweltbedingungen wie Trockenheit gibt. Außerdem ermöglicht ein großes Wurzelsystem eine verbesserte Nährstoffaufnahme. Die Wurzelbiomasse wird hauptsächlich durch die Anzahl der Bestockungstriebe beeinflusst. Dies führt besonders unter Wildformen zu Genotypen mit großen Wurzelsystemen. Aus diesem Grund wurden in dieser Population neben modernen Kultursorten und Landsorten auch Wildformen verwendet. Die GWAS

detektierte eine Gesamtmenge von vier QTL für Rdw über das gesamte Gerstengenom. Ähnlich wie Naz *et al.* (2014) und Arifuzzaman *et al.* (2014) identifizierten wir auf verschiedenen Chromosomen relevante QTL. Besonders das QTL auf Chromosome 5H scheint von großem Interesse zu sein. Die Position von QRdw.5H wurde bereits 2007 von Cockram *et al.* beschrieben, allerdings wurde von ihnen das Gene *VRN-H1* als Kandidatengen genannt. Wir konnten jedoch durch die Kandidatengenanalyse mittels Genome Zipper zwei neue Gene als mögliche Kandidatengene nennen (CBF10B und CBF10A).

Wurzellänge

Ähnlich wie die Rdw ist die RI ein Merkmal mit besonderer Wichtigkeit für die Adaptation gegenüber Trockenheit. Ein tiefwurzelndes Wurzelsystem führt zu der Möglichkeit, Wasser aus tiefen Erdschichten zu beziehen (Wasson *et al.*, 2012). Im Jahr 2013 konnten Uga *et al.* zeigen, dass die Trockentoleranz von Reis durch ein tiefwurzelndes Wurzelsystem erhöht wird. In unserer Arbeit detektierten wir zwei QTL auf Chromosomen 5H und 7H für das Merkmal RI. Ähnlich wie Chen *et al.* (2010), Sayed (2011) und Naz *et al.* (2014) identifizierten wir ein QTL auf 5H, allerdings nur für den Haupteffekt und nicht für die Interaktion mit Trockenstress. Weiterhin zeigten unsere QTL nur geringe Unterschiede zwischen Kontrolle und Trockenstress was auf die Schwierigkeit der Evaluierung der Wurzellänge im Allgemeinen sowie in Pflanztöpfen zu erklären ist. So beschrieben Poorter *et al.*, (2012) das gerade Töpfe die Wurzelentwicklung beeinflussen können. Daher sollte für die bessere Untersuchung der Wurzellänge ein Feldexperiment durchgeführt werden.

Sprosstrockengewicht

Zusätzlich zu Wurzelmerkmalen sind Sprossmerkmale wie das Sprosstrockengewicht untersucht worden, die eine Relevanz in der Adaptation zu Trockenheit haben. Aufgrund des steigenden Wurzelwachstums und der damit einhergehenden Reduktion des Sprosswachstums war eine negative Korrelation zwischen Wurzel- und Sprossmerkmalen unter Trockenstress zu erwarten. In unserer Analyse identifizierten wir zwei signifikante QTL-Regionen für Sdw. Eines der QTL liegt auf Chromosom 2H und eins auf Chromosom 4H. 2015, konnten Wehner *et al.* ebenfalls QTL auf den Chromosomen 2H und 4H für Sprossmerkmale in einem Topfexperiment finden. Interessanterweise wurde der Marker SCRI_RS_918 auf Chromosom 2H als signifikanter Marker mit einer Marker Behandlungsinteraktion sowohl für Sdw wie auch Rdw detektiert. Zusätzlich weist der Marker für die unterschiedlichen Merkmale das entgegengesetzte Allel als Haupt- bzw. Minorallel auf. Dieser Umstand unterstreicht nochmals die negative Korrelation von Wurzel- und Sprossmerkmalen.

Anzahl der Bestockungstriebe

Die Anzahl der Bestockungstriebe (Til) ist im Gegensatz zum Sdw positive mit dem Rdw Korreliert. Diese positive Korrelation lässt sich mit dem Zusammenhang von der Til mit Rdw erklären. Eine große Anzahl von Til hat ein großes Wurzelsystem zu Folge und somit eine großes Rdw (Hockett, 1986). Die GWAS enthüllte drei signifikante QTL für Til auf dem Chromosomen 1H, 2H und 7H. Die QTL auf 1H und 2H zeigen identische Positionen zu denen identifiziert von Naz *et al.* (2014), jedoch scheint das QTL auf Chromosom 7H neu für das Merkmal Til zu sein. Wie für Sdw und Rdw, weisen Til und Rdw einen gemeinsamen Marker auf. Der Marker BOPA1_7381-1292 wurde als signifikanter Marker für QTil.1H und QRdw.1H berechnet. Dieser Umstand spiegelt die bekannte Beziehung und Interaktion von Til und Rdw wieder, welche bereits von Hockett (1986) und Carvalho *et al.* (2014) bewiesen wurde.

Wurzel/Spross-Verhältnis

Das Wurzel/Spross-Verhältnis (RS) ist ein Index, welcher durch die Division des Wurzeltrockengewichts durch das Sprosstrockengewicht bestimmt wird. Dieser Index steigt mit zunehmender Trockenheit aufgrund eines steigenden Wurzeltrockengewichts bzw. sinkenden Sprosstrockengewichts. Dieser gegensätzliche Effekt ist ein Resultat der Pflanzenhormone Abszessinsäure (ABA) und Cytokinin (CK), welche wichtige hormonelle Faktoren in der Trockentoleranz sind (O'Brien and Benková, 2013). Aus diesem Grund scheint das Merkmal RS eine Schlüsselrolle für die Untersuchung der Aufnahme von Ressourcen aus dem Boden zu sein (Comas *et al.*, 2013). Im Rahmen unserer Assoziationskartierung konnten fünf QTL auf den Chromosomen 2H, 3H, 4H, 5H und 7H lokalisiert werden. Arifuzzaman *et al.* (2014) entdeckte bereits QTL auf den Chromosomen 3H, 5H und 7H mit denselben Positionen wie wir, jedoch scheinen die QTL auf 2H und 4H bisher noch nicht beschrieben zu sein. Zusätzlich zu den QTL zeigte die Korrelationsanalyse eine Korrelation zwischen den Merkmalen RS, Rdw und Sdw. Diese Verbindung zwischen den Merkmalen ist auf die Art und Weise der Berechnung des RS zurückzuführen, welche sich aus Rdw und Sdw zusammensetzt. Die enge Verbindung von Rdw und Sdw, welche durch RS vermittelt wird, wird ebenfalls durch den Marker SCI_RS_918 gezeigt. Er wurde als signifikante QTL-Region für RS, Sdw und Rdw detektiert. Allerdings zeigt das Hauptallel für RS und Rdw einen positiven Effekt, aber für Sdw weist das Minorallel den positiven Effekt auf. Dieses Ergebnis erlaubt die Annahme einer engen inversen Abhängigkeit von Wurzel- und Sprossentwicklung, welche durch Hendriks *et al.* (2015) in Weizenmutanten unterstützt wird.

4.4 Trockentoleranzrating

Trockentoleranz ist eine Eigenschaft mit einem hohen agronomischen Wert besonders im Hinblick auf die globale Erwärmung. Aus diesem Grund ist eine genaue und adäquate Technik zur Unterscheidung von resistenten / toleranten und sensitiven Genotypen besonders wichtig.

Eine verlässliche Methode für die Unterscheidung ist in der Züchtung die Verwendung von Trockentoleranzindizes (Khalili *et al.*, 2013). Bisher basierten alle verwendeten Indizes auf dem Mittelwert. Im Unterschied dazu wird im DRYM der Median integriert, welcher eine bessere Unterscheidung zwischen trocken tolerantanten und sensitiven Genotypen ermöglicht. Aus diesem Grund verwendeten wir den DRYM-Index zur Bestimmung von tolerantanten und sensitiven Genotypen bezogen auf die Merkmale R_{dw}, RI und S_{dw}. Diese Merkmale sind wichtige Merkmale, auf die ein besonderes Augenmerk für die Trockentoleranzzüchtung gelegt werden sollte (Wasson *et al.*, 2012; Comas *et al.*, 2013). Insgesamt wurden 11 Genotypen als tolerantante oder sensitiv Genotypen selektiert. Unter diesen 11 Genotypen wurden acht als tolerantant und lediglich drei als sensitiv bewertet. Interessanterweise wurden die drei sensitiven Genotypen für jedes Merkmal als sensitive detektiert. Die Genotypen CCS141 (Linie 141 aus der NRW Core-Collection), HOR1479 (Landsorte, China) und HOR2687 (Wildform, Iran) konnte eine allgemeine Trockensensitivität nachgewiesen werden. Auf der anderen Seite wiesen sieben Genotypen für jeweils eines der Merkmale eine hohe Trockentoleranz auf. Lediglich eine Landsorte aus Japan (HOR19848) zeigte einen hohen Toleranzindex für R_{dw} und S_{dw}. Weiterhin konnte festgestellt werden, dass fünf der acht tolerantanten Genotypen aus dem Nahen Osten oder Asien stammen und drei von diesen sind sogar Wildformen. Besonders die hohe Zahl von tolerantanten Genotypen aus dem Nahen Osten und Asien wird durch die Entdeckungen von Nandha und Singh (2014) und Narwal *et al.* (2015) unterstützt. Sie postulierten ein hohes Maß an trocken tolerantanten Genotypen kommen aus dem Nahen Osten und Asien. Zusätzlich zeigten Tyagi *et al.* (2011), dass Genotypen aus dem „Fruchtbaren Halbmond“ eine besonders hohe Adaptation zu Trockenheit ausweisen. Die Erkenntnisse von Tyagi *et al.*, (2011), Nandha und Singh (2014) und Narwal *et al.* (2015) unterstützen die Ergebnisse unseres Trockentoleranzrating.

4.5 Kandidatengenanalyse

Das in stärkste detektierte in der vorliegenden Arbeit liegt auf Chromosom 1H bei 122,17 cM. Bei diesem QTL (QTil.1H) ein exotisches Allel einen positiven Effekt auf die Wurzel- und Sprossvariationen. Der hohe LOD-Score, mit 102,61, deutet auf eine wichtige Rolle dieser Region auf die Wurzel- und Sprossentwicklung hin. Derselbe Marker (BOPA1_7381-1292) der mit dem QTL QTil.1H assoziiert ist, ist ebenfalls mit einem QTL für R_{dw} assoziiert (QR_{dw}.1H) jedoch mit einem relativ niedrigem LOD-Score. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass in dieser Region ein Hauptgen liegt, welches primär an der Entwicklung der Bestockungstriebe beteiligt ist. Dies wird noch durch die Erkenntnis unterstützt, dass erhöhte Bildung von Bestockungstrieben die Ausbildung von Wurzeln fördert. Ähnliche Ergebnisse wurden bereits von Naz *et al.*, (2014) und Arifuzzaman *et al.*, (2014) gezeigt, welche auf Chromosom 1H QTL-Regionen fanden, die sowohl mit Sprossmerkmalen wie auch Wurzelmerkmalen assoziiert

sind. Für die Detektion von möglichen Kandidatengenen identifizierten wir 10 putative Gene in der Region um den Marker BOPA1_7381-1292. Unter diesen 10 Genen konnten wir einen WRKY-Transkriptionsfaktor ermitteln, welcher die Funktion eines Regulators für die Wurzel- und Sprossentwicklung einnehmen kann (Rushton *et al.*, 2010; Bakshi and Oelmüller, 2014). Eine Sequenzanalyse dieses Gens enthüllt verschiedene Mutationen innerhalb der WRKY DNA-Bindedomäne. Wir vermuten, dass diese Mutationen einen Einfluss auf die Funktionalität des Transkriptionsfaktors haben könnten, es sind jedoch noch weitere Experimente für eine genaue Aussage nötig.

Ein weiteres wichtiges QTL wurde auf Chromosom 5H für das Merkmal Rdw bestimmt. Diese QTL (QRdw.5H) scheint einen Einfluss auf die Wurzelvariationen unter Trockenstressbedingungen zu haben. Im Rahmen der Kandidatengenanalyse wurden in der Region um QRdw.5H 12 mögliche Kandidatengene entdeckt von denen lediglich zwei eine regulatorische Funktion unter Stressbedingungen aufweisen. Diese Gene konnten als CBF10B und CBF10A Transkriptionsfaktoren benannt werden. Die Funktion von CBF-Transkriptionsfaktoren in der Trockenstresstoleranz ist durch eine Vielzahl von verschiedenen Forschungsarbeiten bereits bestätigt worden (Akhtar *et al.*, 2012; Nakashima *et al.*, 2014). Wichtig zu erwähnen ist, dass beide Gene sowohl wie der SNP auf demselben genomischen Contig liegen. Durch die Sequenzierung von CBF10B in verschiedenen Genotypen enthüllte eine Makrodeletion in Wildgerste, welche den Verlust von 37 Aminosäuren innerhalb der konservierten Domäne des Transkriptionsfaktors verursacht. Die Sequenzanalyse des CBF10A zeigte mehrere Substitutionsmutationen die über das gesamte Gen verteilt liegen. Besonders eine Substitution innerhalb der AP2/ERF DNA-Bindedomäne könnte einen Effekt auf die Funktionalität des Transkriptionsfaktors haben, da diese Mutation zu einem Aminosäureaustausch von Serin zu Prolin führt.

Das signifikante QTL QSdw.2H.a erklärt 33,7% der genetischen Variation für Sdw. Der stärkste Effekt für dieses QTL wurde für das heterozygote Allel beobachtet. In verschiedenen Arbeiten wurde auf Gerstenchromosom 2H bereits ein wichtiges QTL entdeckt, welches mit dem Gen Ppd-H1 assoziiert ist. Dieses Gen kontrolliert die Pflanzenentwicklung sowie das Ährenschieben unter lang Tag Bedingungen. Allerdings wurde Ppd-H1 zwischen 19,9 und 23 cM lokalisiert. Wir identifizierten jedoch zwei einzigartige Haplotypen (HOR2692 Wildform aus dem Iran und NGB4673 eine Landsorte aus Afghanistan) die das heterozygote Allel für QSdw.2H.a tragen. Das gesteigerte Sprosstrockengewicht, was dieses QTL verursacht, lässt uns darauf schließen, dass in diesen Genotypen ein neues bisher nicht bekanntes Kandidatengen in der Region um QSdw.2H.a liegt. Die Analyse der Region auf dem Genome Zipper erlaubte uns die Identifizierung von mehr als 200 Kandidatengenen. Daher denken wir,

dass eine genauere Analyse dieser Region von großem Potential für die Pflanzenzüchtung sein könnte.

5 Schlussfolgerung und Ausblick

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die genomweite Assoziationskartierung der globalen Gerstenpopulation ein Erfolg war und eine Vielzahl von neuen QTL-Regionen als Resultat hatte. Diese Regionen bieten gerade im Hinblick auf die Toleranzzüchtung in Gerste ein enormes Potential. Daher würde ich im Rahmen der Pflanzenzüchtung verschiedene Genotypen vorschlagen, die mittels DYRM-Index als Tolerant bewertet wurden empfehlen. Hierfür kommt besonders die Landsorte HOR19848 aus Japan in Frage. Unter den Linien der NRW Core-Collection konnte lediglich Linie CCS041 eine erhöhte Trockentoleranz für eines der untersuchten Merkmale aufweisen. Die Linie CCS041 zeigte für das Merkmal Sprosstrockengewicht eine erhöhte Trockentoleranz gegenüber den anderen Linien aus der NRW Core-Collection sowie den meisten Genotypen aus der globalen Gerstenpopulation. Diese Linie könnte gegebenenfalls zu einem direkten Anbau verwendet werden. Unter den 17 detektierten QTL scheinen würden wir die folgenden Marker für die Züchtung empfehlen: 1) BOPA2_12_30850 (Rdw) mit dem Minorallel (A), 2) BOPA1_497-286 (Til) mit dem Minorallel (A), 3) BOPA1_7381-1292 (Til) mit dem Minorallel (A), 4) SCRI_RS_918 (Sdw) mit dem Minorallel (C), 5) BOPA2_12_20878 (Sdw) mit dem Hauptallel (G), 6) BOPA2_12_30850 (RS) mit dem Minorallel (A). Für die Züchtung können wir für Rdw die Genotypen ICB181492, HOR19883, HOR11790, ICB180092, ICB181498, IG124000 mit dem Minorallel für Marker BOPA2_12_30850 empfehlen. Für das Merkmal Sdw sind folgende Genotypen empfehlenswert BCC282, HOR19848, ICB180006, ICB181498, HOR10924 mit dem Hauptallel für Marker BOPA2_12_20878.

Referenzen

- Ahmad P, Prasad MN.** 2012. *Abiotic Stress Responses in Plants - Metabolism, Productivity and Sustainability* (P Ahmad and MN. Prasad, Eds.). New York: Springer Berlin Heidelberg.
- Akhtar M, Jaiswal A, Taj G, Jaiswal JP, Qureshi MI, Singh NK.** 2012. DREB1/CBF transcription factors: their structure, function and role in abiotic stress tolerance in plants. *Journal of genetics* **91**, 385–95.
- Allaby RG.** 2015. Barley domestication: the end of a central dogma? *Genome Biology* **16**, 176.
- Allen MD, Yamasaki K, Ohme-Takagi M, Tateno M, Suzuki M.** 1998. A novel mode of DNA recognition by a beta-sheet revealed by the solution structure of the GCC-box binding domain in complex with DNA. *The EMBO journal* **17**, 5484–96.
- Arifuzzaman M, Sayed M a., Muzammil S, Pillen K, Schumann H, Naz AA, Léon J.** 2014. Detection and validation of novel QTL for shoot and root traits in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Molecular Breeding* **34**, 1373–1387.
- Aroca R.** 2012. *Plant Responses to Drought Stress - From Morphological to Molecular Features* (R Aroca, Ed.). New York: Springer.
- Aulchenko YS, de Koning D-J, Haley C.** 2007. Genomewide rapid association using mixed model and regression: a fast and simple method for genomewide pedigree-based quantitative trait loci association analysis. *Genetics* **177**, 577–85.
- Bakshi M, Oelmüller R.** 2014. WRKY transcription factors: Jack of many trades in plants. *Plant signaling & behavior* **9**, e27700.
- Barati M, Majidi MM, Mirlohi A, Pirnajmodini F, Sharif-Moghaddam N.** 2015. Response of Cultivated and Wild Barley Germplasm to Drought Stress at Different Developmental Stages. *Crop Science* **55**, 2668.
- Benjamini Y, Yekutieli D.** 2005. Quantitative trait loci analysis using the false discovery rate. *Genetics* **171**, 783–790.
- Blake T, Blake VC, Bowman JGP, Abdel - Haleem H.** 2011. *Barley Feed Uses and Quality Improvement*. Oxford, UK: Wiley-Blackwell.
- De Bono A, Giuliani G, Kluster S, Peduzzi P.** 2004. Impacts of summer 2003 heat wave in Europe. *Environment Alert Bulletin UNEP*, 4.
- von Bothmer R, van Hintum T, Knüpffer H, Sato K.** 2003. *Diversity in Barley* (R von Bothmer, T van Hintum, H Knüpffer, and K Sato, Eds.). Amsterdam: Elsevier.
- Caldwell KS, Russell J, Langridge P, Powell W.** 2006. Extreme population-dependent linkage disequilibrium detected in an inbreeding plant species, *Hordeum vulgare*. *Genetics* **172**, 557–567.
- Carlowicz M.** 2010. NASA Earth Observatory :
- Carvalho P, Azam-Ali S, Foulkes MJ.** 2014. Quantifying relationships between rooting traits

- and water uptake under drought in Mediterranean barley and durum wheat. *Journal of Integrative Plant Biology* **56**, 455–469.
- Chen G, Krugman T, Fahima T, Chen K, Hu Y, R??der M, Nevo E, Korol A.** 2010. Chromosomal regions controlling seedling drought resistance in Israeli wild barley, *Hordeum spontaneum* C. Koch. *Genetic Resources and Crop Evolution* **57**, 85–99.
- Chloupek O, Dostál V, Středa T, Psota V, Dvořáčková O.** 2010. Drought tolerance of barley varieties in relation to their root system size. *Plant Breeding* **129**, 630–636.
- Christmann A, Weiler EW, Steudle E, Grill E.** 2007. A hydraulic signal in root-to-shoot signalling of water shortage. *Plant Journal* **52**, 167–174.
- Cockram J, Chiapparino E, Taylor SA, Stamati K, Donini P, Laurie DA, O’Sullivan DM.** 2007. Haplotype analysis of vernalization loci in European barley germplasm reveals novel VRN-H1 alleles and a predominant winter VRN-H1/VRN-H2 multi-locus haplotype. *TAG. Theoretical and applied genetics. Theoretische und angewandte Genetik* **115**, 993–1001.
- Comas LH, Becker SR, Cruz VM V., Byrne PF, Dierig DA.** 2013. Root traits contributing to plant productivity under drought. *Frontiers in Plant Science* **4**, 1–16.
- Cramer GR, Urano K, Delrot S, Pezzotti M, Shinozaki K.** 2011. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. *BMC Plant Biology* **11**, 163.
- Dai F, Nevo E, Wu D, Comadran J, Zhou M, Qiu L, Chen Z, Beiles a., Chen G, Zhang G.** 2012. Tibet is one of the centers of domestication of cultivated barley. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**, 16969–16973.
- Deryng D, Conway D, Ramankutty N, et al.** 2014. Global crop yield response to extreme heat stress under multiple climate change futures. *Environmental Research Letters* **9**, 34011.
- Falconer DS, Mackay TFC.** 1996. *Introduction to quantitative genetics* (DS Falconer, Ed.). New York: The Ronald Press Company.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK.** 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* **164**, 1567–1587.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK.** 2007. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular ecology notes* **7**, 574–578.
- Hendriks PW, Kirkegaard JA, Lilley JM, Gregory PJ, Rebetzke GJ.** 2015. A tillering inhibition gene influences root-shoot carbon partitioning and pattern of water use to improve wheat productivity in rainfed environments. *Journal of Experimental Botany*, 10.1093/jxb/erv457.
- Hockett E a.** 1986. Relationship of Adventitious Roots and Agronomic Characteristics in Barley. *Canadian Journal of Plant Science* **66**, 257–280.
- Holland JB, Nyquist WE, Cervantes-Martinez CT.** 2003. Estimating and Interpreting

- Heritability for Plant Breeding. *Plant Breed. Rev.* **22**, 9–112.
- Hubisz MJ, Falush D, Stephens M, Pritchard JK.** 2009. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources* **9**, 1322–1332.
- Jaglo KR, Kleff S, Amundsen KL, Zhang X, Haake V, Zhang JZ, Deits T, Thomashow MF.** 2001. Components of the Arabidopsis C-repeat/dehydration-responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in Brassica napus and other plant species. *Plant Physiology* **127**, 910–7.
- Khalili M, Aboughadareh AP, Mohammad RN.** 2013. Screening of drought tolerant cultivars in barley using morpho-physiological traits and Integrated Selection Index under water deficit stress condition. *Advanced Crop Science* **3**, 462–471.
- Kopelman NM, Mayzel J, Jakobsson M, Rosenberg N a, Mayrose I, Rosenburg N.** 2015. CLUMPAK: a program for identifying clustering modes and packaging population software inferences across K. *Molecular Ecology Resources* **15**, 1179–1191.
- Lancashire PD, Bleiholder H, Boom T Van Den, Langelüddeke P, Stauss R, Weber E, Witzemberger A.** 1991. A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Annals of Applied Biology* **119**, 561–601.
- Mayer KFX, Waugh R, Brown JWS, et al.** 2012. A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome. *Nature* **491**, 711–6.
- Miyagawa T, Nishida N, Ohashi J, et al.** 2008. Appropriate data cleaning methods for genome-wide association study. *Journal of Human Genetics* **53**, 886–893.
- Morrell PL, Clegg MT.** 2007. Genetic evidence for a second domestication of barley (*Hordeum vulgare*) east of the Fertile Crescent. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **104**, 3289–3294.
- Morrell PL, Toleno DM, Lundy KE, Clegg MT.** 2005. Low levels of linkage disequilibrium in wild barley (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*) despite high rates of self-fertilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**, 2442–2447.
- Nakashima K, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K.** 2014. The transcriptional regulatory network in the drought response and its crosstalk in abiotic stress responses including drought, cold, and heat. *Frontiers in Plant Science* **5**, 170.
- Nandha PS, Singh J.** 2014. Comparative assessment of genetic diversity between wild and cultivated barley using gSSR and EST-SSR markers. *Plant Breeding* **133**, 28–35.
- Narwal S, Tyagi BS, Mittal V, Kharub AS, Tiwari V, Sharma I.** 2015. Genetic and molecular dissection of drought tolerance in wheat and barley. *Journal of Wheat Research* **7**, 1–13.
- Naz AA, Arifuzzaman M, Muzammil S, Pillen K, Léon J.** 2014. Wild barley introgression

- lines revealed novel QTL alleles for root and related shoot traits in the cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.). *BMC genetics* **15**, 107.
- Nuin PAS, Wang Z, Tillier ERM.** 2006. The accuracy of several multiple sequence alignment programs for proteins. *BMC bioinformatics* **7**, 471.
- O'Brien JA, Benková E.** 2013. Cytokinin cross-talking during biotic and abiotic stress responses. *Frontiers in plant science* **4**, 451.
- Payne S.** 1969. The domestication and exploitation of plants and animals. *Policopiado*, 295–305.
- Pennisi E.** 2008. Plant genetics. The blue revolution, drop by drop, gene by gene. *Science* (New York, N.Y.) **320**, 171–173.
- Poorter H, Bühler J, van Dusschoten D, et al.** 2012. Pot size matters: a meta-analysis of the effects of rooting volume on plant growth. *Functional Plant Biology* **39**, 839.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P.** 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**, 945–959.
- Risch N, Merikangas K.** 1996. The future of genetic studies of complex human diseases. *Science* (New York, N.Y.) **273**, 1516–1517.
- Rushton PJ, Somssich IE, Ringler P, Shen QJ.** 2010. WRKY transcription factors. *Trends in Plant Science* **15**, 247–258.
- Russell J, van Zonneveld M, Dawson IK, Booth A, Waugh R, Steffenson B.** 2014. Genetic Diversity and Ecological Niche Modelling of Wild Barley: Refugia, Large-Scale Post-LGM Range Expansion and Limited Mid-Future Climate Threats? *PLoS ONE* **9**, e86021.
- Samarah NH.** 2005. Effects of drought stress on growth and yield of barley. *Agronomy for Sustainable Development* **25**, 145–149.
- Sánchez-Martín J, Heald J, Kingston-Smith A, Winters A, Rubiales D, Sanz M, Mur LAJ, Prats E.** 2015. A metabolomic study in oats (*Avena sativa*) highlights a drought tolerance mechanism based upon salicylate signalling pathways and the modulation of carbon, antioxidant and photo-oxidative metabolism. *Plant, Cell and Environment* **38**, 1434–1452.
- Sannemann W, Huang BE, Mathew B, Léon J.** 2015. Multi-parent advanced generation inter-cross in barley: high-resolution quantitative trait locus mapping for flowering time as a proof of concept. *Molecular Breeding* **35**, 86.
- Sayed MAE-AAE-H.** 2011. QTL Analysis for Drought Tolerance Related to Root and Shoot Traits in Barley (*Hordeum vulgare* L.). PhD Thesis Bonn:Universitäts-und Landesbibliothek Bonn.
- Sprenger H, Rudack K, Schudoma C, et al.** 2015. Assessment of drought tolerance and its potential yield penalty in potato. *Functional Plant Biology* **42**, NULL.
- The Complex Trait Consortium.** 2003. Guidelines: The nature and identification of

- quantitative trait loci: a community's view. *Nature Reviews Genetics* **4**, 911–916.
- Tyagi K, Park MR, Lee HJ, Lee CA, Rehman S, Steffenson B, Yun SJ.** 2011. Fertile Crescent Region as Source of Drought Tolerance at Early Stage of Plant Growth of Wild Barley (*Hordeum vulgare* L. ssp. *spontaneum*). *Pakistan Journal of Botany* **43**, 475–486.
- Uga Y, Sugimoto K, Ogawa S, et al.** 2013. Control of root system architecture by DEEPER ROOTING 1 increases rice yield under drought conditions. *Nature Genetics* **45**, 1097–102.
- Vadez V.** 2014. Root hydraulics: The forgotten side of roots in drought adaptation. *Field Crops Research* **165**, 15–24.
- Wasson AP, Richards RA, Chatrath R, Misra SC, Prasad SVS, Rebetzke GJ, Kirkegaard JA, Christopher J, Watt M.** 2012. Traits and selection strategies to improve root systems and water uptake in water-limited wheat crops. *Journal of Experimental Botany* **63**, 3485–3498.
- Wehner GG, Balko CC, Enders MM, Humbeck KK, Ordon FF.** 2015. Identification of genomic regions involved in tolerance to drought stress and drought stress induced leaf senescence in juvenile barley. *BMC plant biology* **15**, 125.
- Yu J, Buckler ES.** 2006. Genetic association mapping and genome organization of maize. *Current Opinion in Biotechnology* **17**, 155–160.
- Zhao K, Tung C-W, Eizenga GC, et al.** 2011. Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa*. *Nature Communications* **2**, 467.
- Zhou H, Muehlbauer G, Steffenson B.** 2012. Population structure and linkage disequilibrium in elite barley breeding germplasm from the United States. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B* **13**, 438–451.
- Zhu C, Gore M, Buckler ES, Yu J.** 2008. Status and Prospects of Association Mapping in Plants. *The Plant Genome Journal* **1**, 5.

Liste der Veröffentlichungen

Reinert S, Kortz A, Léon J and Naz AA (2016) Genome-Wide Association Mapping in the Global Diversity Set Reveals New QTL Controlling Root System and Related Shoot Variation in Barley. *Front. Plant Sci.* 7:1061. doi: 10.3389/fpls.2016.01061

Naz AA, Reinert S, Bostanci C, Seperi B, Léon J, Böttger C, Südekum KH, Frei M Mining the global diversity for bioenergy traits of barley straw: genome-wide association study under varying plant water status. *GCB Bioenergy*. In review

Liste der Vorträge

Reinert S, Naz A, Léon J (März 2016) High resolution association mapping reveals new QTL mediating root variation in a global barley diversity set. Deutsche Gesellschaft für Pflanzenzüchtung (GPZ-Konferenz), Bonn

Reinert S (November 2015) Abschlussvortrag, Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen, Düsseldorf.

Reinert S (Dezember 2014) Zwischenvortrag, Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen, Düsseldorf.

Anhang

Tabelle 1: Liste der Genotypen in der globalen Gerstenpopulation. Die Liste beinhaltet die Akzessionsnummer, ID, Subpopulationszugehörigkeit, Ursprungsland, Subspezieszugehörigkeit, Altitude, Longitude und Latitude.

Nr	Akzession	ID	Ursprungsland	Subspezies	Altitude	Longitude	Latitude
1	HOR 9721	RBC010	Libya	Wildform	NN 590	32°44'54" N	21°45'38" E
2	HOR 9840	RBC012	Libya	Wildform	NN 656	32°47'46" N	22°7'18" E
3	ICB 180006	RBC017	Syria	Wildform	NN 250	35°49'42" N	036°18'28"E
4	ICB 180862	RBC018	Syria	Wildform			
5	ICB 180902	RBC019	Syria	Wildform			
6	IG 121857	RBC020	Syria	Wildform	NN 1059	32°33'00"N	036°35'42"E
7	ICB 180092	RBC025	Palestine	Wildform			
8	ICB 180117	RBC026	Palestine	Wildform			
9	ICB 180410	RBC027	Palestine	Wildform			
10	ICB 180994	RBC028	Palestine	Wildform	NN 54	31°40'00"N	034°34'00"E
11	ICB 181160	RBC029	Iran	Wildform			
12	ICB 181442	RBC033	Jordan	Wildform	NN 782	31°17'51"N	035°50'41"E
13	ICB 181418	RBC034	Jordan	Wildform	NN 812	31°46'47"N	035°48'00"E
14	ICB 180013	RBC035	Jordan	Wildform	NN 480	32°14'25"N	035°51'55"E
15	ICB 181268	RBC036	Jordan	Wildform	NN750	32°18'6"N	035°55'17"E
16	ICB 180007	RBC037	Jordan	Wildform	NN 591	32°29'15"N	035°55'39"E
17	ICB 180260	RBC038	Israel	Wildform	NN 36	33°00'00"N	035°08'00"E
18	ICB 180329	RBC040	Israel	Wildform	NN 83	31°26'00" N	34°29'00" E
19	ICB 180508	RBC041	Israel	Wildform			
20	ICB 180046	RBC043	Iraq	Wildform	NN 323	36°00'00"N	043°31'00"E
21	ICB 180069	RBC044	Iraq	Wildform	NN 470	34°48'00"N	045°36'00"E
22	HOR 2514	RBC046	India	Wildform			
23	HOR 11421	RBC047	India	Landsorte	NN 2880	31°41'31" N	77°31'35" E
24	HOR 8367	RBC048	India	Landsorte			
25	HOR 8372	RBC049	India	Landsorte			
26	HOR 7603	RBC050	Pakistan	Landsorte	NN 2830	36°05'40" N	074°04'35" E
27	HOR 7599	RBC052	Pakistan	Landsorte	NN 2100	36°17'40" N	073°46'57" E
28	ICB 181243	RBC053	Pakistan	Wildform	NN 1560	30°18'00" N	066°54'00" E
29	HOR 1479	RBC059	China	Landsorte	NN 3685	29°21'00" N	090°39'00" E
30	HOR 1510	RBC060	China	Landsorte	NN 3650	29°38'59" N	091°05'59" E
31	HOR 1566	RBC061	China	Landsorte	NN 4076	29°15'19" N	090°49'59" E
32	NGB4668	RBC063	Afghanistan	Landsorte			
33	NGB6952	RBC066	Afghanistan	Landsorte			
34	NGB9599	RBC067	Afghanistan	Landsorte			
35	ICB 181498	RBC069	Uzbekistan	Wildform	NN 350	41°9'58"N	069°02'00"E
36	IG 124000	RBC070	Uzbekistan	Wildform	NN 1450	39°42'00"N	068°02'45"E
37	IG 124017	RBC071	Uzbekistan	Wildform	NN 700	40°00'00"N	067°05'15"E
38	ICB 180211	RBC073	Turkmenistan	Wildform	NN 1530	37°42'59" N	058°24'50" E
39	ICB 180215	RBC074	Turkmenistan	Wildform			
40	ICB 180217	RBC075	Turkmenistan	Wildform	NN 250	37°40'00"N	065°35'00" E
41	ICB 181492	RBC076	Turkmenistan	Wildform	NN 456	38°02'00"N	058°00'00"E
42	HOR 18647	RBC077	Japan	Landsorte			
43	HOR 19848	RBC080	Japan	Landsorte			

44	HOR 11017	RBC127	Greece	Wildform	NN 20	35°30'59" N	024°01'59" E
45	HOR 12418	RBC130	Greece	Wildform	NN 20	35°30'59" N	024°01'59" E
46	ICB 181500	RBC135	Tadjikistan	Wildform	NN 1030	39°28'25"N	067°30'1"E
47	ICB 180070	RBC137	Turkey	Wildform	NN 840	39°39'52"N	031°9'40"E
48	ICB 181162	RBC138	Iran	Wildform			
49	HOR 16097	RBC001	Egypt	Kultursorte			
50	BCC 126	RBC005	Marocco	Landsorte			
51	BCC 149	RBC006	Marocco	Landsorte			
52	HOR 13412	RBC007	Marocco	Landsorte	NN 596	31°22'00" N	008°31'00" W
53	BCC 131	RBC008	Marocco	Landsorte			
54	HOR 930	RBC021	Turkey	Landsorte			
55	HOR 19883	RBC024	Turkey	Landsorte			
56	HOR 20921	RBC042	Israel	Landsorte			
57	HOR 17616	RBC056	Nepal	Landsorte			
58	HOR 56	RBC062	China	Landsorte			
59	HOR 4124	RBC089	Mexico	Landsorte			
60	BCC 848	RBC091	Mexico	Kultursorte			
61	HOR 7443	RBC093	Bolivia	Landsorte			
62	HOR 7446	RBC094	Bolivia	Landsorte			
63	HOR 2981	RBC097	Chile	Kultursorte			
64	HOR 20110	RBC099	Chile	Landsorte			
65	HOR 14485	RBC100	Chile	Landsorte			
66	HOR 10843	RBC103	Colombia	Landsorte	NN 2000	5°45'15" N	73°34'37" W
67	BCC 927	RBC105	Peru	Kultursorte			
68	HOR 7449	RBC107	Peru	Landsorte			
69	HOR 9565	RBC108	Peru	Landsorte			
70	HOR 17307	RBC110	Uruguay	Landsorte			
71	BCC 862	RBC111	Uruguay	Kultursorte			
72	BCC 896	RBC112	Uruguay	Kultursorte			
73	HOR 35	RBC113	Australia	Kultursorte			
74	HOR 4206	RBC114	Australia	Kultursorte			
75	HOR 18209	RBC116	Australia	Kultursorte			
76	HOR 13965	RBC118	Australia	Kultursorte			
77	BCC 1551	RBC120	Armenia	Kultursorte			
78	BCC 1474	RBC123	Ukraine	Kultursorte			
79	BCC 1505	RBC125	Ukraine	Kultursorte			
80	HOR 1131	RBC129	Greece	Landsorte	NN 226	35°27'52" N	023°46'17" E
81	HOR 199	RBC131	Russia	Landsorte			
82	HOR 3372	RBC132	Russia	Landsorte			
83	BCC 1348	RBC164	Spain	Kultursorte			
84	BCC 1523	RBC165	Spain	Kultursorte			
85	HOR 19267	RBC166	Spain	Landsorte			
86	BCC 1586	RBC167	Spain	Kultursorte			
87	HOR 873	RBC168	France	Kultursorte			
88	HOR 1132	RBC169	France	Landsorte	NN 650m	42°27'55" N	2°54'49" E
89	HOR 11790	RBC171	France	Kultursorte			
90	HOR 12047	RBC175	GB/Irland	Landsorte	NN 157	52°24'28" N	001°56'41" W
91	HOR 16287	RBC013	Sudan	Landsorte			
92	BCC 871	RBC098	Chile	Kultursorte			
93	CCS 004	RBC139	Germany	Kultursorte			
94	CCS 010	RBC140	Germany	Kultursorte			

95	CCS 012	RBC141	Germany	Kultursorte			
96	CCS 018	RBC142	Germany	Kultursorte			
97	CCS 023	RBC143	Germany	Kultursorte			
98	CCS 041	RBC144	Germany	Kultursorte			
99	CCS 052	RBC145	Germany	Kultursorte			
100	CCS 060	RBC146	Germany	Kultursorte			
101	CCS 081	RBC148	Germany	Kultursorte			
102	CCS 084	RBC150	Germany	Kultursorte			
103	CCS 086	RBC151	Germany	Kultursorte			
104	CCS 089	RBC152	Germany	Kultursorte			
105	CCS 095	RBC153	Germany	Kultursorte			
106	CCS 096	RBC154	Germany	Kultursorte			
107	CCS 109	RBC155	Germany	Kultursorte			
108	Agueda	RBC158	Germany	Kultursorte			
109	Montoya	RBC159	Germany	Kultursorte			
110	Danielle	RBC160	Germany	Kultursorte			
111	Britney	RBC161	Germany	Kultursorte			
112	Andreia	RBC162	Germany	Kultursorte			
113	BCC 1380	RBC170	France	Kultursorte			
114	NGB8822	RBC176	GB/Irland	Landsorte			
115	NGB9480	RBC177	GB/Irland	Landsorte			
116	HOR 19027	RBC002	Egypt	Landsorte			
117	HOR 20117	RBC003	Egypt	Landsorte			
118	HOR 19308	RBC004	Egypt	Landsorte			
119	HOR 9838	RBC009	Libya	Wildform	NN 424	27°2'16" N	14°25'36" E
120	HOR 10164	RBC011	Libya	Wildform	NN 300	32°6'34" N	21°10'9" E
121	HOR 2589	RBC014	Sudan	Landsorte			
122	HOR 16359	RBC015	Sudan	Landsorte			
123	HOR 15956	RBC016	Sudan	Landsorte			
124	HOR 14953	RBC022	Turkey	Landsorte			
125	HOR 14936	RBC023	Turkey	Landsorte			
126	HOR 2684	RBC030	Iran	Wildform	NN 110	32°6'21" N	048°50'2" E
127	HOR 2692	RBC031	Iran	Wildform	NN 120	32°23'36" N	047°38'25" E
128	HOR 2687	RBC032	Iran	Wildform	NN 90	31°35'29" N	049°5'20" E
129	HOR 9470	RBC039	Israel	Wildform			
130	HOR 11106	RBC045	Iraq	Wildform			
131	HOR 18401	RBC051	Pakistan	Wildform			
132	BCC 732	RBC054	Nepal	Landsorte			
133	BCC 776	RBC055	Nepal	Landsorte			
134	HOR 18945	RBC057	Nepal	Landsorte			
135	HOR 16714	RBC058	China	Landsorte			
136	NGB9606	RBC064	Afghanistan	Landsorte			
137	NGB4673	RBC065	Afghanistan	Landsorte			
138	NGB8872	RBC068	Afghanistan	Landsorte			
139	BCC 282	RBC072	Uzbekistan	Landsorte			
140	HOR 15779	RBC078	Japan	Landsorte			
141	BCC 613	RBC079	Japan	Kultursorte			
142	BCC 891	RBC081	USA	Kultursorte			
143	BCC 906	RBC082	USA	Kultursorte			
144	BCC 817	RBC083	USA	Kultursorte			
145	BCC 875	RBC084	USA	Kultursorte			

146	BCC 801	RBC085	Canada	Kultursorte			
147	BCC 852	RBC086	Canada	Kultursorte			
148	BCC 881	RBC087	Canada	Kultursorte			
149	BCC 888	RBC088	Canada	Kultursorte			
150	HOR 13597	RBC090	Mexico	Wildform			
151	BCC 900	RBC092	Mexico	Kultursorte			
152	BCC 882	RBC095	Bolivia	Kultursorte			
153	BCC 928	RBC096	Bolivia	Kultursorte			
154	BCC 844	RBC101	Colombia	Kultursorte			
155	BCC 921	RBC102	Colombia	Kultursorte			
156	HOR 10845	RBC104	Colombia	Landsorte	NN 2790	1°12'59" N	77°23'30" W
157	HOR 19577	RBC106	Peru	Landsorte			
158	HOR 16345	RBC109	Uruguay	Landsorte			
159	HOR 4278	RBC115	Australia	Kultursorte			
160	HOR 20173	RBC117	Australia	Kultursorte			
161	HOR 4724	RBC119	Armenia	Landsorte			
162	HOR 4468	RBC121	Armenia	Landsorte			
163	HOR 7394	RBC122	Armenia	Landsorte			
164	BCC 1493	RBC124	Ukraine	Kultursorte			
165	BCC 1533	RBC126	Ukraine	Kultursorte			
166	HOR 10924	RBC128	Greece	Wildform	NN 32	28°58'54" N	26°23'53" E
167	HOR 2448	RBC133	Russia	Landsorte			
168	BCC 1491	RBC134	Russia	Landsorte			
169	ICB 180063	RBC136	Turkey	Wildform			
170	CCS 067	RBC147	Germany	Kultursorte			
171	CCS 083	RBC149	Germany	Kultursorte			
172	CCS 121	RBC156	Germany	Kultursorte			
173	CCS 141	RBC157	Germany	Kultursorte			
174	Mutante	RBC163	Germany	Kultursorte			
175	BCC 829	RBC172	GB/Irland	Kultursorte			
176	HOR 16665	RBC173	GB/Irland	Kultursorte			
177	HOR 18101	RBC174	GB/Irland	Landsorte			
178	NGB4605	RBC178	Romania	Landsorte			
179	NGB9312	RBC179	Romania	Landsorte			