

# Abschlussbericht CharAccess II

Entwicklung molekularer Marker zur Unterstützung der  
Käferbohnenzüchtung (Weiterführung CharAccess)



*Phaseolus coccineus*  
Characcess II



# Abschlussbericht CharAccess II

Entwicklung molekularer Marker zur Unterstützung der  
Käferbohnenzüchtung (Weiterführung CharAccess)

 Bundesministerium  
Landwirtschaft, Regionen  
und Tourismus



Wien, 2021

## **Impressum**

Projektnehmer: Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH  
Geschäftsfeld Ernährungssicherung

Adresse: Spargelfeldstraße 191, 1220 Wien

Projektleiterin: DI Dr. Alexandra Ribarits

Tel. : +43 50 555 34914

E-Mail: alexandra.ribarits@ages.at

Projektmitarbeiter: Svenja Bomers MSc, Dr. Philipp von Gehren, Martina Grabner MSc,  
Dr. Noémie Prat, DI Martin Schwab, Ing. Katharina Etter, DI Paul Freudenthaler

Kooperationspartner: Dr. Eva Maria Sehr MSc, AIT Austrian Institute of Technology GmbH,  
Konrad-Lorenz-Straße 24, 3430 Tulln; Mag. DI Eveline Adam BSc, Saatzucht Gleisdorf GmbH,  
Am Tieberhof 33, 8200 Gleisdorf

Finanzierungsstellen: Bund/Bundesländer-Kooperation Forschung (Bundesministerium für  
Nachhaltigkeit und Tourismus und Das Land Steiermark)

Projektlaufzeit: 04.05.2020-31.08.2021

1. Auflage

Titelbild: Martina Grabner MSc; Fotos: AGES

Alle Rechte vorbehalten.

Wien, 2021. Stand: 31. August 2021

### **Copyright und Haftung:**

Auszugsweiser Abdruck ist nur mit Quellenangabe gestattet, alle sonstigen Rechte sind ohne schriftliche Zustimmung des Medieninhabers unzulässig.

Es wird darauf verwiesen, dass alle Angaben in dieser Publikation trotz sorgfältiger Bearbeitung ohne Gewähr erfolgen und eine Haftung des Bundesministeriums für Landwirtschaft, Regionen und Tourismus und der Autorin/des Autors ausgeschlossen ist. Rechtausführungen stellen die unverbindliche Meinung der Autorin/des Autors dar und können der Rechtsprechung der unabhängigen Gerichte keinesfalls vorgreifen.



## Inhalt

<b>1 Zusammenfassung.....</b>	<b>6</b>
<b>2 Einleitung.....</b>	<b>8</b>
2.1 Einleitung und Hintergrund.....	8
2.2 Projektziele.....	11
<b>3 Material und Methoden .....</b>	<b>12</b>
3.1 Sammlung, Herkunft und Auswahl des Saatguts für den Anbau .....	12
3.2 Aufzucht der Jungpflanzen im Glashaus Wien .....	13
3.3 Pflanzenschutz und Behandlung im Kulturverlauf .....	16
3.4 Temperaturverlauf und Hitzestress.....	16
3.5 Bestäubung durch Bienenbeflug .....	18
3.6 Bonitur der Blüten .....	18
3.7 Bonitur der Hülsen und Hülsenansätze.....	18
3.8 Ernte der Hülsen und Bohnen .....	19
3.9 Aufbereitung genetischer Daten .....	20
3.10 Assoziationsanalysen .....	22
3.11 Literaturrecherche .....	24
3.12 Sammlung Blattmaterial für DNA Extraktion.....	24
3.13 <i>In silico</i> Entwicklung MassARRAY® Multiplex Assays.....	25
3.14 Genotypisieren mittels MassARRAY® Multiplex Assays .....	27
3.15 Identifizierung des positiven Allels .....	27
3.16 Berechnung der Hitzetoleranz .....	28
3.17 Dendrogramme.....	29
<b>4 Ergebnisse.....</b>	<b>30</b>
4.1 Zeitlicher Ablauf der Phänotypisierung.....	30
4.2 Allgemeine Pflanzenentwicklung im Glashaus.....	31
4.3 Entwicklung der Blüten.....	37

4.4	Entwicklung der Hülsen und Hülsenansätze .....	39
4.5	Ertragsleistung der unterschiedlichen Käferbohnen-Akzessionen und -Sorten im Projektverlauf .....	40
4.6	Akzessionen, die im Glashausversuch ertragreicher als Bonela waren .....	42
4.7	Ertragsstabilitäten der Akzessionen und Sorten unter Hitzebedingungen .....	45
4.8	Auswahl SNP Marker .....	50
4.9	Beschreibung SNP Marker .....	57
4.10	Charakterisierung der Hitzetoleranz .....	59
4.11	Vorhersage der Hitzetoleranz .....	62
4.12	Dendrogramme .....	63
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung und Diskussion .....</b>	<b>67</b>
5.1	Züchtungsrelevante Akzessionen .....	67
5.2	Vorhersage der Hitzetoleranz .....	68
5.3	Dendrogramme .....	69
<b>6</b>	<b>Ausblick .....</b>	<b>71</b>
<b>7</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>72</b>
7.1	Übersicht der untersuchten Akzessionen .....	72
7.2	Temperaturverlauf und Hitzestress im Glashausversuch .....	93
7.3	Phänotypische Daten aus CharAccess II .....	98
7.4	Boxplots der 18 SNP Marker .....	102
<b>8</b>	<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>107</b>
<b>9</b>	<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>109</b>
<b>10</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>111</b>

# 1 Zusammenfassung

Die Käferbohne (*Phaseolus coccineus* L.) ist ein typisches Produkt der südöstlichen Steiermark – von der Region für die Region – und entwickelte sich zur unverkennbar steirischen Spezialität. Die Klimakrise führt zu einer deutlichen Zunahme von Hitzetagen, was zu massiven Ertragsausfällen bei Käferbohnen führen kann. Besonders während der Blütezeit leiden Käferbohnenpflanzen unter hohen Temperaturen. Am häufigsten wird der Abwurf von Blüten und Hülsenansätzen beobachtet. Die Entwicklung trockenheits- und hitzetoleranter Sorten ist in Zeiten der Klimakrise weltweit eine der größten landwirtschaftlichen Herausforderungen und erfordert Ansätze auf unterschiedlichen Ebenen. Als Nachfolgeprojekt von CharAccess war das Ziel des Projektes CharAccess II, die Züchtung von hitzetoleranten Käferbohnen Sorten zu unterstützen. Dazu wurden Käferbohnenherkünfte mittels RAD-Sequenzierung (RADseq) und MassARRAY® genotypisiert, beziehungsweise in Glashausversuchen unter Hitzestressbedingungen phänotypisiert. Durch die kombinatorische Analyse von Phäno- und Genotypen wurden an die Hitzetoleranz gekoppelte Genabschnitte identifiziert und schließlich genetische Marker (SNPs, Single Nucleotide Polymorphisms) für die Nutzung in der Züchtung zur Verfügung gestellt.

In den Glashausversuchen von CharAccess II wurden insgesamt 64 Akzessionen und Sorten unter Hitzestressbedingungen phänotypisiert. Die Versuche umfassten zwei spanische Akzessionen, zwei Zuchtlinien, sowie jene Akzessionen, die in den Versuchen im Projekt CharAccess eine höhere Ertragsleistung zeigten als die Referenzsorte Bonela. Weitere Akzessionen wurden gemäß den Ergebnissen der Sequenzierung aus CharAccess ausgewählt, mit dem Ziel, eine möglichst breite genetische Vielfalt abzudecken. Zusätzlich wurden Akzessionen selektiert, die bisher weder genotypisiert, noch phänotypisiert worden waren. Aufgrund des ausgeprägten Hitzestresses wurden häufig keine Hülsen oder verkümmerte Hülsen ohne Bohnen gebildet, und die Anzahl der geernteten Bohnen war niedrig. In CharAccess II waren 21 Akzessionen, 3 Sorten, sowie 1 Zuchtlinie, in CharAccess 5 Akzessionen und 1 Sorte ertragreicher als die Referenzsorte Bonela. Es konnten in beiden CharAccess-Projekten potenziell hitzetolerante Akzessionen ermittelt werden, und es wurden 4 Akzessionen entdeckt, die sowohl in CharAccess als auch in CharAccess II einen höheren Ertrag unter Hitzestressbedingungen lieferten als Bonela.

Als mögliche Marker für Hitzetoleranz kamen über 100 SNPs in Frage, die sich aus den Assoziationsanalysen von Geno- und Phänotyp ergaben. Aus diesen wurden schlussendlich 18 SNPs aufgrund der positiven Ergebnisse der BLAST-Analyse und des MassARRAY® ausgewählt, weiters waren sie polymorph und trugen ein positives Allel, das sowohl in CharAccess als auch



in CharAccess II mit einer erhöhten Anzahl an Hülsen assoziiert war. Für die 26 mittels MassARRAY® genotypisierten Akzessionen wurde die Hitzetoleranz auf Basis dieser SNP Marker berechnet und eine Übereinstimmung von berechneter Hitzetoleranz und Phänotyp gefunden. Ein Wert von über 65 % deutet auf einen hohen Ertrag unter Hitzebedingungen hin. Auf Basis derselben 18 SNPs wurde die Hitzetoleranz jener 33 Akzessionen vorhergesagt, welche mittels RADseq genotypisiert, aber nicht phänotypisiert worden waren. Auf diese Weise wurden insgesamt 65 Akzessionen untersucht und davon konnten 10 potenziell hitzetolerante Akzessionen identifiziert werden. Die ausgewählten SNPs können ein guter Indikator sein, um Hitzetoleranz vorherzusagen. Die Zuverlässigkeit dieser Vorhersage muss in weiteren Praxisversuchen überprüft werden.

Zusammengefasst ermöglichen die Ergebnisse der CharAccess-Projekte eine frühzeitige Überprüfung von Kreuzungen und dem Vorhandensein der potenziellen Hitzetoleranzgene. Damit kann die Entwicklung neuer Linien beschleunigt und vereinfacht werden. Die Erkenntnisse dienen als direkt verwertbare Grundlagen für die Entwicklung verbesserter, hitzetoleranter Sorten um den erfolgreichen Anbau der Steirischen Käferbohne auch in Zukunft zu sichern.

## 2 Einleitung

### 2.1 Einleitung und Hintergrund

Die Käferbohne (Feuerbohne, Prunkbohne, Türkische Bohne, Schminkbohne, Rosenbohne; *Phaseolus coccineus* L.) ist seit dem 16. Jahrhundert in Österreich bekannt. Die Anbauflächen schwanken jährlich: Während 2015 in Österreich auf rund 440 ha Käferbohnen angebaut wurden (Statistik Austria 2016), lagen die Anbauflächen 2016 bei 595 ha und 2017 bei 621 ha (Lind 2017). Die Käferbohne wird in verschiedenen Regionen und Bundesländern kultiviert, aber der weitaus überwiegende Teil der Flächen befindet sich in der Steiermark (vgl. Vogl-Lukasser et al. 2007; Statistik Austria 2015). Auf einem Großteil dieser steirischen Käferbohnen-Anbaufläche wird die Steirische Käferbohne geschützten Ursprungs (g.U.) angebaut, z.B. im Jahr 2019 auf 420 ha, 2020 auf 455 ha und 2021 auf 478 ha (Information: Plattform zum Schutz der Steirischen Käferbohne g.U.). Zum Vergleich betrug die Gesamtfläche von Käferbohnen und anderen Speisebohnen in der Steiermark im Jahr 2020 495 ha und im Jahr 2021 510 ha (Information: Statistik Austria), wobei der Anteil „anderer Speisebohnen“ sehr gering ist. Die Käferbohne ist damit für die steirischen Bauern von großer wirtschaftlicher Bedeutung (vgl. Sommer und Höbaus 2019). Als typisches Produkt der südöstlichen Steiermark – von der Region für die Region – entwickelte sich die Käferbohne zur unverkennbar steirischen Spezialität (siehe „Genussregion Südoststeirische Käferbohne“).

Derzeit sind drei Sorten in der Österreichischen Sortenliste registriert: Bonela, Melange, und die („Für den Anbau unter besonderen Bedingungen gezüchtete Sorte“) Ober-Wolfsbacher Feuerbohne (BAES 2020). Zwei weitere Sorten (Steirische Riesen und Hara) waren bisher in der Österreichischen Sortenliste eingetragen. Als Wildform ist die Käferbohne mehrjährig (Bitocchi et al. 2017; Hernández-Delgado et al. 2015; Schwember et al. 2017), wird aber in unseren Klimaverhältnissen in einjähriger Kultur geführt. Der kommerzielle Anbau erfolgt größtenteils auf Vertragsbasis und mit Mais als Stützpflanze.

Die Bewältigung der Folgen des Klimawandels mit dem vorrangigen Ziel der Entwicklung trockenheits- und hitzetoleranter Sorten ist weltweit eine der größten landwirtschaftlichen Herausforderungen und erfordert Ansätze auf unterschiedlichen Ebenen, vom Aufspüren von als Markern geeigneten Genregionen über die Charakterisierung von Genen, die mit einer Toleranz gegenüber Hitzestress assoziiert sind, bis hin zur Verwendung pflanzengenetischer Ressourcen (Driedonks et al. 2016). Auch die Bohnenzüchtung muss sich diesen Herausforderungen stellen (Assefa et al. 2019; Beaver und Osorno 2009; Silva et al. 2020).

Hohe Temperaturen während der Blütezeit führen zum Abwurf von Blüten und Hülsenansätzen und beeinflussen Überlebens- und Keimfähigkeit der Pollen (Beebe et al. 2012; Silva et al. 2020; Soltani et al. 2019). Die Grundlagen der Hitzetoleranz bei Bohnen wurden in geringerem Umfang als jene der Trockenheitstoleranz untersucht (vgl. Assefa et al. 2019), und im Vergleich zur Gartenbohne (*Phaseolus vulgaris* L.) wurde die Käferbohne deutlich weniger intensiv beforscht (Schwember et al. 2017). Bei *Phaseolus vulgaris* L. wurde vermehrter Blütenabwurf, Pollensterilität, Hülsenabwurf, reduzierte Samenbildung und verminderter Ertrag als Reaktion auf Hitzestress beschrieben (Porch und Jahn 2001; Porch et al. 2007). Am häufigsten werden Blüten abgeworfen, gefolgt von Hülsenansätzen (Rainey und Griffiths 2005). Dies wurde auch in der steirischen Anbaupraxis beobachtet (Lind 2017) und durch die Arbeiten im Rahmen von CharAccess bestätigt (Ribarits et al. 2019). Es scheint, dass vor allem hohe Nachttemperaturen die Samenbildung negativ beeinflussen (Rainey und Griffiths 2005). Abhilfe schafft die Züchtung von Bohnensorten, die tolerant gegenüber Hitzestress sind (Assefa et al. 2019).

Die Entwicklung bzw. das Auffinden hitzetoleranter Sorten ist ein wichtiger Bestandteil einer langfristigen Strategie zur Steigerung von Produktivität und Ertragssicherheit. Um die Folgen eines sich verändernden Klimas zu bewältigen, werden Landsorten als wichtige Quellen genetischen Materials für die Pflanzenzüchtung genannt (Bitocchi et al. 2017; Driedonks et al. 2016; Dwivedi et al. 2017; Halewood et al. 2018; López-Hernández und Cortés 2019; Mercati et al. 2015; Schwember et al. 2017; Varshney et al. 2018). Die Agrobiodiversität im Sinne der Vielfalt an pflanzengenetischen Ressourcen, welche in Genbanken lagern, stellt eine der größten, weitestgehend ungenutzten Chancen zur Überwindung von durch den Klimawandel prognostizierten Ernteausfällen dar. Um diesen Reichtum an Vielfalt u.a. für die Züchtung neuer Sorten nutzen zu können, ist eine Charakterisierung der vorhandenen Genressourcen mit modernsten genomischen und phänomischen Methoden nötig (Assefa et al. 2019; D'Agostino und Tripodi 2017; Halewood et al. 2018; Jha et al. 2014; Schwember et al. 2017; van Treuren und van Hintum 2014). Diese Methoden sind gleichzeitig wichtige Werkzeuge für das effiziente Management von Genbanken (Halewood et al. 2018; Henry 2014; van Treuren und van Hintum 2014).

Die Charakterisierung genetischer Ressourcen bildet eine wesentliche Grundlage für deren Erhaltung und Nutzung. Im Speziellen pflanzengenetische Ressourcen (PGR) sind unwiederbringliche Rohstoffe, die eine genetische Verbesserung der Kulturpflanzen ermöglichen. Ein erster Schritt der Charakterisierung ist die Analyse vorhandener genetischer Diversität, welche mittels Anwendung von DNA-basierten, molekularen Markern ermöglicht wird. Das Vorläuferprojekt CharAccess hatte die Beschreibung ausgewählter Genbankherkünfte zum Inhalt (Ribarits et al. 2019). Sequenz- und Phänotypisierungsdaten sind dabei wichtige Informationen, die für mögliche Nutzer:innen ein deutlich verbessertes Serviceangebot darstellen. Es wird so möglich, Interessierten die gewünschten Daten für die Auswahl

geeigneter Akzessionen rasch zur Verfügung zu stellen. Nach entsprechenden Vorarbeiten und Aufbereitung der Daten können Züchter:innen die einzelnen Akzessionen der Genbank gezielt nach den gewünschten Eigenschaften durchsuchen. Ein weiterer Nutzen dieses Ansatzes ist die Bereitstellung molekularer Marker. Tatsächlich sind moderne molekulare Werkzeuge zur Charakterisierung der genetischen Ressourcen und die Entwicklung molekularer Marker einerseits und die umfassende phänotypische Charakterisierung der Pflanzen andererseits wesentliche Elemente einer integrierten Züchtungsstrategie zur Verbesserung der Hitzetoleranz (Driedonks et al. 2016; Jha et al. 2014; Traub et al. 2018).

Markerunterstützte Selektion ist ein wichtiges Werkzeug in der Bohnenzüchtung (Assefa et al. 2019; Gujaria-Verma et al. 2016; López-Hernández und Cortés 2019; Pandey et al. 2016; Sedlar et al. 2019). Zur Bestimmung der genetischen Diversität wurden meist Mikrosatelliten (SSR)-Marker verwendet, mithilfe derer unter anderem Käferbohnen-Landrassenpopulationen charakterisiert wurden (Bitocchi et al. 2017; Sicard et al. 2005; Spataro et al. 2011; Rodriguez et al. 2013; Mercati et al. 2015). Next Generation Sequencing (NGS) Techniken sind mittlerweile aufgrund gesunkener Kosten und erhöhter Effizienz die Methode der Wahl für die Untersuchung genetischer Hintergründe (Guerra-García et al. 2017; Varshney et al. 2018). Single nucleotide polymorphism (SNP)-Marker bieten gegenüber den bisherigen Markersystemen eine Reihe von Vorteilen (Thomson 2014) und sind daher derzeit am weitesten verbreitet (Assefa et al. 2019). Sie wurden auch zur Charakterisierung von *Phaseolus*-Material eingesetzt (Ariani et al. 2016; Lioi et al. 2019). Nicht zuletzt ist ein Vorteil der Genotyping-by-sequencing (GBS) Methode, dass ein Teil des Genoms markerunabhängig sequenziert wird, Sequenzunterschiede zwischen Individuen miteinander verglichen und, im Falle einer Verbindung mit dem Phänotyp, putative Marker für eine bestimmte Eigenschaft entwickelt werden können. Diese Verbindung zwischen GBS und GWAS (Genomweite Assoziationsstudien) führte bisher bei vielen wirtschaftlich genutzten Pflanzen zur Charakterisierung von Markern, welche an gewünschte Eigenschaften gekoppelt sind (D'Agostino und Tripodi 2017; Varshney et al. 2018; Valdisser et al. 2016; Sudan et al. 2019). Diese Methode wurde im Projekt CharAccess bereits erfolgreich verwendet (Ribarits et al. 2019). Im Nachfolgeprojekt CharAccess II soll der Ansatz um die Anwendung einer Hochdurchsatz-Multiplex-Genotypisierungsmethode basierend auf dem MassARRAY® (Ellis and Ong 2017) ergänzt werden. Eine ähnliche Methodenkombination wurde von Sudan et al. (2019) für *Brassica juncea* beschrieben.

## 2.2 Projektziele

Das Projekt CharAccess II diente – als Nachfolgeprojekt von CharAccess (10/2017 - 09/2019) der Unterstützung der Züchtung von hitzetoleranten Käferbohnsorten. Ziele waren die genotypische und phänotypische Charakterisierung von in der österreichischen Genbank gelagerten Käferbohnenherkünften, gegebenenfalls die Bereitstellung hitzetoleranter Akzessionen, sowie die Entwicklung molekularer Marker für die Nutzung in der Züchtung. Damit wurden direkt verwertbare Grundlagen für die Züchtung verbesserter, hitzetoleranter Sorten geschaffen, die den Anbau der Käferbohne als landeskulturell wichtige Kulturart sicherstellen sollen.

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Sammlung, Herkunft und Auswahl des Saatguts für den Anbau

Vor dem Projektstart wurde eine Übersicht über verfügbares Saatgut für den Glashausversuch erstellt, wobei Zugriff auf Saatgut aus verschiedenen Quellen bestand.

Der Großteil des Saatgutmaterials war über die AGES Genbank in Linz verfügbar. Hier konnte einerseits auf jene Muster zugegriffen werden, welche bereits in CharAccess genotypisiert und teils phänotypisiert wurden. Andererseits wurde der Sammlung Material entnommen, welches im Vorläuferprojekt nicht untersucht worden war. Zusätzlich hatte die Genbank auch Material von zwei Sorten (Prijswinner, Hammonds Dwarf Scarlet) vorrätig. Weitere Käferbohnen-Sorten wurden dankenswerterweise von der Landesversuchsanstalt für Spezialkulturen in Wies zur Verfügung gestellt. Diese waren zum einen die charakteristische Steirische Käferbohne Bonela (Referenz), die in der österreichischen Sortenliste eingetragene Sorte Melange, sowie ältere Sorten (Steirische Riesen, Hara, Choco, Hellviolette, Aldrian). Auch eine niederländische Sorte (Lady Di) wurde über die Landesversuchsanstalt bereitgestellt.

Mehrere in CharAccess untersuchte Käferbohnen-Akzessionen, welche aufgrund ihrer phänotypischen Charakteristika im Vorläuferprojekt eine besondere Toleranz gegenüber Hitzestress und vergleichsweise hohe Erträge zeigten, wurden in Kooperationen mit der DNW-Versuchswirtschaft Groß-Enzersdorf der Universität für Bodenkultur Wien sowie der Saatzucht Gleisdorf GmbH im isolierten Anbau vermehrt, um ausreichend Material für Anbauversuche und gegebenenfalls Züchtungsarbeiten bereitzustellen. Diese Akzessionen standen vor Projektstart ebenfalls zur Verfügung.

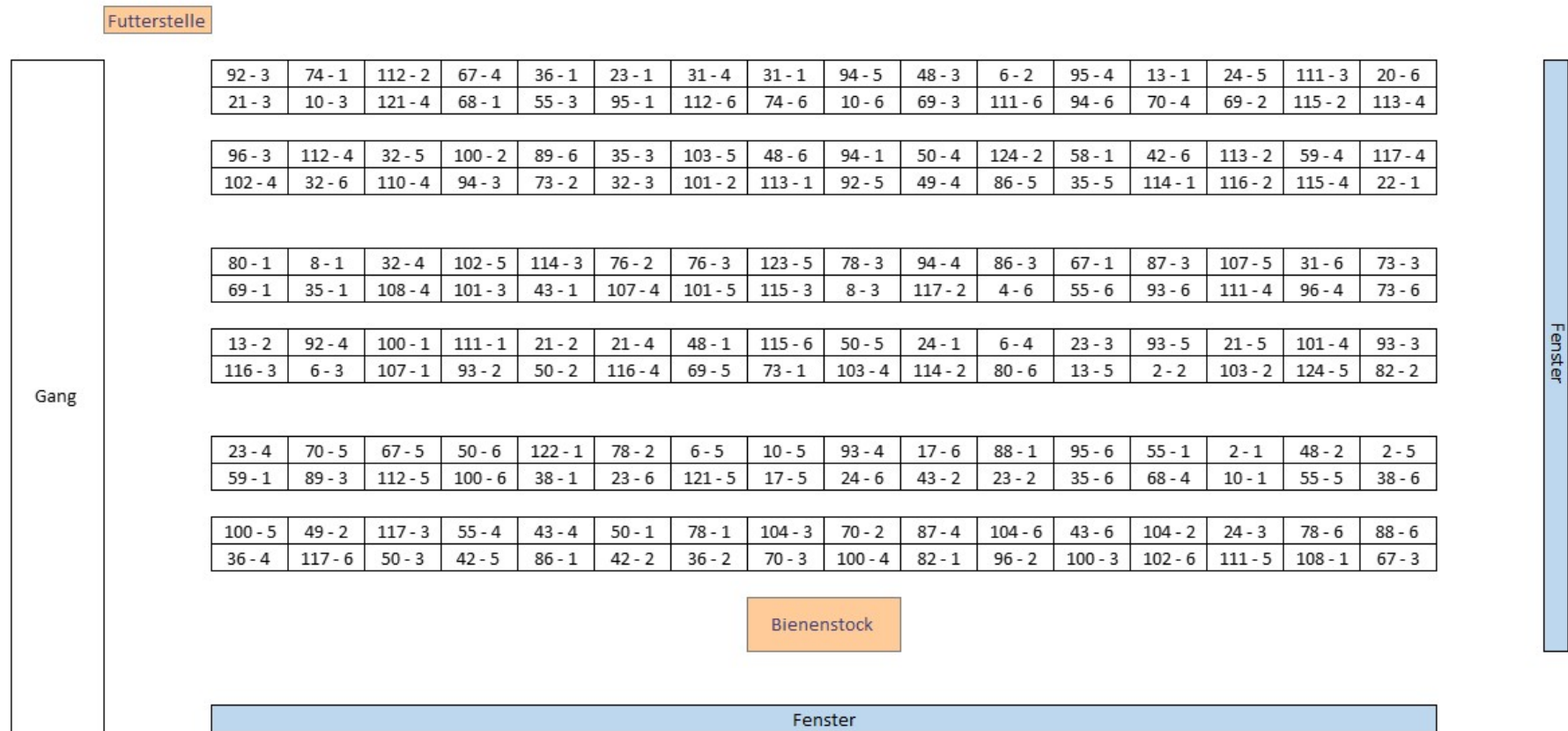
Vier weitere Akzessionen wurden von der Saatzucht Gleisdorf GmbH bereitgestellt. Dabei handelt es sich zum einen um zwei spanische Akzessionen (PHC-13 und PHC-15), welche von der Genbank der CSIC (Spanish National Research Council, Prof. Antonio De Ron) bezogen wurden und bei denen aufgrund ihrer Herkunft eine hohe Hitzestresstoleranz zu erwarten ist, und zum anderen um zwei neue Zuchtlinien (B1208 und B1604). Diese sind eine Auslese aus Bonela Standardmaterial, welche seit 2012 (B1208) bzw. 2016 (B1604) selektiert, geselbset oder isoliert vermehrt wurden. Beide Linien zeigten bei Anbauversuchen der Saatzucht Gleisdorf GmbH Eigenschaften (reduzierter Wuchstyp, weniger Blattmasse, frühere Abreife der Bohnen), die eine Hitzetoleranz begünstigen.

Begrenzt durch die im Glashaus zur Verfügung stehenden Kapazitäten konnten insgesamt nur 64 Akzessionen und Sorten angebaut werden, sodass eine Selektion aus dem zur Verfügung stehenden genetischen Material vorgenommen werden musste (vgl. Tabelle 16). Für den Anbau ausgewählt wurden die zwei spanischen Akzessionen, die zwei Zuchtlinien der Saatzucht Gleisdorf GmbH, weiters acht Akzessionen und eine Sorte (Hara), welche im Vorläuferprojekt CharAccess eine höhere Ertragsleistung lieferten als die Referenzsorte Bonela. Sechs dieser Akzessionen stammten aus den Vermehrungen 2019 und zwei aus der Genbank Linz. Außerdem wurden die sechs Sorten Melange, Steirische Riesen, Lady Di, Choco, Hellviolette und Aldrian angebaut. Aus der Sammlung der Genbank in Linz wurden 15 Käferbohnen-Akzessionen für den Anbau selektiert, welche bisher weder genotypisiert, noch phänotypisiert wurden. Die Auswahl der weiteren Akzessionen erfolgte mit Hilfe des in CharAccess erstellten genetischen Stammbaums, und zielte darauf ab, eine möglichst breite genetische Vielfalt abzudecken. So wurden die restlichen zur Verfügung stehenden Stellplätze mit 27 Akzessionen und 3 Sorten (Bonela, Hammonds Dwarf Scarlet, Prijswinner) belegt, welche bereits in CharAccess genotypisiert und in Einzelfällen phänotypisiert wurden.

### **3.2 Aufzucht der Jungpflanzen im Glashaus Wien**

Das gesamte Experiment (inklusive Aufzucht) fand in den Glashäusern der AGES in der Spargelfeldstraße, 1220 Wien statt. Je Akzession oder Sorte wurden 20 Samen, bei denen die Schale rückseitig des Nabels zunächst leicht mit einem Skalpell eingeritzt wurde, angesetzt. Am 18.06.2020 wurde jeweils ein Samen pro Topf (9x9x9,5 cm, Göttinger Etikettentöpfe) 2 cm tief angesät. Als Substrat wurde Floragard Spezialsubstrat (Gemisch aus wenig bis stark zersetztem Hochmoortorf, kohlen saurem Kalk, Ton, mineralischem Kalk- und Magnesiumdünger sowie mineralischem Mehrnährstoffdünger) verwendet. Beim Anbau der Samen wurde auf gleiche Verhältnisse (Befüllung, Saattiefe, Wasserverhältnisse) in den einzelnen Töpfen geachtet, um gleichmäßigen Aufgang und Entwicklung der einzelnen Pflanzen zu gewährleisten. Der Großteil der Akzessionen wies gute Keimraten auf, lediglich bei Akzession Nr. 122 (PHC-0015) keimten nur drei Samen. Am 30.06.2020 (12 Tage nach Anbau) wurden 6 gut entwickelte Individuen je Akzession, Sorte oder Linie selektiert und in Rundtöpfe mit 30 cm Durchmesser umgesetzt. Die umgetopften Pflanzen wurden vollständig randomisiert über zwei Glashausabteile verteilt aufgestellt (Abbildung 1 und Abbildung 2). Als Rankhilfen kamen 3 m hohe Stecken zum Einsatz. Die Bewässerung erfolgte anfangs automatisch über ein Bewässerungssystem und in weiterer Folge manuell.

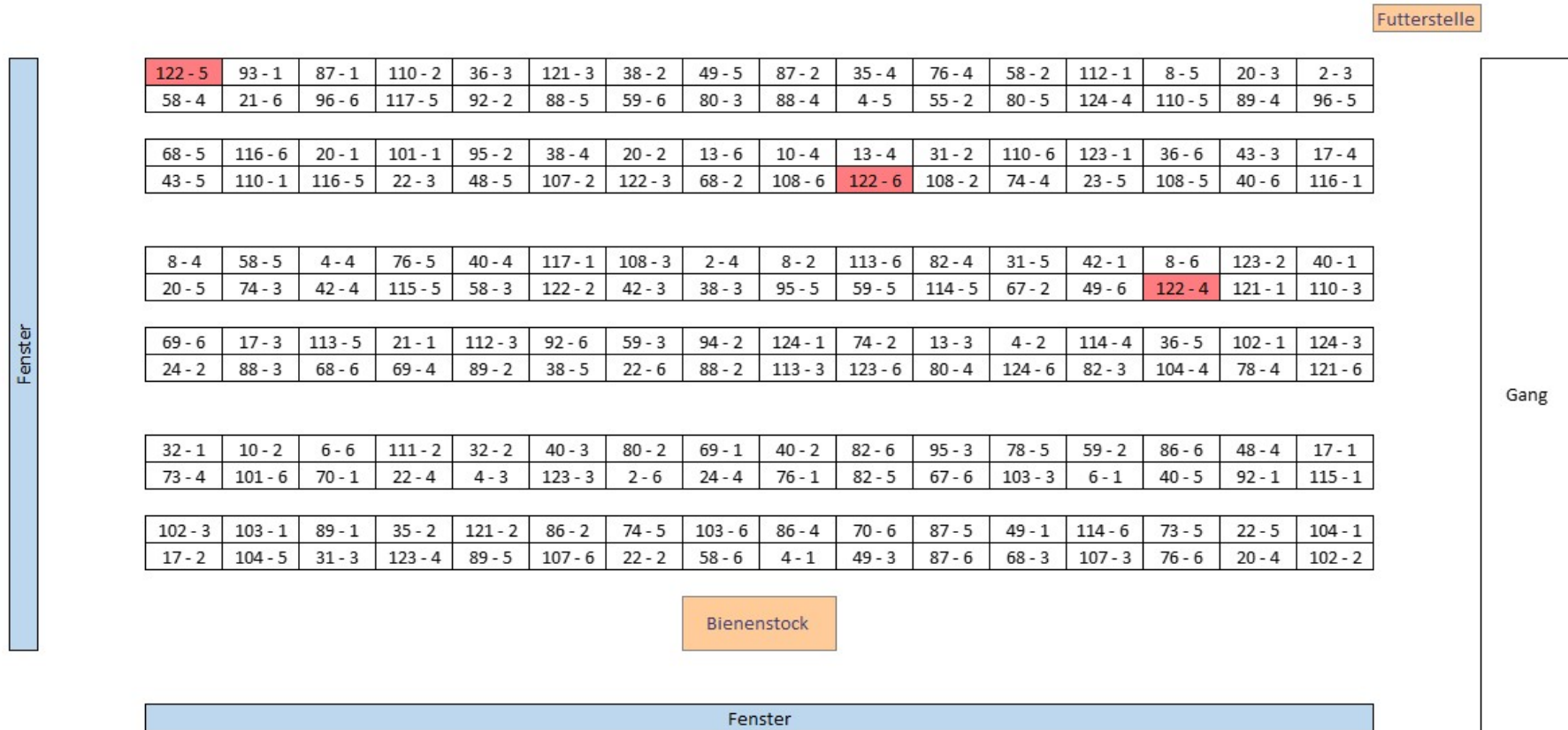
Abbildung 1: Stellplan der 192 in Glashaus 1 aufgezogenen Käferbohnen.



Die erste Zahl innerhalb einer Zelle gibt die Akzessionsnummer, die zweite Zahl die Nummer des Individuums (1 bis 6) wieder. Die Standorte des Bienenstocks und der Futterstelle sind ebenso vermerkt wie die Fensterfronten des Glashausabteils.



Abbildung 2: Stellplan der 192 in Glashaus 2 aufgezogenen Käferbohnen.



Die erste Zahl innerhalb einer Zelle gibt die Akzessionsnummer, die zweite Zahl die Nummer des Individuums (1 bis 6) wieder. Die Standorte des Bienenstocks und der Futterstelle sind ebenso vermerkt wie die Fensterfronten des Glashausabteils. Aufgrund der geringen Keimfähigkeit des Saatguts der Akzession Nr. 122 (PHC-0015, vgl. 4.2) konnten nur drei Individuen dieser Akzession ins Glashaus gestellt werden. Die leeren Stellplätze dieser Akzession im Glashaus sind auf dem Plan rot markiert.

### 3.3 Pflanzenschutz und Behandlung im Kulturverlauf

Im Laufe des Projekts wurde ein hoher Schädlingsdruck beobachtet. Es kam zu Schädlingsbefall durch Blattläuse, Baumwanzen, Thripse und Spinnmilben. Um dem Druck entgegen zu wirken wurden Nützlinge eingesetzt. Zum überwiegenden Teil wurden Raubmilben (sowie Gallmücken), genauer *Amblyseius californicus*, *Amblyseius swieskii*, *Amblyseius andersoni*, *Phytoseiulus persimilis*, *Macrolophus caliginosus* und *Feltiella acarisuga* verwendet. Zweimalig erfolgte eine Behandlung mit Kaliseife, welche auf die Unterseite der Blätter gesprüht wurde. In besonderer Rücksicht auf die Bienen, welche für die Bestäubung im Glashaus angesiedelt wurden, wurden keine aggressiveren Pflanzenschutzmittel verwendet.

### 3.4 Temperaturverlauf und Hitzestress

Während der gesamten Versuchsdauer wurde in beiden Glashausabteilen mit Hilfe von Sensoren durchgängig der Temperaturverlauf gemessen. Die Regelung der Innentemperatur wurde mit Hilfe von Schattierungen sowie dem Öffnen und Schließen von Lüftungsclappen bewerkstelligt. Die Abweichung der gemessenen Temperaturen zwischen den beiden Glashausabteilen (GH 1 und GH 2) war minimal und ist über die Dauer des Versuches zu vernachlässigen, sodass für alle angebauten Individuen dieselben Temperaturbedingungen vorlagen.

Bedingt durch den verzögerten Projektstart und den im Vergleich zu CharAccess deutlich späteren Anbau, verlagerte sich die Wachstumsphase der Käferbohnen im Projekt auf die heißen Sommermonate Juli und August. Bewegte sich die maximale Temperatur im Glashaus im Vorgängerprojekt CharAccess während der Wachstumsphase und vor Ansetzen des Hitzestresses im Bereich von ca. 23 °C bis max. 30 °C, so wurden beim hier beschriebenen Versuch fast täglich Temperaturen von über 30 °C im Glashaus gemessen. Viele wissenschaftliche Studien zu Hitzestressversuchen bei Bohnen aus der Gattung *Phaseolus* legen den Hitzestress mit 32 °C an (Ofir et al. 1993, Gross und Kigel 1994, Porch und Jahn 2001). Die nachfolgenden zwei Abbildungen geben daher die tägliche Anzahl der registrierten Stunden mit Temperaturen über 32 °C je Glashausabteil über die gesamte Laufzeit des Glashausversuchs wieder (Abbildung 3 und Abbildung 4). Aufgrund der ohnehin schon hohen Temperaturen und dem damit einhergehenden Hitzestress, der auf die Pflanzen einwirkte, wurde im Gegensatz zu CharAccess auf das künstliche Ansetzen von Hitzestress mittels Einschalten der Heizung im Glashaus verzichtet. In CharAccess waren die Pflanzen 4 Wochen lang einem täglichen, vierstündigen Hitzestress von 35 °C ausgesetzt.

Abbildung 3: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 32 °C im GH 1 über den Versuchszeitraum.

	29.06.- 05.07.	06.07.- 12.07.	13.07.- 19.07.	20.07.- 26.07.	27.07.- 02.08.	03.08.- 09.08.	10.08.- 16.08.	17.08.- 23.08.	24.08.- 30.08.	31.08.- 06.09.	07.09.- 13.09.	14.09.- 20.09.
Mo		6,4	0	4,6	7,6	0	8,8	0	0	0	0	0
Di	0	0	0	4,6	9,6	0	3,2	0	0	0	0	0
Mi	5,8	0,4	2,6	2,6	4,4	0	7,4	0	0	0	0	0
Do	4,6	0	0	4,2	9,4	0	5,8	6,2	0	0	0	0
Fr	0	8,8	0	2	8,4	7	0	6	0	0	0	0
Sa	0,2	0	0	0,6	7,8	9,4	0	5,8	0	0	0	
So	6,6	0	0	1,6	2,8	8,6	1	0,2	0	0	0	

Tage mit weniger als 4 gemessenen Stunden über 32 °C sind gelb, Tage mit über 4 gemessenen Stunden über 32 C rot hinterlegt.

Abbildung 4: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 32 °C im GH 2 über den Versuchszeitraum.

	29.06.- 05.07.	06.07.- 12.07.	13.07.- 19.07.	20.07.- 26.07.	27.07.- 02.08.	03.08.- 09.08.	10.08.- 16.08.	17.08.- 23.08.	24.08.- 30.08.	31.08.- 06.09.	07.09.- 13.09.	14.09.- 20.09.
Mo		3,8	0	3,4	6,4	0	8,2	0	1	0	0	0,4
Di	1,2	0	2,6	4,4	9	0	4,2	0	0	0	0	0
Mi	5,4	0	2,4	3,2	3,8	0	7,4	0	2,4	0	0	0
Do	3,4	0	0	4	8,8	0	5,2	5,8	0	0	0	0
Fr	0	8,2	0	2	7,6	6,6	0	6	1,8	0	0	0
Sa	0	0	0	0	7,8	8,6	0	5,8	0	2	0	
So	5,2	0	0	1	2,8	8	0,6	0	0	0	1,8	

Tage mit weniger als 4 gemessenen Stunden über 32 °C sind gelb, Tage mit über 4 gemessenen Stunden über 32 °C rot hinterlegt

### **3.5 Bestäubung durch Bienenbeflug**

Um die für die Hülsenausbildung notwendige Bestäubung der Käferbohnen sicherzustellen, wurde am 20.07.2020 je ein Honigbienen Volk in jedes der beiden Glashausabteile gestellt. Die Bienen wurden während des gesamten Versuches an jedem Boniturtag (Montag, Mittwoch, Freitag) an Futterstellen mit Honigwasser gefüttert und mittels Wasserstellen mit Wasser versorgt. Um die Käferbohnen-Blüten für die Bienen attraktiver zu machen, wurden die Futterstellen immer erst nachmittags aufgefüllt. Die Bienen konnten während des gesamten Versuchs ins Freie, außer wenn die Lüftungsklappen der Glashäuser geschlossen waren. Die Belüftung erfolgte automatisch mittels Temperaturmessungen. Nach der letzten Bonitur am 17.09.2020 wurden die Bienenstöcke wieder im Freiland aufgestellt.

### **3.6 Bonitur der Blüten**

Die Bonitur der Blüten startete am 15.07.2020, als die ersten Blüten an den Käferbohnen beobachtet wurden. Bei der Bonitur wurde von jedem Individuum die Anzahl der Blüten erfasst, die an diesem Tag geblüht haben. Eine Blüte wurde ab dem Öffnen der Knospe bis zum Verwelken der Fahne als blühend gewertet. War die Blütenknospe noch nicht geöffnet, oder sowohl Flügel als auch Fahne bereits verwelkt, wurde die Blüte nicht gezählt. Außerdem wurden die Blütenfarbe und das Datum der ersten Blüte jeder Pflanze notiert. Die Bonitur der Blüten wurde vom 15.07.2020 bis 18.09.2020 an jedem zweiten Wochentag (Montag, Mittwoch, Freitag) durchgeführt, wobei an jedem Boniturtermin alle Individuen der 64 Akzessionen und Sorten überprüft wurden. Die Bonitur fand jeweils zwischen ca. 08:30 und 12:00 Uhr statt. Insgesamt wurden die Blüten an 29 Terminen bonitiert.

### **3.7 Bonitur der Hülsen und Hülsenansätze**

Die Bonitur der Hülsen begann mit dem 31.07.2020, als die erste Hülse mit einer Länge  $> 5$  cm auf einer Pflanze beobachtet wurde. Fortlaufend wurde an allen Käferbohnen-Pflanzen die tagesaktuelle Hülsenanzahl an den Boniturtagen Montag, Mittwoch und Freitag festgestellt. Die Bonitur der Hülsen fand jeweils zwischen ca. 08:30-12:00 Uhr statt. Neue Hülsen, die größer als 5 cm waren, wurden auf dem Bonitur-Blatt vermerkt. Jede vermerkte Hülse wurde einmalig mit Acrylfarbe am Stiel markiert und mit einem Fähnchen versehen, um eine wiederholte Zählung der Hülse zu vermeiden und um leichter feststellen zu können, wo eine Hülse abgeworfen wurde. Zusätzlich wurden bei jeder Bonitur die an vorherigen Bonitur-Terminen bereits notierten Hülsen ( $> 5$  cm) auf Hülsenabwurf hin untersucht. Ein Abwerfen von Hülsen wurde

entsprechend auf dem Boniturblatt vermerkt. Dabei konnte das Fehlen einer Hülse anhand der bereits auf dem Boniturblatt erfassten Hülsenanzahl festgestellt werden, da jede einzelne Hülse einer Pflanze zugeordnet war.

Zusätzlich zu den Hülsen wurden ab dem 10.08.2020 auch die Hülsenansätze bei jedem Boniturtermin gezählt. Diese sind definiert als jene – wenige Millimeter großen – Ansätze, die aus erfolgreich befruchteten Blüten entstehen. Ab einer Länge von 5 cm wurde ein Hülsenansatz als vollwertige Hülse gezählt und entsprechend der oben beschriebenen Methode vermerkt. Im Gegensatz zu der Bonitur der Hülsen wurde nicht jeder einzelne Hülsenansatz markiert, sondern nur die Gesamtzahl der Hülsenansätze pro Individuum erfasst. Welche Hülsenansätze abgeworfen wurden, lässt sich aufgrund dieser Zählweise nicht mit absoluter Genauigkeit feststellen. Dennoch geben die Daten einen guten Überblick über den Bestäubungserfolg sowie das Potenzial der Pflanzen, in weiterer Folge Hülsen auszubilden.

Die letzte Bonitur der Blüten, Hülsen und Hülsenansätze im Glashaus erfolgte am 18.09.2020.

### **3.8 Ernte der Hülsen und Bohnen**

Um den Pflanzen Zeit für die Abreife der Hülse zu geben, wurden die Pflanzen für rund einen Monat nach dem letzten Boniturtermin der Blüten, Hülsen und Hülsenansätze im Glashaus unter kontrollierten Bedingungen belassen. Erst am 14.10.2020 erfolgte die Ernte der gut ausgebildeten und bis zum 18.09.2020 bonitierten Hülsen (> 5 cm). Die Boniturblätter halfen bei der Bestimmung der zu erntenden Hülsen je Individuum, und Fähnchen unterstützten das Auffinden der Hülsen inmitten der zwischenzeitlich üppig entwickelten Blätter der Käferbohnenpflanzen. Hülsen, welche nicht bis zum letzten Boniturtermin auf dem Boniturblatt verzeichnet und mit einem Fähnchen versehen worden waren, nun aber eine Länge > 5 cm erreicht hatten, wurden nicht geerntet.

Nach der Ernte wurden die Hülsen im Trockenschrank bei 30 °C für 48 Stunden getrocknet, um Schimmelbildung vorzubeugen. Anschließend wurden die getrockneten Hülsen gewogen und die Bohnen aus der Hülle gebrochen. Hülsen, welche im Zeitraum nach dem finalen Boniturtermin und vor der Ernte stark verkümmert waren und keine Bohnenansätze in der Hülse aufwiesen, wurden verworfen und nicht gezählt (Abbildung 5).

Abbildung 5: Beispiel für zwei bonitierte, aber anschließend verkümmerte, Hülsen.



Beide Hülsen wurden verworfen und gingen nicht in die finale Anzahl der gezählten Hülsen für das Individuum ein.

Die geernteten Bohnen pro Individuum wurden anschließend gezählt und gewogen. Stark verkümmerte Bohnen, die weder die für das Individuum charakteristische Bohnenfarbe noch Bohnenform aufwiesen, wurden verworfen und nicht gezählt (siehe Abbildung 6).

Abbildung 6: Unterschiedlich gut entwickelte Käferbohnen.



Die linke Bohne wurde als entwickelt gezählt, die beiden stark verkümmerten Bohnen auf der rechten Bildhälfte wurden verworfen und nicht zu den ausgebildeten Bohnen des entsprechenden Individuums dazugezählt.

### 3.9 Aufbereitung genetischer Daten

In CharAccess wurde für 94 Akzessionen der Genotyp erhoben, indem Blattmaterial von 8 Individuen pro Akzession entnommen und deren DNA mittels Restriction site associated DNA sequencing (RADseq) analysiert worden war.

## Bioinformatische Analyse der RADseq Daten

Die Sequenz-Rohdaten wurden am Server des AITs mittels der Software fastq-multx (<https://github.com/brwnj/fastq-multx>) ge-demultiplexed. Die weitere Analyse der RADseq Daten erfolgte mittels der Software ipyrad v.0.9.56 in sieben Schritten (Eaton und Overcast 2020):

- 1) Laden der Sequenzen pro Probe
- 2) Qualitätsfilterung
- 3) Clustering/Mapping der Sequenzen pro Probe
- 4) Bestimmung der Fehlerrate und Heterozygotität
- 5) Allele Calling
- 6) Clustering & Mapping über alle Proben
- 7) SNP Auswahl und Erstellung der Ausgabedateien.

Zur Ausführung wurde eine Datei erstellt, welche die nötigen Parameter für alle Schritte enthielt (params8.txt). Der Parameter „min samples per locus“ wurde auf 80 % eingestellt. Somit musste der RAD-SNP in mindestens 593 Proben vorkommen, damit er in den Datensatz mitaufgenommen wurde. Zusätzlich wurden folgende Parameter eingestellt: Phred Oscore offset (43), Max low quality base calls (5) und Max alleles per site in consensus (2). Aufgrund verschiedener Qualitätsfilter reduzierte sich die Anzahl der ausgewählten RAD-SNPs von 149.294 auf 4.175 (Tabelle 1).

Tabelle 1: Schritte der Qualitätsfilterung der RAD-SNPs aus den Sequenz Rohdaten zum finalen Datensatz Assembl\_201006\_80 mit 4.175 RAD-SNPs.

Filter Parameter	Anzahl der RAD-SNPs
total_prefiltered_loci	149.294
filtered_by_rm_duplicates	145.195
filtered_by_max_indels	145.118
filtered_by_max_SNPs	145.071
filtered_by_max_shared_het	144.578
filtered_by_min_sample	4.175
total_filtered_loci	<b>4.175</b>

Aufgrund der geringen Abdeckung (weniger als 10.000 Reads pro Probe) wurde je eine Probe pro Akzession Nr. 26, Nr. 28, Nr. 30, Nr. 36, der Sorte Lady Di (Nr. 92) und zwei Proben der

Akzession 64 exkludiert. Weiters wurden aufgrund von mangelnder Qualität je eine Probe der Akzession Nr. 4 und 75 durch die Software ipyrad exkludiert. In Summe blieben 741 Proben für die weitere Analytik bestehen.

Insgesamt ergab sich aus der bioinformatischen Analyse der finale Datensatz Assembl\_201006\_80 mit 4.175 RAD-SNPs und 741 Individuen. Die resultierenden VCF Datei wurde mittels der Software vcftools (<http://vcftools.sourceforge.net/>) ohne weitere Filter in eine 012-Matrix umgewandelt. Diese Matrix wurde mittels eines selbst entwickelten Python-Scripts in ein CSV für die weitere (Assoziations-) Analytik umgewandelt.

### **Aufbereitung der genetischen Daten für die Assoziationsanalysen**

Mittels des R Pakets adegenet (Jombart 2008) wurde die Anzahl der 4.175 RAD-SNPs wiederum auf 1.190 reduziert. Es wurden die RAD-SNPs selektiert, die sowohl weniger als 20 % fehlende Daten enthielten, als auch polymorph ( $MAF > 1\%$ ) waren. In den Fällen, in denen mehr SNPs pro RAD-tag präsent waren, wurde jeweils ein SNP ausgewählt, um Linkage Disequilibrium zu vermeiden.

## **3.10 Assoziationsanalysen**

Die Assoziationsanalyse des Geno- und Phänotyps wurde mittels des R Pakets LEA durchgeführt (Frichot und Francois 2014). Die Anwendung der lfmm (latent factor mixed model) Funktion erfolgte anhand der neuesten Ausgabe des LEA Tutorials (Frichot und Francois 2017). Für jedes phänotypische Merkmal wurden individuelle Analysen durchgeführt. Da für die Assoziationsanalyse vollständige Genotypdaten erforderlich sind, wurden, wie im Tutorial empfohlen, fehlende Werte (NAs) mit der Funktion snmf (sparse nonnegative matrix factorization) nachberechnet. Die Anzahl der latent factors wurde für jede Analyse mittels snmf Funktion und Tracy Widom Test neu berechnet und entsprach in allen Fällen  $K=3$ . Die folgenden Parameter wurden für die snmf Funktion gewählt:  $K(1:10)$ , entropy (TRUE), repetitions (10). Als Parameter für die lfmm Funktion wurden iteration (10.000), burnin (5.000), repetitions (5) gewählt. Für die Ergebnisliste der assoziierten Loci wurde die FDR (false discovery rate) der p-values auf 0,01 gesetzt.

### **Assoziationsanalyse I**

Von den 741 sequenzierten Individuen wurden 261 in CharAccess im Glashaus angebaut und phänotypisiert. In der Assoziationsanalyse I wurde der Geno- und Phänotyp jedes Individuums



miteinander assoziiert. Dafür wurden acht verschiedene phänotypische Merkmale berücksichtigt (Tabelle 2).

Tabelle 2: Bedeutung der phänotypischen Merkmale, die während dem Hitzestress bonitiert und in der Assoziationsanalyse weiter untersucht wurden. Die fett markierten Merkmale wurden für beide Assoziationsanalysen in CharAccess und CharAccess II berücksichtigt. Die übrigen Merkmale wurden nur in CharAccess II erhoben.

<b>Phänotypisches Merkmal</b>	<b>Bedeutung</b>
%_flower_ind	Prozentanzahl der Individuen einer Akzession, die geblüht haben.
<b>Total_NoF</b>	Gesamtanzahl ausgebildeter Blüten.
<b>Total_Max_F</b>	Maximalanzahl an gebildeten Blüten.
Final_NoMP	Finale Anzahl von Hülsenansätzen (< 5 cm) einer Akzession.
Total_MaxMP	Maximalanzahl an Hülsenansätzen (< 5 cm) einer Akzession
%_pods_ind	Prozentanzahl der Individuen einer Akzession, die Hülsen (> 5 cm) gebildet haben.
<b>Final_NoP</b>	finale Anzahl an Hülsen (> 5 cm).
<b>Total_NoB</b>	Gesamtanzahl ausgebildeter Bohnen.
<b>Total_Max_P</b>	Maximalanzahl an gebildeten Hülsen.
<b>Weight_B</b>	Gewicht aller Bohnen.
<b>W_per_B</b>	Durchschnittsgewicht einer Bohne.
<b>NoB_pP</b>	Durchschnittliche Anzahl an Bohnen in einer Hülse.

## Assoziationsanalyse II

Für 45 von den 64 Akzessionen, die in CharAccess II im Glashaus angebaut und phänotypisiert wurden, lagen Sequenzdaten aus CharAccess vor (vgl. Tabelle 16). Für die Assoziationsanalyse II wurde der Geno- und Phänotyp pro Akzession berechnet, da die genotypischen Daten bereits in CharAccess – und damit nicht für die in CharAccess II phänotypisierten Individuen – erhoben worden waren. Für den Genotyp wurde für jeden RAD-SNP das Allel gewählt, das innerhalb der acht Individuen einer Akzession am häufigsten vorkam. Falls das nicht eindeutig erhoben werden konnte, wurde stattdessen „fehlende Daten (NA)“ angegeben.

Der Genotyp der 33 Akzessionen, die in CharAccess angebaut worden waren, wurde nach dem gleichen Prinzip berechnet, damit die Ergebnisse aus den beiden Assoziationsanalysen miteinander vergleichbar sind. Zur Beschreibung des Phänotyps wurden in CharAccess acht und in CharAccess II zwölf verschiedene phänotypische Merkmale erhoben (Tabelle 2).

Diejenigen RAD-SNPs, die sowohl bei den 33 Akzessionen aus CharAccess, als auch bei den 45 Akzessionen aus CharAccess II mit hitzetoleranten phänotypischen Merkmalen signifikant assoziiert waren, wurden zusammengefasst und als Kandidaten für hitzetolerante Marker weiter untersucht.

### **Vorläuferprojekt**

Die Methoden zu den Assoziationsanalysen in CharAccess sind im Abschlussbericht ausführlich beschrieben (Ribarits et al. 2019).

### **3.11 Literaturrecherche**

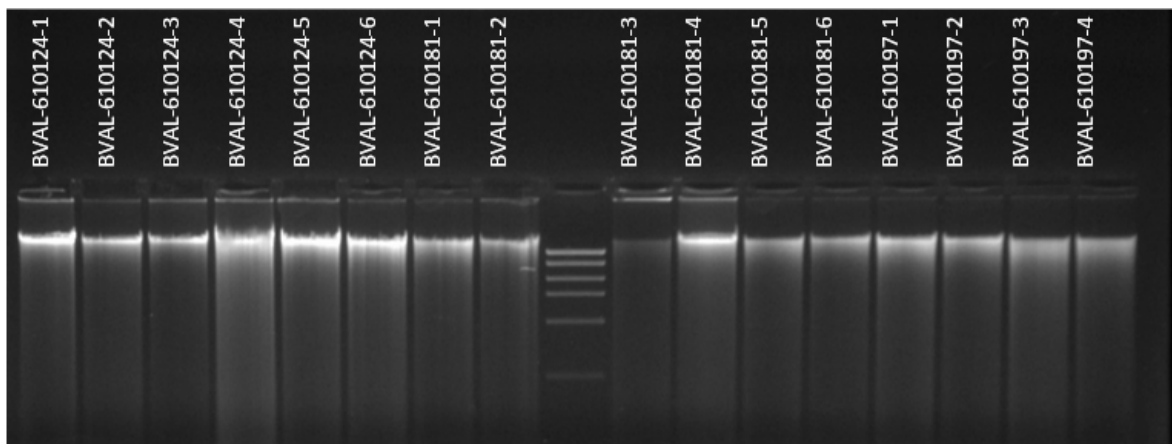
Um zusätzliche SNPs für die Untersuchung im MassARRAY® zu finden, wurde nach Artikeln gesucht, in denen hitzetolerante SNP-Marker in der Pflanzengattung *Phaseolus* beschrieben sind. Ausgewählt wurden zwei Publikationen von López-Hernández und Cortés (2019), sowie Oladzad et al. (2019), in denen genetische Faktoren für Hitzetoleranz in der Gartenbohne (*Phaseolus vulgaris*) beschrieben sind.

### **3.12 Sammlung Blattmaterial für DNA Extraktion**

Die Sammlung des Blattmaterials für die DNA-Extraktion als Basis der Genotypisierung mittels MassARRAY® erfolgte am 29.06.2020. Es wurden 26 Akzessionen beprobt, wovon 7 Akzessionen bereits im Vorläuferprojekt CharAccess genotypisiert worden waren (vgl. Tabelle 16). Für die Beprobung wurden sechs gut entwickelte Jungpflanzen je Akzession selektiert, welche sich zu dem Zeitpunkt größtenteils im Zweiblattstadium befanden. Die Akzession Nr. 122 (PHC-0015) wies eine sehr geringe Keimfähigkeit auf, von den 20 angesetzten Samen entwickelten sich lediglich drei Individuen zu Jungpflanzen heran. Folglich wurden insgesamt 153 an Stelle der ursprünglich geplanten 156 Individuen beprobt. Alle beprobten Individuen wurden anschließend umgetopft, eindeutig zuordenbar beschriftet und in die Glashausabteile gestellt, um die bei den anschließenden Bonituren erhobenen phänotypischen Daten mit den genotypischen Daten verknüpfen zu können. Von jeder Pflanze wurde jeweils ca. 50 mg

Blattmaterial entnommen und in eine auf Eis gelagerte 96-Deep-Well-Platte überführt; weitere 150 mg Blattmaterial wurde als Reservematerial in eine weitere Platte gefüllt. Die befüllten Platten wurden mit einer Verschlussmatte versehen und sofort nach der Beprobung bei -20 °C tiefgekühlt. Anschließend wurde das Blattmaterial dem AIT Austrian Institute of Technology GmbH in Tulln für die durchzuführende DNA Extraktion zur Verfügung gestellt. Bei 12 Proben wies das nach der Extraktion durchgeführte Gelbild eine mangelhafte DNA-Aufbereitung auf, weswegen von diesen Individuen am 10.07.2020 noch einmal Blattmaterial und Triebspitzen gesammelt wurden. Die basierend auf diesem Probenmaterial durchgeführte DNA-Extraktion verlief ohne weitere Probleme. Es konnte eine ausreichende Menge an DNA in guter Qualität extrahiert werden, wie auf dem folgenden Agarosegelbild an den Beispielen BVAL-610124, BVAL-610181 und BVAL-610197 ersichtlich (Abbildung 7). Für die Genotypisierung wurde die DNA 1:5 verdünnt.

Abbildung 7: Agarosegel zur beispielhaften Darstellung der DNA-Qualität.



Als Beispiele dient die DNA Qualität der Akzessionen BVAL-610124, BVAL-610181 und BVAL-610197.

### 3.13 *In silico* Entwicklung MassARRAY® Multiplex Assays

Die RAD-SNPs, die auf Basis der Assoziationsanalysen, aus der Literaturrecherche und aus dem Vorläuferprojekt als hitzetolerante Kandidaten-SNPs gefunden wurden, wurden mittels eines MassARRAY® Multiplex Assays (Agena Bioscience, San Diego, USA) mit der DNA der 153 beprobten Individuen weiter untersucht.

## Design 1

Da für das Design der MassARRAY® Multiplex Assays längere Sequenzen vonnöten sind, wurde die Sequenz des RADtags der Kandidaten SNPs mittels klassischem BLASTn (NCBI) geblastet. Daraufhin wurde die RADtag-Sequenz mit der Sequenz der nächstverwandten Fabaceae (dem besten „blast hit“) komplettiert, sodass rechts und links vom SNP ca. 80-100 Basenpaare zu liegen kamen. Jene SNPs, die auf NCBI nicht gefunden werden konnten (kein „blast hit“) bzw. SNPs, deren Sequenz nicht pflanzlichen Ursprungs war, wurden für das weitere Design exkludiert.

Mittels des integrierten MassARRAY® Assay Designer Software-Programms wurden nun insgesamt vier Versionen des ersten Designs erstellt, welche sich durch Einstellungen wie z.B. hinsichtlich der Multiplexing-Kapazität (36 vs 50) bzw. der Amplikon-Länge (80-100-120 vs 80-100-170) minimal unterscheiden. Aufgrund der im Vergleich zu Version 1-3 geringeren Wahrscheinlichkeit, Primerdimere auszubilden, wurde die Version 4 ausgewählt und davon wurden die Primer für die ersten 4 (von insgesamt 5) Plexe bestellt. Plex 1 enthält 27 Assays (=SNPs), Plex 2 ebenso 27, Plex 3 20, und Plex 4 enthält 10 Assays. Plex 5 mit 2 Assays (RAD\_3146\_19 und S1\_205075622) wurde aufgrund der geringen Anzahl an Assays nicht inkludiert.

## Design 2

Aufgrund von Ausfällen mancher SNPs (keine Calls, monomorphe Calls, Calls in der Negativkontrolle) des Design 1 wurden 28 ausgewählte SNPs einem Neudesign (Design 2) unterzogen. Die jeweilige Sequenz wurde mittels klassischem BLASTn (NCBI) geblastet, aber diesmal unter der Verwendung der Phytozome Datenbank und eingeschränkt auf „Fabidae“. Wie im Design 1 beschrieben, wurde die Sequenz des RADtags mit der Sequenz des besten „blast hits“ erweitert.

Mittels des integrierten MassARRAY® Assay Designer Software Programms wurden neun Versionen des zweiten Designs erstellt, wobei schlussendlich Version 2 zur Anwendung gekommen ist. Von dieser Version wurden 2 Plexe bestellt mit 17 bzw. 9 Assays (SNPs), Plex 3 (welcher nur einen SNP beinhaltet: RAD\_3281\_19), wurde nicht herangezogen. Während des *in silico* Designs kam es bei allen Versionen zu einem „reject“ des SNPs RAD\_3773\_1, welcher somit in keinem der Plexe vorhanden war.

### 3.14 Genotypisieren mittels MassARRAY® Multiplex Assays

Nach entsprechender Einstellung der Konzentrationen aller Primer und der Konzentrationsanpassung des „extend“ Primers und der finalen Erstellung der Primer-Mastermixe, erfolgte die PCR: jede DNA Probe wurde mit dem jeweiligen Multiplex (4 Plexe des Design 1 und 2 Plexe des Design 2) amplifiziert. Nach erfolgter PCR wurde eine SAP Reaktion zur Dephosphorylierung sowie zur Entfernung übriggebliebener dNTPs durchgeführt. Im Anschluss wurde der Extend-Mastermix zu jeder Probe pipettiert und es erfolgte die Extendreaktion am PCR Cycler. Final werden die so entstandenen Reaktionen auf den MassARRAY® Chip gespottet und am MassARRAY® genotypisiert.

Die Rohdaten der MassARRAY® Genotypisierung wurden mittels der integrierten MassARRAY® Typer Software analysiert. Die Calls eines jeden SNPs wurden überprüft und bei Unklarheiten manuell nach-gecallt. Im Anschluss wurden die Ergebnisse als XLS Tabelle exportiert.

### 3.15 Identifizierung des positiven Allels

Für diejenigen SNPs, die im MassARRAY® Assay funktionell und polymorph waren, wurde für die potenzielle Nutzung als Marker für Hitzetoleranz das positive Allel ermittelt. Dafür wurden die Genotypen der RAD-Sequenzierung und des MassARRAY®, sowie der Phänotyp aus den Glashausversuchen in CharAccess und CharAccess II in Verbindung gesetzt. Als Marker für Hitzetoleranz werden nur diejenigen SNPs ausgewählt, die sowohl in den Boxplots als auch in den Berechnungen ein positives Allel tragen, das in beiden Projektjahren zu einer erhöhten Hülsenanzahl führte.

#### Boxplots

Für jeden RAD-SNP wurden zwei vergleichende Boxplots erstellt. Sie zeigen die Anzahl der Hülsen der Akzessionen, die das Referenzallel tragen, gegenüber denjenigen, die das alternative Allel tragen. Als phänotypisches Merkmal wurde die finale Anzahl der Hülsen gewählt (Final\_NoP), da dieses sowohl agronomisch interessant, als auch eine gewisse Diversität innerhalb der Akzessionen aufweist.

Zusätzlich zu den 94 Akzessionen, die in CharAccess sequenziert worden waren, wurden auch die 26 Akzessionen, die im MassARRAY® genotypisiert wurden, für die Boxplots berücksichtigt. Für diese wurde auch ein Akzessionsgenotyp pro RAD-SNP auf Basis des Genotyps, der innerhalb der sechs Individuen einer Akzession am häufigsten vorkam, erstellt. Dadurch lag nun

für alle 64 Akzessionen, die in CharAccess II im Glashaus angebaut wurden, sowie für die 33 Akzessionen, die in CharAccess angebaut worden waren, ein Geno- und Phänotyp vor. Die Individuen der 7 Akzessionen, die sowohl mit RADseq als auch MassARRAY® genotypisiert worden waren, wurden als biologische Replikate zusammengefasst, sodass pro Akzession 14 Individuen den Genotyp repräsentierten.

### **Berechnung des phänotypischen Effekts**

Zusätzlich zu den Boxplots wurde das positivere Allel der SNPs mittels der Computer gestützten Methode berechnet, die von Zhang et al. (2013) beschrieben wurde. Als Grundlage galt der Genotyp der 261 Individuen, die mit RADseq genotypisiert und in CharAccess phänotypisiert wurden, und 153 Individuen, die mit dem MassARRAY® genotypisiert und in CharAccess II phänotypisiert wurden. Als Vergleich der Performanz wurde wieder die finale Anzahl an Hülsen gewählt. Der phänotypische Effekt ( $\alpha_i$ ) von jedem SNP wurde durch den Vergleich des durchschnittlichen phänotypischen Werts der Individuen, die das positive Allel tragen, mit den Wert der Individuen, die das nachteilige Allel enthalten, berechnet:  $\alpha_i$  ist der phänotypische Effekt des  $i$ -ten Allels,  $x_{ij}$  ist der phänotypische Wert der  $j$ -ten Akzessionen mit dem  $i$ -ten Allel,  $n_i$  ist die Anzahl von Akzessionen mit dem  $i$ -ten Allel,  $N_k$  ist der phänotypische Wert über alle Akzessionen,  $n_k$  ist die Anzahl aller Akzessionen.

$$\alpha_i = \sum x_{ij} / n_i - \sum N_k / n_k.$$

Falls der phänotypische Wert über 0 ( $\alpha_i > 0$ ) ist, kennzeichnet es das positive Allel und falls er unter 0 ( $\alpha_i < 0$ ) ist, entspricht es dem nachteiligen Allel.

### **3.16 Berechnung der Hitzetoleranz**

Für die Berechnung der Hitzetoleranz wurde pro Akzession die Anzahl der positiven bzw. nachteiligen Allele über die 18 final ausgewählten SNP Marker hinweg summiert und in weiterer Folge als Prozentwert angegeben (siehe Beispiel Abbildung 8). Dieser Prozentwert gibt Auskunft über das Ausmaß einer potenziellen Hitzetoleranz der jeweiligen Akzession. Im abgebildeten Beispiel ergibt das für die Linie B1208 eine mögliche Hitzetoleranz von 27 % und für die Linie B1604 eine mögliche Hitzetoleranz von 68 %.

Abbildung 8: Beispielberechnung der Hitzetoleranz.

sample		X66_neu	X85_neu	X20_neu	X49_neu	X47	X74					
getauscht	alleles	C/G	C/T	C/T	C/G	A/T	A/G					
behalten	SNP	RAD_220_83	RAD_3146_19	RAD_2589_39	RAD_4014_50	RAD_1199_80	RAD_1340_7					
optional	favAllele	CC	CC	TT	GG	TT	AA					
wieder dazu	unfavAllele	GG	TT	CC	CC	AA	GG					
	average	CG	CT	CT	CG	AT	AG	<b>Tolerance level (fav+unfav alleles)</b>				
								<b>Zellenfarbe</b>	<b>Summe</b>	<b>Prozent</b>		
B1208-1	J09	CC	TT	TT	CC	AA	GG	favAllele	26	97	27%	
B1208-2	L09	CC	TT	CT	CC	AA	GG	unfavAllele	71		73%	
B1208-3	D03	CC	TT	TT	CC	AA	GG					
B1208-4	P09	CC	TT	TT	CC	AA	GG					
B1208-5	A19	CC	AN	CT	CC	AA	GG					
B1208-6	C19	CC	CT	CT	CC	AA	GG					
B1604-1	M09	CC	TT	TT	CC	TT	AA	favAllele	69	102	68%	
B1604-2	O09	CC	TT	TT	CC	TT	AA	unfavAllele	33		32%	
B1604-3	B09	CC	AN	CT	CC	AT	AA					
B1604-4	D09	CC	CC	TT	CC	TT	AA					
B1604-5	F09	CC	CT	TT	CC	TT	AA					
B1604-6	H09	CC	TT	TT	CC	TT	AA					

Beispiel für die Linien B1208 und B1604. Der Ausschnitt zeigt den Genotypen auf 6 RAD-SNPs. Grün = Positives Allel; Violett = Nachteiliges Allel.

### 3.17 Dendrogramme

54 SNPs, die im MassARRAY® Assay Design 1 oder 2 funktionell und polymorph waren, wurden für die Erstellung eines Dendrogramms der 26 genotypisierten Akzessionen bzw. 153 genotypisierten Individuen ausgewählt. Mithilfe des R Paketes adegenet (Jombart 2008) wurden der XLS Datensatz mit den ausgewählten 54 SNP Marker in ein genind-Objekt umgewandelt. In Folge wurde eine Euklidische Distanzmatrix erstellt (R Funktion dist), welche mithilfe der hclust Funktion als Dendrogramm dargestellt wurde.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Zeitlicher Ablauf der Phänotypisierung

Die nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über die wichtigsten Ereignisse der Phänotypisierung der 64 Akzessionen und Sorten im Glashausversuch.

Tabelle 3: Überblick über die wichtigsten Ereignisse im Glashausversuch

Ereignis	Datum
Anbau der Bohnen	18.06.2020
1. molekulare Beprobung	29.06.2020
Umtopfen der Pflanzen	30.06.2020 (12 Tage nach Anbau)
Einsatz Stecken (Rankhilfen)	06.07.2020
2. molekulare Beprobung	10.07.2020
Erste Blüte	15.07.2020
Beginn der Bonitur	15.07.2020 (27 Tage nach Anbau, 15 Tage nach Umtopfen)
Einsatz Bienen	20.07.2020
1. Austausch abgestorbene Pflanze (BVAL-610 392-3)	21.07.2020
2. Austausch abgestorbene Pflanze (BVAL-610 531-2)	23.07.2020
1. Hülse	31.07.2020 (43 Tage nach Anbau, 31 Tage nach Umtopfen)
Beginn Bonitur Hülsenansätze	10.08.2020
Ende Einsatz Bienen	18.09.2020
Ende der Bonitur	18.09.2020 (20 Tage nach Anbau, 12 Tage nach Umtopfen)
Ernte der bonitierten Hülsen	14.10.2020 (118 Tage nach Anbau, 106 Tage nach Umtopfen)



## 4.2 Allgemeine Pflanzenentwicklung im Glashaus

Wenige Tage nach dem Anbau der Käferbohnen am 18.06.2020 (Tabelle 3) erfolgte die hypogäische Keimung beim Großteil der angesetzten Samen (Abbildung 9). Lediglich die Akzession Nr. 122 (PHC-0015) wies eine sehr niedrige Keimfähigkeit auf. Auch bei einem erneuten Ansetzen von 20 weiteren Samen der Akzession Nr. 122 (PHC-0015) keimten keine weiteren Samen, sodass in weiterer Folge nur 3 Individuen von dieser Akzession vorlagen. Am 30.06.2020 wurden pro Akzession 6 gut ausgebildete Individuen selektiert, umgetopft, und vollständig randomisiert in den Glashausabteilen 1 und 2 aufgestellt (vgl. Abbildung 1 und Abbildung 2). Insgesamt wurden folglich 381 Individuen aus 64 Akzessionen/Sorten in die Glashausabteile gestellt. Die meisten Individuen zeigten nach dem Umtopfen ein stabiles Wachstum, lediglich zwei Pflanzen gingen ein, und wurden durch Reservepflanzen derselben Akzession ersetzt. Dabei handelte es sich um die Individuen BVAL-610392-3 und BVAL-610531-2.

Abbildung 9: Angebaute Käferbohnenpflanzen im Zweiblattstadium.



Die Pflanzen befanden sich kurz vor dem Umtopfen und dem Aufstellen in den Versuchsglashausabteilen (30.06.2020). Gut erkennbar sind die rankenden Triebspitzen.

Abbildung 10: Entwicklung der Käferbohnenpflanzen im Glashaus.



Aufnahme vom 20.07.2020 (1), Aufnahme vom 24.08.2020 (2), Aufnahme vom 16.09.2020 (3).

Abbildung 10 zeigt den Wachstumsverlauf der Käferbohnenpflanzen von Juli bis September in einem der beiden Glashaussteile (GH 1). Die vermehrt ausgebildeten Ranken der Pflanzen mussten mehrfach zu den jeweiligen Individuen zurückgebunden werden, um Fehlzählungen bei der Bonitur zu vermeiden. Mitte Juli, einen Monat nach dem Ansetzen der Bohnen, begannen die ersten Individuen zu blühen (Tabelle 3), kurz darauf wurden die für die Bestäubung notwendigen Bienen in den Glashäusern angesiedelt. Die Pflanzen bildeten entweder zartrosa, rote, weiße oder rot-weiße (rote Fahne, weiße Flügel) Blüten aus. Die Blütenfarbe blieb pro Individuum konstant, variierte jedoch innerhalb der Akzessionen.

Nestartig auftretender Spinnmilben-Befall wirkte sich wachstumshemmend auf befallene Pflanzen aus (Abbildung 11). Manche Individuen waren derart stark betroffen, dass der Großteil ihrer Blätter abstarb. Dabei befielen die Milben nicht nur die Blätter, sondern vereinzelt auch die bereits ausgebildeten Hülsen. Der Befall wurde mithilfe von Nützlingen eingedämmt, um die Bienen keinen Pestiziden auszusetzen.

Abbildung 11: Auftretender Spinnmilbenbefall im Glashaus.



Problemherde, von denen aus sich die Spinnmilben auf die umliegenden Pflanzen ausbreiteten, wurden vor allem im GH 2 dokumentiert. Der Einsatz von Nützlingen (= weiße Packungen) konnte das großflächige Absterben von Blattmaterial nicht verhindern. Bei starkem Befall befielen die Spinnmilben auch die Hülsen (vgl. Nahaufnahme einer befallenen Hülse rechts im Bild).

Der andauernde Hitzestress (vgl. Abbildung 3, Abbildung 4) hatte ebenfalls Auswirkungen auf die Pflanzenentwicklung und führte erwartungsgemäß zum verstärkten Abwurf von Blüten sowie Hülsenansätzen (Abbildung 12).

Abbildung 12: Abgeworfene Blüten und Hülsenansätze als Resultat des Hitzestresses.



Fotos aufgenommen am 10.08.2020.

Die für die Bestäubung aufgestellten Bienenvölker benötigten einige Tage, um sich im Glashaus zu orientieren, danach konnten während der gesamten Boniturperiode durchgängig Bienen auf den Blüten beobachtet werden (Abbildung 13). Zusätzlich zu den Blüten als Futterquelle wurden die Bienen alle zwei Tage mit einer Zuckerlösung gefüttert. Dass durch diesen Versuchsaufbau eine erfolgreiche Bestäubung der Blüten gewährleistet werden kann, wurde bereits im Vorläuferprojekt CharAccess festgestellt und konnte auch in CharAccess II erneut bestätigt werden. Der Bestäubungserfolg ließ sich anhand der während der Bonitur gezählten Hülsen und Hülsenansätze festmachen.

Abbildung 13: Verhalten der Honigbienen im Glashaus.



(1) Bienenvolk bei seinem Stock (→ Traubenbildung der Bienen), (2) Bestäubung einer Käferbohnenblüte durch eine Biene, (3) Anflug der Bienen auf die Futterstelle.

Erfolgreich bestäubte Käferbohnenblüten bildeten zunächst sehr kleine Hülsenansätze aus (Abbildung 14). Diese wurden ab einer Größe von 5 cm auf dem Boniturblatt als Hülse vermerkt. Für die Bonitur wurden die Hülsen am Stängel mit Acrylfarbe markiert und anschließend mit einem Fähnchen versehen um festzuhalten, welche Hülsen bereits dokumentiert worden waren. Die Bonitur endete am 18.09.2020 nach insgesamt 29 Boniturterminen, was einer Boniturdauer von 66 Tagen entspricht.

Abbildung 14: Entwicklung der Käferbohnenhülsen im Glashaus.



Oben Blütenstand mit Blütenbildung bzw. bereits wachsenden Hülsenansätzen, unten Nahaufnahme noch nicht abgereifter, aber bereits gut entwickelter, bonitierter Hülsen.

### 4.3 Entwicklung der Blüten

Abbildung 15 zeigt die an jedem Boniturtermin ermittelte kumulierte Blütenanzahl aller im Glashaus stehenden Individuen. Deutlich ist der Effekt der Umgebungstemperatur auf die Blütenbildung der Käferbohne zu erkennen. Von den insgesamt 381 umgetopften und in den beiden Glashausabteilen herangezogenen Pflanzen gelangten über die ganze Versuchsdauer hinweg 315 Individuen zur Blüte, was einem Anteil von 82,68 % entspricht. Innerhalb jeder angebauten Akzession blühte zumindest ein Individuum, bei 26 Akzessionen blühten alle sechs Pflanzen (vgl. auch Tabelle 18 im Anhang). Interessanterweise kam es bei der Blüte der einzelnen Pflanzen zu zeitlichen Verschiebungen. Manche Individuen fingen sehr früh im Projektverlauf an zu blühen und hörten dann schnell wieder auf, manche konnten über die gesamte Dauer des Versuchs die Blüte halten, und manche Individuen fingen erst sehr spät an zu blühen.

Etwa 4 Wochen nach dem Anbau der Pflanzen begannen die ersten Individuen zu blühen (vgl. Tabelle 3). Die erste Blütenausbildung konnte bei je einem Individuum der Sorte Hammonds Dwarf Scarlet (Nr. 70) und Akzession Nr. 78 (BVAL-610487) am 15.07.2020 beobachtet werden. Zwar traten in der Phase vor der ersten Blüte vereinzelt kurze Hitzeperioden auf (vgl. auch Abbildung 27 bis Abbildung 36), aber die Jungpflanzen steckten diese allem Anschein nach verhältnismäßig gut weg. Andere Stressoren waren zu diesem Zeitpunkt noch nicht besonders stark ausgeprägt (Schädlingsdruck, Konkurrenzdruck der umstehenden Pflanzen).

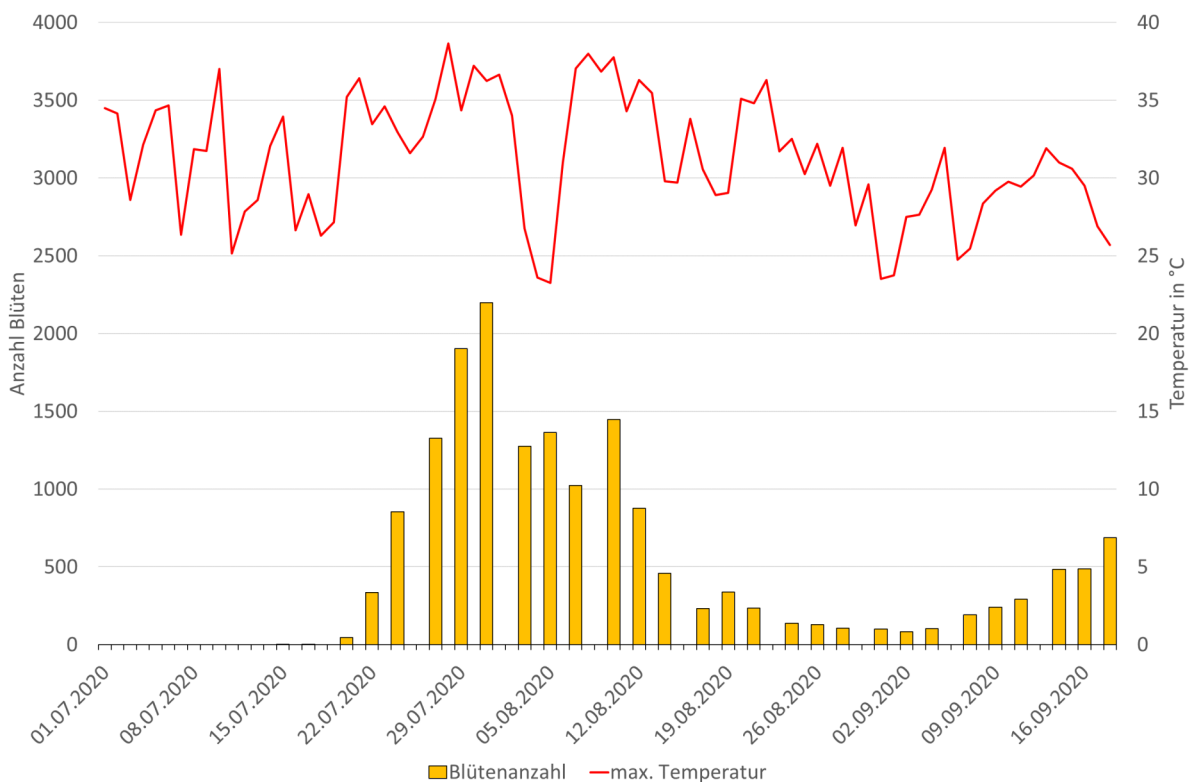
Im weiteren Verlauf steigerte sich die Anzahl blühender Individuen, sodass die Höchstanzahl an blühenden Individuen und die maximale Anzahl an gezählten Blüten (2197) am achten Boniturtermin (31.07.2020) vermerkt wurden. 216 Pflanzen hatten an diesem Tag Blüten ausgebildet, dies entspricht einem Anteil von 56,43 %. Ab dem 20. Juli setzte ein langanhaltender, witterungsbedingter Hitzestress ein, im Zuge dessen die Temperaturen im Glashaus über einen Zeitraum von zwei Wochen hinweg täglich Werte von über 30 °C erreichten. Die Pflanzen reagierten mit leichter zeitlicher Verzögerung auf diesen langanhaltenden Hitzestress und begannen dann damit, ihre Blüten abzuwerfen. Die Anzahl blühender Individuen reduzierte sich zwar am 07.08.2020 nur leicht auf 173 (entspricht 45,41 %), dennoch wurden lediglich 1023 Blüten an diesem Boniturtermin gezählt, was einer Abnahme an Blüten von über 50 % gegenüber dem Maximum eine gute Woche vorher entsprach.

Ein kurzer Temperaturrückgang um den 04./05. August herum sorgte, erneut zeitlich verzögert, für eine neuerliche Zunahme der Blütenanzahl, die vorherigen Höchstwerte wurden allerdings nicht mehr erreicht. So blühten am 10.08.2020, dem zwölften Boniturtermin, 184 der 381 Individuen (48,29 %), es wurden aber nur noch 1556 Blüten gezählt. Die nachfolgenden hohen

Temperaturen sorgten abermals für einen Abwurf der Blüten. Diesen Rückgang der Anzahl an Blüten konnten die Pflanzen im Verlauf der weiteren Bonitur auch nicht mehr ausgleichen. Damit wurde der Ende Juli dokumentierte Höchstpunkt der Blütenanzahl im weiteren Projektverlauf nicht mehr erreicht. Über einen Zeitraum von ca. zwei Wochen Ende August – Anfang September bewegte sich die Anzahl ausgebildeter Blüten zwischen 100 und 200 Stück.

Erst die deutliche Abnahme der Temperaturen zum September hin stoppte den auf die Pflanzen einwirkenden Hitzestress und die Käferbohnenpflanzen erholten sich sichtlich. Ab Mitte September wurde ein Anstieg der Blütenanzahl bonitiert. Vereinzelt begannen jetzt Individuen zu blühen, welche im bisherigen Projektverlauf noch nie Blüten ausgebildet hatten. Selbst am letzten Boniturtermin, dem 18.09.2020, wurde die erste Blüte an einem Individuum vermerkt. Insgesamt wurden am Tag des Abschlusses der Bonituren wieder 688 Blüten an 122 Individuen gezählt, dies entsprach einem Anteil von 32,02 % blühender Pflanzen.

Abbildung 15: Temperaturverlauf und gesamte Blütenanzahl aller Akzessionen kumuliert über die Projektdauer.



Der Graph gibt die Zeitspanne ab dem Umtopfen und Aufstellen der Pflanzen ins Glashaus bis zum Ende der Bonituren an. Die Temperaturkurve resultiert aus den jeweiligen Tageshöchstwerten.



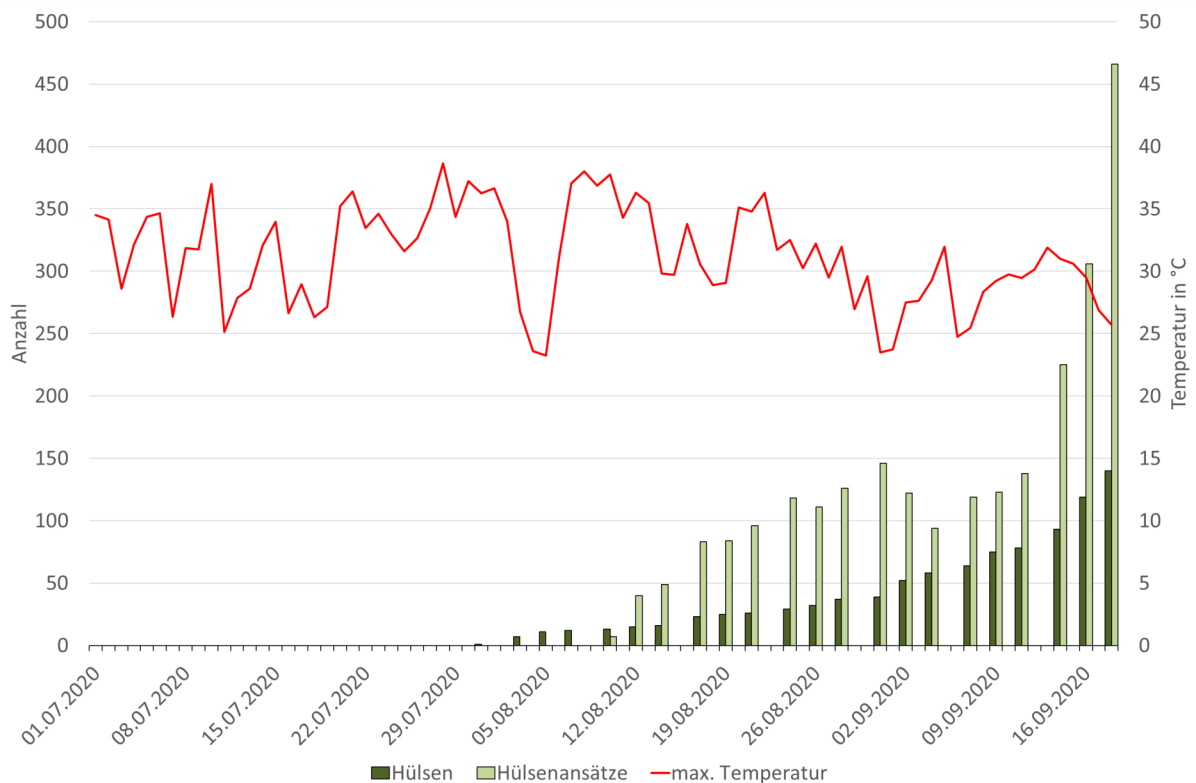
## 4.4 Entwicklung der Hülsen und Hülsenansätze

Die während der Bonituren gezählte Anzahl an Hülsen und Hülsenansätzen unterlag deutlich weniger Schwankungen als die Anzahl der ausgebildeten Blüten, auch trat der Effekt des Hitzestresses hier weniger prononciert und deutlich zeitverzögert hervor. Während die Anzahl der Hülsen über den Projektverlauf konstant und stetig stieg, spiegelt die Anzahl der Hülsenansätze die Auswirkungen der Temperaturschwankungen etwas sensibler wider (Abbildung 16). So wurde nach einem leichten Temperaturanstieg Anfang September eine erhöhte Abwurfrate der gebildeten Hülsenansätze bemerkt, während auf das Abfallen der Temperaturen ab Mitte September ein rasanter Anstieg an Hülsenansätzen (bei vergleichsweise geringer Blütenanzahl) folgte. Diese Regenerationsphase nach den heißen Temperaturen lässt sich einerseits an der steigenden Anzahl an ausgebildeten Hülsen und andererseits am vermehrten Blütenwachstum festmachen. Bei Abschluss der Bonituren am 18.09.2020 wurden 466 Hülsenansätze an 94 Individuen gezählt, was einem Anteil von 24,67 % entspricht. Zu diesem Zeitpunkt wurden insgesamt 140 Hülsen auf 64 Individuen bonitiert. Folglich hatten 16,80 % aller 381 Individuen bei Boniturrende eine Hülse > 5 cm ausgebildet.

Die Ernte der bonitierten Hülsen erfolgte am 14.10.2020, fast einen Monat nach dem finalen Boniturtermin. Waren am letzten Bonitурtag noch 140 ausgebildete Hülsen > 5 cm auf 64 Individuen bonitiert worden, so betrug nach Ernte und dem Verwerfen von verkümmerten Hülsen (vgl. Abbildung 12) die finale Anzahl 113 geerntete Hülsen auf insgesamt 60 Individuen. 15 Pflanzen hatten dabei entweder zwischen dem letzten Boniturtermin und der Ernte einen Teil ihrer bonitierten Hülsen abgeworfen, oder aber die geernteten Hülsen waren so verkümmert, dass sie verworfen wurden und nicht in die finale Anzahl geernteter Hülsen mit eingingen. Insgesamt wurden von 15,75 % der 381 angebauten Käferbohnenpflanzen Hülsen geerntet. Insgesamt wurde bei 37 Akzessionen (entspricht 57,81 %) mindestens ein Individuum mit Hülsen notiert.

Erwähnenswert ist weiterhin, dass zwischen dem letzten Bonitурtag und der Ernte viele Individuen, vermutlich befördert durch die gesunkenen Temperaturen im Glashaus, noch weitere Hülsen und etliche Hülsenansätze ausgebildet hatten. Diese Hülsen waren nicht am finalen Boniturtermin bonitiert worden und wurden in weiterer Folge auch im Anschluss nicht geerntet oder bonitiert. Die stark miteinander verwachsenen Pflanzen zum Zeitpunkt der Hülsenernte ermöglichten keine zuverlässig korrekte Zuordnung unmarkierter Hülsen.

Abbildung 16: Gesamtzahl aller Hülsen und Hülsenansätze über beide Glashäuser von Anfang Juli bis Mitte September.



Dunkelgrüne Balken geben die Anzahl der Hülsen (> 5 cm) wieder, die hellgrünen Balken die Anzahl der bonitierten Hülsenansätze. Die Temperaturkurve setzt sich aus den jeweiligen Tageshöchstwerten zusammen.

## 4.5 Ertragsleistung der unterschiedlichen Käferbohnen-Akzessionen und -Sorten im Projektverlauf

Von den 64 angebauten Käferbohnen-Akzessionen und -Sorten bildeten 37 Akzessionen bohnentragende Hülsen aus (entspricht 57,81 %), an 27 Akzessionen oder Sorten wurden keine Hülsen oder nur verkümmerte Hülsen ohne Bohnen ausgebildet. Von den 60 Individuen, die bohnentragende Hülsen gebildet haben, wurde in über einem Viertel der Fälle (26,56 %) lediglich eine Hülse ausgebildet. Ebenfalls niedrig war die Anzahl der geernteten Bohnen. Bei vielen Herkünften wurden pro Akzession oder Sorte lediglich eine oder zwei Bohnen geerntet, der Großteil der Akzessionen und Sorten bildeten lediglich eine Bohnenanzahl im einstelligen Bereich aus. Ausreißer waren 29 Bohnen (Akzession Nr. 110), 17 Bohnen (Akzession Nr. 58) und 16 Bohnen (Sorte Nr. 70/Hammond Dwarf Scarlet und Akzession Nr. 102; Abbildung 17).

Abbildung 17: Häufigkeitsverteilung der Anzahl der geernteten Hülsen und Bohnen einer Akzession oder Sorte.

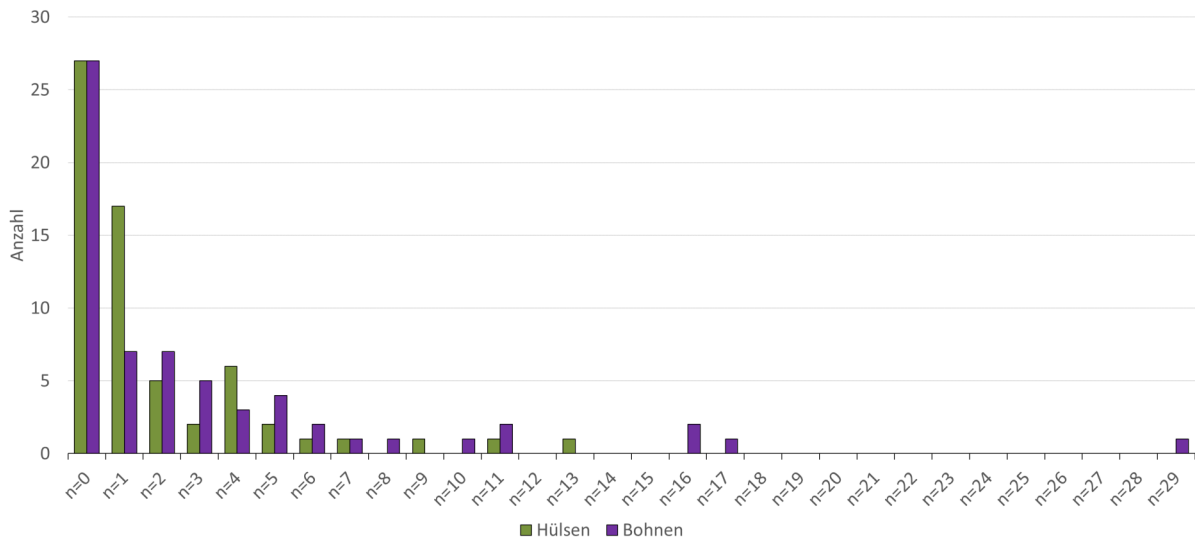
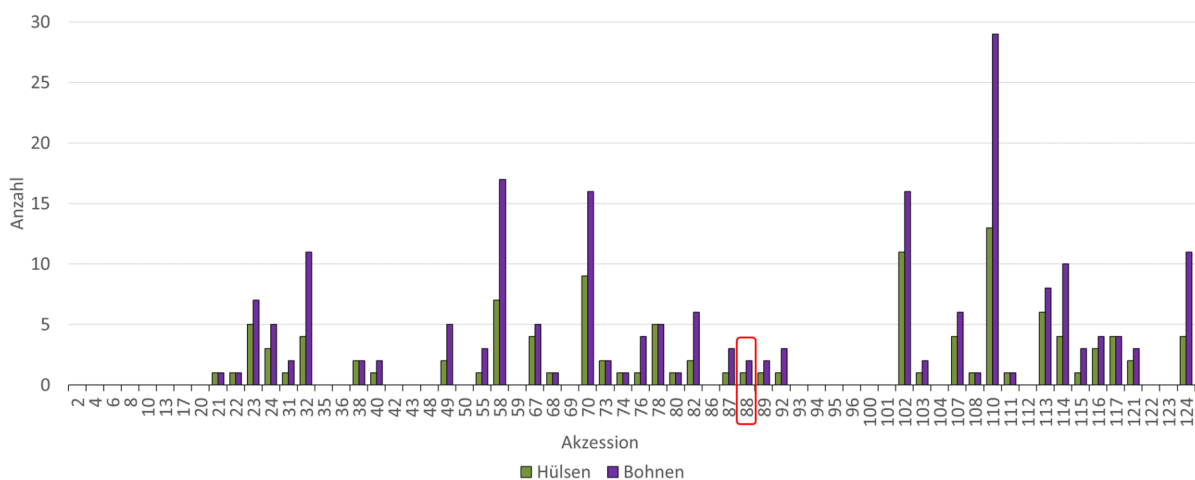


Abbildung 18 gibt eine Übersicht über die Anzahl der gebildeten Hülsen und Bohnen je Akzession. Die oben genannten Ausreißer sind auch hier deutlich sichtbar. Die rot markierte Referenzsorte Bonela erwies sich im Versuch als ertragsschwach. Nur eines der sechs Individuen dieser Sorte bildete eine Hülse aus, welche auch lediglich zwei Bohnen enthielt. Wiederum ist deutlich die ertragreichste Akzession (Nr. 110) mit 29 gebildeten Bohnen zu erkennen. Die Akzessionen oder Sorte Nr. 58, 70 und 102 stehen ebenfalls positiv hervor, hier wurden 17, respektive zweimal 16 Bohnen ausgebildet.

Abbildung 18: Finale Anzahl der von den 64 unterschiedlichen Akzessionen und Sorten geernteten Hülsen und Bohnen.



Die Referenzsorte Bonela ist rot umrandet.

Tabelle 18 im Anhang gibt einen Überblick über die wichtigsten erhobenen oder berechneten ertragsleistungsrelevanten Parameter der 64 im Glashausversuch untersuchten Käferbohnen-Akzessionen und -Sorten. Auch hier zeigt die mit in den Versuch aufgenommene Referenzsorte Bonela eher schlechte Werte. Es ist davon auszugehen, dass der Hitzestress die Ertragsleistung deutlich minderte.

Der höchste Ertrag wurde bei der Akzession Nr. 110 (BVAL-610531) erhoben. Sowohl bei der Anzahl der ausgebildeten Hülsen auch als bei der Gesamtanzahl der Bohnen erzielte diese Akzession Spitzenwerte. Ebenfalls vielversprechende Ertragsergebnisse konnten bei der Sorte Hammonds Dwarf Scarlet erzielt werden (Nr. 70, BVAL-610351). Diese Sorte fing als erste an zu blühen, und bildete auch sehr rasch die erste Hülse aus. Am Ende erzielte diese Sorte mit neun ausgebildeten Hülsen und 16 Bohnen überdurchschnittlich gute Ertragswerte.

Interessanterweise führte eine hohe Anzahl an ausgebildeten Blüten nicht zwangsläufig zu einem hohen Bohnenertrag. Zwar wurden bei der Akzession Nr. 73 (BVAL-610388) über den gesamten Versuchsverlauf hinweg die meisten Blüten gezählt (733), allerdings bildeten die Individuen dieser Akzession in weiterer Folge nur zwei Hülsen mit insgesamt zwei Bohnen aus.

Diese Beobachtungen lassen sich auch anhand von auf den erhobenen Daten aufbauenden Korrelationen statistisch abbilden. Dazu wurde auf Ebene der Individuen die Korrelation nach Spearman berechnet. Eine lediglich leicht positive Korrelation wurde zwischen der Anzahl der Blüten und der Anzahl der Hülsen vermerkt ( $r=0,34$ ;  $p<0,001$ ). Ebenfalls leicht positiv war die Korrelation zwischen der Anzahl der Blüten und der Anzahl der Bohnen ( $r=0,33$ ;  $p<0,001$ ). Deutlich stärker positiv korreliert die Anzahl der Hülsen mit der Anzahl der Bohnen ( $r=0,79$ ;  $p<0,001$ ). Von einer hohen Anzahl an Hülsen lässt sich also eher auf einen hohen Bohnenertrag schließen, als von einer großen Anzahl an Blüten. Die Korrelation zwischen der Anzahl der Bohnen pro Hülse mit dem Gewicht pro Bohne war statistisch nicht signifikant ( $r=0,14$ ;  $p>0,1$ ) und lässt nicht statistisch gesichert auf Abhängigkeiten schließen. Das Gewicht einer Bohne ist also nicht abhängig von der Anzahl der Bohnen pro Hülse.

## **4.6 Akzessionen, die im Glashausversuch ertragreicher als Bonela waren**

In dem Gesamtprojekt wurden vier Akzessionen entdeckt, die in beiden Jahren einen höheren Ertrag unter Hitzebedingungen zeigten als die Referenzsorte Bonela (Tabelle 4).

Tabelle 4: Auflistung der Akzessionen, die in CharAccess und CharAccess II genauso viele oder mehr Bohnen (Total\_NoB) gebildet haben als die Referenzsorte Bonela. Bonela ist rot markiert.

Nummer	ID	Total_NoB CH	Total_NoB CH-II
67	BVAL-610348	196	5
82	BVAL-610637	175	6
73	BVAL-610388	91	2
32	BVAL-610181	67	11
88	Bonela	45	2

In CharAccess II waren 21 Akzessionen, 3 Sorten, sowie 1 Zuchtlinie (B1604) ertragreicher als die Referenzsorte Bonela (Tabelle 5).

Tabelle 5: Auflistung der Akzessionen, Sorten und Linien, die in CharAccess II im Vergleich mit der Referenzsorte Bonela genauso viele oder mehr Bohnen (Total\_NoB) gebildet haben. Bonela ist rot markiert.

Nummer	ID	Total_NoB CH-II
110	BVAL-610531	29
58	BVAL-610285	17
70	Hammonds Dwarf Scarlet	16
102	BVAL-610413	16
124	B1604	11
114	BVAL-610639	10
113	BVAL-610634	8
23	BVAL-610158	7
107	BVAL-610488	6
24	BVAL-610159	5

Nummer	ID	Total_NoB CH-II
49	BVAL-610249	5
78	BVAL-610487	5
76	BVAL-610470	4
116	BVAL-610649	4
117	BVAL-610650	4
55	BVAL-610260	3
115	BVAL-610648	3
87	Melange	3
92	BVAL-610815	3
121	PHC-0013	3
31	BVAL-610180	2
38	BVAL-610195	2
40	BVAL-610197	2
103	BVAL-610419	2
89	Steirische Riesen	2
<b>88</b>	<b>Bonela</b>	<b>2</b>

Zusätzlich zu den vier Akzessionen, die in beiden Projekten besser waren als Bonela, waren in CharAccess 5 Akzessionen und eine Sorte (Hara) ertragreicher als Bonela (Tabelle 6).

Tabelle 6: Auflistung der Akzessionen und Sorten, die in CharAccess im Vergleich mit der Referenzsorte Bonela genauso viele oder mehr Bohnen (Total\_NoB) gebildet haben. Bonela ist rot markiert.

Nummer	ID	Total_NoB CH
59	BVAL-610301	80
1	BVAL-610108	80
93	Hara	70
6	BVAL-610124	68
50	BVAL-610250	54
40	BVAL-610197	48
88	Bonela	45

## 4.7 Ertragsstabilitäten der Akzessionen und Sorten unter Hitzebedingungen

Ein Vergleich der 18 Akzessionen, die in beiden Projektjahren phänotypisiert wurden, ermöglicht Schlussfolgerungen, wie stabil ihre Hitzetoleranz ausgeprägt ist (Tabelle 7). Insbesondere die Anzahl ausgebildeter Bohnen (Total\_NoB) pro Akzession ist dabei vom großem agronomischem Interesse. Eine hohe Stabilität in der Hitzetoleranz wurde für die 2018 als am ertragreichsten beobachteten Akzessionen BVAL-610348 (Nr. 67) und BVAL-610637 (Nr. 82) beobachtet. Sie stachen in CharAccess II in ihrem Ertrag zwar nicht so deutlich hervor wie in 2018, aber wiesen dennoch einen höheren Bohnenertrag als die Referenzsorte Bonela (Nr. 88) auf. Ebenso in beiden Projektjahren deutlich ertragreicher als Bonela erwies sich die Akzession BVAL-610181 (Nr. 32). Ein wenig ertragreicher als Bonela in den beiden Projekten war auch die Akzession BVAL-610388 (Nr. 73).

Von einer mittleren Stabilität in der Hitzetoleranz kann bei der Akzession BVAL-610197 (Nr. 40) sowie der Sorte Lady Di (Nr. 92) gesprochen werden, da sie in beiden Projektjahren einen ähnlichen Ertrag wie Bonela hatten.

Eine geringere Stabilität in der Hitzetoleranz wurde für die Akzessionen BVAL-610124 (Nr. 6), BVAL-610250 (Nr. 50), BVAL-610301 (Nr. 59) und der Sorte Hara (Nr. 93) beobachtet, die zwar

in CharAccess einen hohen Ertrag hatten, aber für die in CharAccess II keinerlei Ertrag beobachtet wurde. Der umgekehrte Fall konnte für die Sorte Melange (Nr. 87) und Steirische Riesen (Nr. 89) beobachtet werden, die zwar in CharAccess II einen ähnlichen Ertrag wie Bonela hatten, aber in CharAccess deutlich weniger ertragreich waren. Eine geringe Hitzetoleranz kann den Sorten Aldrian (Nr. 96), Choco (Nr. 94), Prijswinner (Nr. 97 und 69) und Hellviolette (Nr. 95), sowie der Akzession BVAL-610112 (Nr. 4) zugesprochen werden, da sie in beiden Projekten einen geringen Ertrag aufwiesen.



Tabelle 7: Deskriptive Daten der 18 Akzessionen und Sorten, die sowohl in CharAccess als auch in CharAccess II im Glashaus phänotypisiert wurden. Die Referenzsorte Bonela ist rot eingefärbt. Die Höchstwerte der erhobenen Parameter sind fett markiert.

Nummer	ID	Sortenname	Projekt	%_flower_ind	%_pods_ind	Total_NoF	Final_NoPI	Total_NoB	NoB_pP	W_per_B
4	BVAL-610112		CH (n=8)	6/8	1/8	141	1	1	1.00	1.17
			CH-II (n=6)	3/6	0	96	0	0	-	0.00
6	BVAL-610124		CH (n=8)	<b>8/8</b>	7/8	304	20	68	3.40	1.02
			CH-II (n=6)	<b>6/6</b>	0	241	0	0	-	0.00
32	BVAL-610181		CH (n=8)	<b>8/8</b>	6/8	284	20	67	3.35	0.79
			CH-II (n=6)	5/6	1/6	410	4	11	2.80	0.41
40	BVAL-610197		CH (n=8)	<b>8/8</b>	6/8	397	19	48	2.53	1.17
			CH-II (n=6)	5/6	1/6	343	1	2	2.00	0.59
50	BVAL-610250		CH (n=8)	7/8	5/8	382	19	54	2.84	0.91
			CH-II (n=6)	<b>6/6</b>	0	312	0	0	-	0.00
59	BVAL-610301		CH (n=8)	<b>8/8</b>	7/8	386	37	80	2.16	<b>10.83</b>
			CH-II (n=6)	5/6	0	266	0	0	-	0.00

Nummer	ID	Sortenname	Projekt	%_flower_ind	%_pods_ind	Total_NoF	Final_NoPI	Total_NoB	NoB_pP	W_per_B
67	BVAL-610348		CH (n=8)	8/8	8/8	673	75	196	2.61	0.94
			CH-II (n=6)	6/6	3/6	716	4	5	1.30	0.38
97	BVAL-610816	Prijswinner	CH (n=8)	5/8	1/8	109	8	24	3.00	0.64
69	BVAL-610350		CH-II (n=6)	4/6	0	98	0	0	-	0.00
73	BVAL-610388		CH (n=8)	8/8	7/8	496	33	91	2.76	0.82
			CH-II (n=6)	6/6	2/6	733	2	2	1.00	0.66
82	BVAL-610637		CH (n=8)	8/8	8/8	536	70	175	2.50	1.05
			CH-II (n=6)	5/6	1/6	154	2	6	3.00	1.16
88	BVAL-610800	Bonela	CH (n=8)	8/8	3/8	470	26	45	1.73	0.92
			CH-II (n=6)	4/6	1/6	68	1	2	2.00	1.01
87	BVAL-610807	Melange	CH (n=8)	7/8	1/8	218	1	2	2.00	1.38
			CH-II (n=6)	6/6	1/6	214	1	3	3.00	0.19
89	BVAL-610809	Steirische Riesen	CH (n=8)	8/8	0	132	0	0	N/A	N/A
			CH-II (n=6)	6/6	1/6	315	1	2	2.00	1.80

Nummer	ID	Sortenname	Projekt	%_flower_ind	%_pods_ind	Total_NoF	Final_NoPI	Total_NoB	NoB_pP	W_per_B
92	BVAL-610815	Lady Di	CH (n=8)	8/8	3/8	317	7	33	4.71	0.88
			CH-II (n=6)	6/6	1/6	44	1	3	3.00	0.42
93	BVAL-610812	Hara	CH (n=8)	8/8	7/8	582	31	70	2.26	0.96
			CH-II (n=6)	5/6	0	123	0	0	-	0.00
94	BVAL-610811	Choco	CH (n=8)	8/8	2/8	162	2	5	2.50	0.77
			CH-II (n=6)	3/6	0	15	0	0	-	0.00
95	BVAL-610813	Hellviolette	CH (n=8)	7/8	5/8	327	8	24	3.00	0.93
			CH-II (n=6)	6/6	0	276	0	0	-	0.00
96	BVAL-610810	Aldrian	CH (n=8)	8/8	2/8	231	5	10	2.00	1.21
			CH-II (n=6)	6/6	0	175	0	0	-	0.00

## 4.8 Auswahl SNP Marker

Auf Basis der Assoziationsanalysen, dem Vorläuferprojekt und der Literaturrecherche kamen 107 SNPs in Frage, die zur weiteren Untersuchung mittels MassARRAY® Genotypisierung ausgewählt wurden. Als Marker für Hitzetoleranz wurden 18 SNPs ausgewählt, da sie in der Blast-Analyse und im MassARRAY® erfolgreich waren, polymorph waren und ein eindeutiges positives Allel hatten (Abbildung 22).

### Assoziationsanalyse I

Aus der Assoziationsanalyse des Geno- und Phänotyps der 261 Individuen, die in CharAccess im Glashaus angebaut wurden, ergaben sich 8 signifikante Assoziationen mit 7 unterschiedlichen RAD-SNPs (Tabelle 8). Ein RAD-SNP (RAD\_1887\_67) wurde sowohl für das Merkmal Final\_NoP als auch für Total\_NoB signifikant assoziiert.

Tabelle 8: Aufteilung der 8 signifikanten Assoziationen von RAD-SNPs zu den acht hitzetoleranten Merkmalen, die für jede der 261 Individuen erhoben wurden. Der Genotyp basiert auf ausgewählten 1.190 RAD-SNPs.  $FDR < 0,01$ .

Phänotypisches Merkmal	Anzahl der signifikant assoziierten RAD-SNPs
Final_NoP	6
Total_NoB	1
W_per_B	1

### Assoziationsanalyse II

Aus der Assoziationsanalyse der 33 Akzessionen, die im Vorläuferprojekt CharAccess untersucht worden waren, resultierten 235 signifikante Assoziationen mit 148 unterschiedlichen RAD-SNPs. Die meisten signifikant assoziierten RAD-SNPs wurden detektiert für das Durchschnittsgewicht der Bohne (W\_per\_B; Tabelle 9). Die maximale Anzahl von sechs signifikanten Assoziationen wurden für drei RAD-SNPs beobachtet: RAD\_613\_26, RAD\_1932\_23 und RAD\_3831\_27. Zwei weitere RAD-SNPs wurden zu fünf verschiedenen Merkmalen assoziiert: RAD\_414\_35 und RAD\_1887\_67.

Tabelle 9: Aufteilung der 235 signifikanten Assoziationen von RAD-SNPs zu den acht hitzetoleranten Merkmalen, die für jede der 33 Akzessionen in CharAccess erhoben wurden. Der Genotyp basiert auf ausgewählten 1.190 RAD-SNPs.  $FDR < 0,01$ .

Phänotypisches Merkmal	Anzahl der signifikant assoziierten RAD-SNPs
Total_NoF	27
Total_Max_F	29
Final_NoP	18
Total_Max_P	15
Total_NoB	20
Weight_B	19
W_per_B	87
NoB_pP	20

Aus der Assoziationsanalyse der 45 Akzessionen, die in CharAccess II untersucht wurden, resultierten 444 signifikante Assoziationen mit 182 unterschiedlichen RAD-SNPs. Die meisten signifikant assoziierten RAD-SNPs wurden detektiert für die finale Anzahl an Bohnen (Total\_NoB; Tabelle 10). Ein RAD-SNP war signifikant zu allen zwölf hitzetoleranten Merkmalen assoziiert: RAD\_1534\_20. Außerdem waren RAD\_2440\_39 und RAD\_3773\_1 bzw. RAD\_3801\_86 zu neun bzw. acht verschiedenen hitzetoleranten Merkmalen assoziiert.

Tabelle 10: Aufteilung der 444 signifikanten Assoziationen von RAD-SNPs zu den zwölf hitzetoleranten Merkmalen, die für jede der 45 Akzessionen in CharAccess II erhoben wurden. Der Genotyp basierte auf ausgewählte 1.190 RAD-SNPs.  $FDR < 0,01$ .

Phänotypisches Merkmal	Anzahl der signifikant assoziierten RAD-SNPs
%_flower_ind	31
Total_NoF	18
Total_Max_F	18
Final_NoMP	32

Phänotypisches Merkmal	Anzahl der signifikant assoziierten RAD-SNPs
Total_MaxMP	36
%_pods_ind	45
Final_NoP	48
Total_Max_P	48
Total_NoB	62
Weight_B	52
W_per_B	33
NoB_pP	21

Es überschneiden sich 65 RAD-SNPs, die sowohl in CharAccess, als auch in CharAccess II zu hitzetoleranten Merkmalen signifikant assoziiert waren.

### Vorläuferprojekt

Aus dem Vorläuferprojekt CharAccess wurden 25 RAD-SNPs, die durch Assoziationsanalyse von Geno- und Phänotyp resultierten, zur Bestätigung im MassARRAY® untersucht (siehe Ribarits et al. 2019).

### Literaturrecherche

Aus den zwei ausgewählten Publikationen wurden 7 SNPs für die MassARRAY®-Analyse berücksichtigt, da diese auf Genen liegen, die für Hitzeschockproteine kodieren (siehe Tabelle 2 in López-Hernández und Cortés (2019)). Zusätzlich wurden drei SNPs ausgewählt, da sie unter Hitzebedingungen am stärksten mit den Merkmalen „Tage bis zur Blüte“ und „Ernteertrag“ assoziiert sind (siehe Tabelle 2 und Abbildung 3 in Oladzad et al. (2019)).

Tabelle 11: Information über diejenigen SNPs, die durch Literaturrecherche ausgewählt und im MassARRAY® untersucht wurden.

<b>López-Hernández und Cortés (2019)</b>		
Last-Generation Genome–Environment Associations Reveal the Genetic Basis of Heat Tolerance in Common Bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).		
<b>SNP</b>	<b>Gen</b>	<b>Protein</b>
S1_103273611	Phvul.003G021100	MED23
S1_104075622	Phvul.003G028300	MED25
S1_105404421	Phvul.003G038600	Hsp40
S1_268677251	Phvul.002G136100	Hsp40
S1_381855152	Phvul.006G182100	Hsp40
S1_54254560	Phvul.002G019100	HSFB1
S1_80309359	Phvul.008G227900	HSP20
<b>Oladzad et al. (2019)</b>		
Single and Multi-trait GWAS Identify Genetic Factors Associated with Production Traits in Common Bean Under Abiotic Stress Environments.		
<b>SNP</b>	<b>Gen</b>	<b>Erklärung</b>
S03_40504942	Phvul.003G181900	Höchstwert der Assoziation zum Merkmal „Tage bis zur Blüte“
S03_47356534	Phvul.003G239000	SNP assoziiert zu dem Merkmal „Tage bis zur Blüte“
S03_41096424	Phvul.003G187400	Höchstwert der Assoziation zum Merkmal „Ernteertrag“

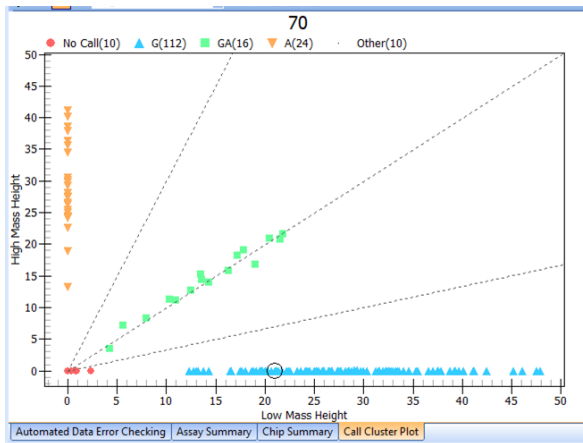
### **Blast-Analyse**

Für 86 RAD-SNPs verlief die Blast Analyse erfolgreich und basierend auf der resultierten Sequenz wurden Primer zur Untersuchung im MassARRAY® entwickelt. Keine passenden Sequenzen wurden gefunden für 9 SNPs aus der Assoziationsanalyse II und 12 SNPs aus dem Vorläuferprojekt.

**MassARRAY®**

Für 63 RAD-SNPs war zumindest eines der beiden MassARRAY® Designs erfolgreich. In den meisten Fällen war die Genotypisierung von guter Qualität und ein gutes Clustering der Allele war möglich (siehe Beispiel Abbildung 19).

Abbildung 19: Beispiel für gute Genotypisierungsqualität

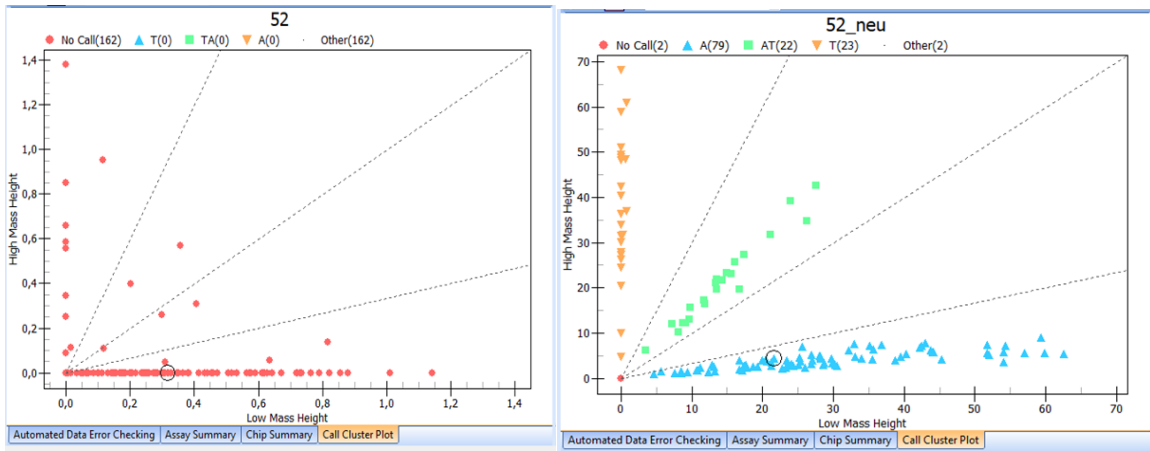


Ergebnis des MassARRAY® für SNP 70 (RAD\_3432\_30).

Für die weitere Analyse und Dateninterpretation wurden 2 SNPs aus der Assoziationsanalyse I, 14 SNPs aus der Assoziationsanalyse II, 3 SNPs aus dem Vorläuferprojekt und 4 SNPs aus der Literaturrecherche entfernt, da für sie kein Clustering erzielt werden konnte (siehe Beispiel Abbildung 20 links). In ausgewählten Fällen wurden sie einem Neudesign (Design 2) unterzogen (siehe Beispiel Abbildung 20 rechts).



Abbildung 20: Links: Beispiel für schlechte Genotypisierqualität: Rechts: Beispiel für gute Genotypisierqualität.

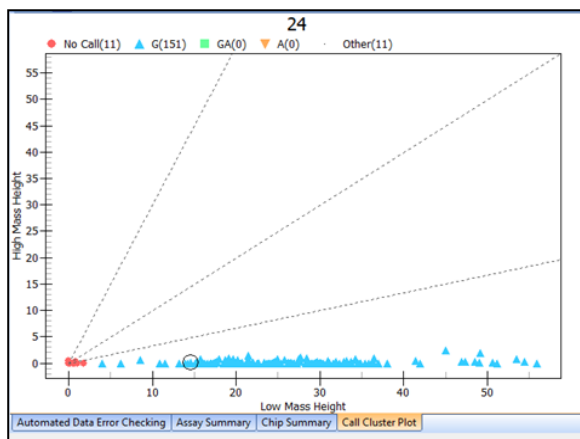


Links: Ergebnis von Design 1 im MassARRAY® für SNP 52 (RAD\_1887\_67). Rechts: Ergebnis von Design 2 im MassARRAY® für SNP 52 (RAD\_1887\_67).

### Monomorph

Nach der Kontrolle der Polymorphie verblieben 54 SNPs, die Polymorphie aufweisen und aus diesem Grund als Marker berücksichtigt werden können. Die verbliebenen 6 SNPs aus der Literatur wurden ausgeschlossen, da sie auf allen 26 Akzessionen monomorph waren (siehe Beispiel Abbildung 21). Außerdem durch Monomorphie ausgeschlossen wurden zwei SNPs aus der Assoziationsanalyse II und ein SNP, der aus dem Vorläuferprojekt resultierte.

Abbildung 21: Beispiel für Monomorphie.



Ergebnis des MassARRAY® für SNP 24 (S03\_47356534).

Die Anzahl der Kandidaten SNPs wurde auf 44 reduziert, da drei SNPs aus der Assoziationsanalyse II, ein SNP aus Assoziationsanalyse I und vier SNPs aus dem Vorläuferprojekt nur wenig polymorph waren. Außerdem wurden zwei SNPs aus dem Vorläuferprojekt exkludiert aufgrund von zu wenig vorliegenden genetischen Daten.

### Positives Allel

Als Marker kamen 18 SNPs in Frage, da sie ein Allel tragen, das in beiden Projekten zu einer höheren Hitzetoleranz und damit Hülsenbildung führt. Ausgeschlossen aufgrund von widersprechend positiven Allelen in CharAccess und CharAccess II wurden 13 SNPs aus der Assoziationsanalyse II und 2 SNPs aus dem Vorläuferprojekt; 8 SNPs aus Assoziationsanalyse II, 2 SNPs aus Assoziationsanalyse I und 1 SNP aus dem Vorläuferprojekt wurden außerdem nicht berücksichtigt, da die Boxplots und die Berechnungen zu keinen einheitlichen positiven Allel geführt haben.

Abbildung 22: Beschreibung der Schritte zur Auswahl der SNP Marker.



Von 107 SNPs, die als Marker für Hitzetoleranz in Frage kommen, wurden 18 SNPs ausgewählt.

## 4.9 Beschreibung SNP Marker

Der phänotypische Effekt ( $\alpha$ ) eines Allels vergleicht die durchschnittliche Anzahl der Hülsen der Individuen, die das positive Allel tragen mit dem Wert der Individuen, die das nachteilige Allel tragen. Daher deutet ein hoher phänotypischer Effekt auf gute Markereigenschaften hin.

In CharAccess war der SNP mit dem höchsten phänotypischen Effekt RAD\_3517\_34. Individuen mit dem positiven Allel dieses RAD-SNPs, trugen im Durchschnitt zwei Hülsen mehr als die Individuen mit dem nachteiligen Allel. In CharAccess II war ein besonders hoher phänotypischer Effekt für RAD\_1199\_80 und RAD\_3517\_34 berechnet worden. Individuen mit dem positiven Allel trugen um 0.15 mehr Hülsen als Individuen mit dem nachteiligen Allel (Tabelle 12).

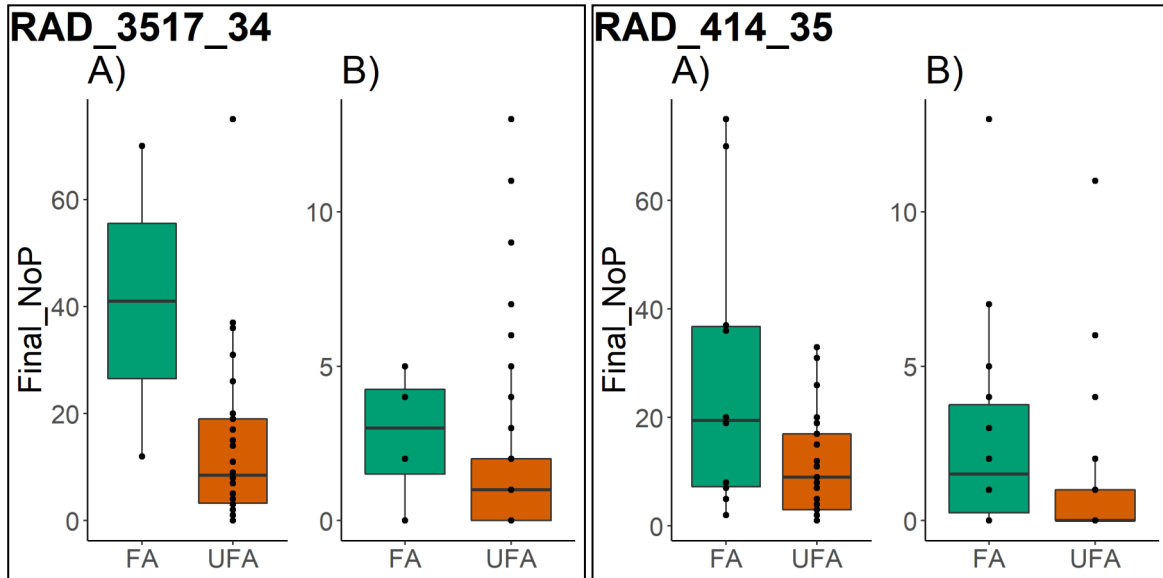
Tabelle 12: Auflistung des positiven (FA) und nachteiligen Allels (UFA) der 18 ausgewählten SNP Marker mit Ergebnis der Berechnung des phänotypischen Effekts ( $\alpha$ ) unter Berücksichtigung des Geno- und Phänotyps aus CharAccess (CH) und CharAccess II (CH-II). Der phänotypische Effekt wurde für das Merkmal „Finale Anzahl der Hülsen“ (Final\_NoP) berechnet. Der höchste phänotypische Wert ist fett markiert.

SNP	Ursprung	FA	UFA	$\alpha$ (FA)		$\alpha$ (UFA)	
				CH (n=261)	CH-II (n=153)	CH (n=261)	CH-II (n=153)
RAD_1199_80	Assoziations-analyse II	T	A	0.35	<b>0.15</b>	-0.99	-0.23
RAD_1289_78	Assoziations-analyse II	A	C	-0.02	0.01	-0.27	-0.02
RAD_1340_7	Assoziations-analyse II	A	G	0.51	0.00	-0.40	-0.01
RAD_1525_41	Assoziations-analyse II	A	C	0.23	0.14	-0.62	-0.22
RAD_1534_20	Assoziations-analyse II	T	A	0.28	-0.11	-0.40	-0.01
RAD_2111_42	Assoziations-analyse II	T	A	0.17	0.09	0.38	-0.16
RAD_220_83	Assoziations-analyse II	C	G	0.03	0.01	0.02	-0.12

SNP	Ursprung	FA	UFA	$\alpha(\text{FA})$		$\alpha(\text{UFA})$	
				CH (n=261)	CH-II (n=153)	CH (n=261)	CH-II (n=153)
RAD_2341_68	Assoziations- analyse II	C	T	0.20	-0.08	-0.36	-0.10
RAD_2589_39	Assoziations- analyse II	T	C	0.43	0.12	-0.63	-0.21
RAD_3146_19	Assoziations- analyse II	C	T	0.37	-0.06	-0.87	-0.15
RAD_3232_18	Assoziations- analyse II	T	C	0.12	0.10	0.01	-0.26
RAD_3235_24	Assoziations- analyse II	T	C	0.08	-0.06	-0.33	-0.15
RAD_3342_71	Assoziations- analyse II	G	T	0.33	0.11	-0.14	-0.26
RAD_3432_30	Assoziations- analyse I	A	G	1.41	0.12	-0.03	-0.04
RAD_3517_34	Assoziations- analyse I	C	T	<b>2.06</b>	<b>0.15</b>	-0.43	-0.06
RAD_4014_50	Assoziations- analyse II	G	C	0.39	-0.10	-0.10	-0.01
RAD_414_35	Assoziations- analyse II	C	G	0.15	0.13	-0.52	0.00
RAD_611_31	Assoziations- analyse II	T	C	0.12	0.00	-0.99	-0.12

In den Boxplots ist das Potenzial der SNPs als hitzetolerante Marker dargestellt (für Details siehe Boxplots der 18 SNPs). Als besonders positiv sind RAD\_3517\_34 und RAD\_414\_35 aufgefallen, da dort der Median der Anzahl an Hülsen jener Akzessionen, die das positive Allel tragen, sowohl in CharAccess als auch in CharAccess II deutlich über dem Wert der Akzessionen mit dem nachteiligen Allel liegt (Abbildung 23).

Abbildung 23: Boxplots zur Gegenüberstellung der Anzahl der Hülsen (Final\_NoP) von Akzessionen, die das positive Allel (FA) tragen, gegen die Akzessionen mit nachteiligem Allel (UFA).



A) zeigt die Werte der 33 Akzessionen, die in CharAccess untersucht wurden. B) zeigt die Werte der 64 Akzessionen, die in CharAccess II angebaut wurden.

Als vielversprechender Marker für Hitzetoleranz wurde der Locus RAD\_414\_35 identifiziert. RAD\_414\_35 war unter Hitzestressbedingungen in beiden Projekten mit der Anzahl an Hülsen (Final\_NoP) und Bohnen (Total\_NoB), mit dem Gewicht der Bohnen (Weight\_B) und der Anzahl an Bohnen pro Hülse (NoB\_pP) assoziiert. Dieser SNP wird durch ein Gen (PHAVU\_001G030000g) flankiert, das laut Uniprot für eine Aspartyl-tRNA synthase codiert. Dass dieses Gen mit Hitzetoleranz assoziiert, wurde zuvor auch von Wissenschaftlern aus Kolumbien in der Kulturart Gartenbohne (*Phaseolus vulgaris* L.) gefunden (siehe Supplementary table 5 in López-Hernández F & Cortés, 2019).

## 4.10 Charakterisierung der Hitzetoleranz

Für die 26 Akzessionen, die mittels MassARRAY® genotypisiert worden sind, wurde die Hitzetoleranz auf Basis der ausgewählten 18 SNP Marker berechnet. Es ergeben sich Hitzetoleranzwerte zwischen 27 % und 75 %.

Von 4 Akzessionen, die eine geringe berechnete Hitzetoleranz (< 50 %) haben, haben 3 Akzessionen keine Hülsen gebildet. Von 6 Akzessionen, für die eine hohe Hitzetoleranz (> 65 %)

berechnet worden ist, weisen 4 Akzessionen auch eine hohe Anzahl an Hülsen (> 4) auf. Für diejenigen Akzessionen ergibt sich also eine Übereinstimmung der berechneten Hitzetoleranz mit dem Phänotyp („true“).

Tabelle 13: Berechnete Hitzetoleranz auf Basis der 18 SNP Marker und Anzahl der Hülsen (Final\_NoP) der 26 Akzessionen, die in CharAccess II mittels MassARRAY® genotypisiert und im Glashaus phänotypisiert wurden. Grün = Hitzetoleranz > 65 %; Orange = Hitzetoleranz < 50 %; Rot = Referenzsorte Bonela.

Nummer	ID	Charakterisierung Hitzetoleranz	Final_NoP CH	Final_NoP CH-II	Übereinstimmung mit Phänotyp
6	BVAL-610124	57 %	20	0	
32	BVAL-610181	66 %	20	4	TRUE
40	BVAL-610197	61 %	19	1	
50	BVAL-610250	55 %	19	0	
59	BVAL-610301	72 %	37	0	
67	BVAL-610348	63 %	75	4	
88	BVAL-610800	56 %	26	1	
100	BVAL-610392	52 %	-	0	
101	BVAL-610393	65 %	-	0	
102	BVAL-610413	75 %	-	11	TRUE
103	BVAL-610419	52 %	-	1	
104	BVAL-610457	48 %	-	0	TRUE
107	BVAL-610488	51 %	-	4	
108	BVAL-610489	66%	-	1	
110	BVAL-610531	60 %	-	13	
111	BVAL-610619	64 %	-	1	
112	BVAL-610627	57 %	-	0	
113	BVAL-610634	53 %	-	6	
114	BVAL-610639	68 %	-	4	TRUE
115	BVAL-610648	62 %	-	1	

Nummer	ID	Charakterisierung Hitzetoleranz	Final_NoP CH	Final_NoP CH-II	Übereinstimmung mit Phänotyp
116	BVAL-610649	54 %	-	3	
117	BVAL-610650	57 %	-	4	
121	PHC-0013	43 %	-	2	
122	PHC-0015	43 %	-	0	TRUE
123	B1208	27 %	-	0	TRUE
124	B1604	68 %	-	4	TRUE

Daten der RAD Sequenzierung von sechs weiteren Akzessionen / Sorten zu den ausgewählten 18 SNPs ergaben Werte zwischen 54 % und 67 %. Auch hier ist eine Übereinstimmung von berechneter Hitzetoleranz und Phänotyp zu sehen. Zwei Akzessionen, die eine Hitzetoleranz über 65 % haben, wiesen insbesondere in CharAccess eine höhere Hülsenanzahl auf (Tabelle 14).

Tabelle 14: Berechnete Hitzetoleranz auf Basis der 18 SNP Marker und Anzahl der Hülsen (Final\_NoP) von fünf ausgewählten Akzessionen bzw. Sorten, die in CharAccess sequenziert wurden. Grün = Hitzetoleranz > 65 %; Orange = Hitzetoleranz < 50 %.

Nummer	ID	Sortenname	Charakterisierung Hitzetoleranz	Final_NoP CH	Final_NoP CH-II
58	BVAL-610285		54 %	-	7
69, 97	BVAL-610816, BVAL-610350	Prijswinner	63 %	8	0
70	BVAL-610351	Hammonds Dwarf Scarlet	57 %	-	9
73	BVAL-610388		67 %	33	2
82	BVAL-610637		66 %	70	2
91	BVAL-610814	Hestia	56 %	5	-

## 4.11 Vorhersage der Hitzetoleranz

Für die Vorhersage der Hitzetoleranz wurden jene 33 Akzessionen ausgewählt, welche im Vorläuferprojekt zwar mittels RADseq genotypisiert, aber weder in CharAccess noch in CharAccess II phänotypisiert worden sind. Die Vorhersagen der Hitzetoleranz reichen von 32 % bis 69 %. Fast die Hälfte dieser Akzessionen (42 %) hat eine geringe berechnete Hitzetoleranz von unter 50 %. Zwei Akzessionen stechen hervor, die einen Wert von über 65 % aufweisen: BVAL-610274 und BVAL-610329 (Tabelle 15).

Tabelle 15: Berechnete Hitzetoleranz auf Basis der 18 SNP Marker der 33 Akzessionen, die weder in CharAccess noch in CharAccess II im Glashaus angebaut bzw. phänotypisiert wurden. Grün = Hitzetoleranz > 65 %; Orange = Hitzetoleranz < 50 %.

Nummer	ID	Vorhersage Hitzetoleranz
3	BVAL-610110	62 %
5	BVAL-610113	48 %
7	BVAL-610125	56 %
9	BVAL-610131	41 %
11	BVAL-610137	58 %
14	BVAL-610141	48 %
15	BVAL-610142	43 %
18	BVAL-610145	61 %
25	BVAL-610160	32 %
26	BVAL-610161	36 %
27	BVAL-610162	57 %
28	BVAL-610172	39 %
30	BVAL-610174	42 %
37	BVAL-610194	42 %
39	BVAL-610196	38 %
41	BVAL-610198	49 %

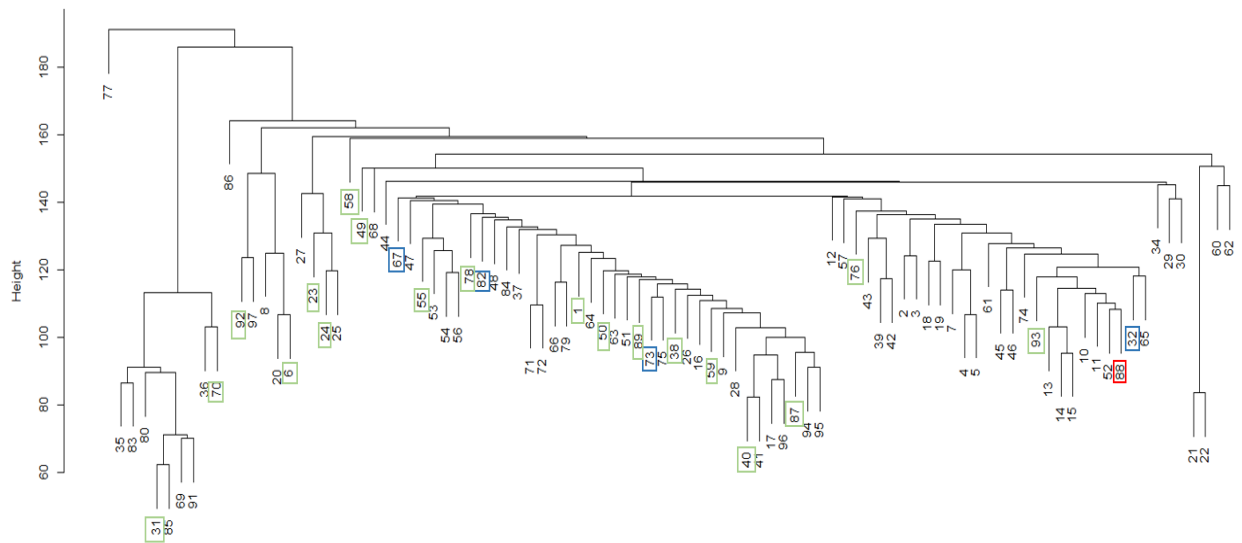


Nummer	ID	Vorhersage Hitzetoleranz
44	BVAL-610204	54 %
46	BVAL-610216	60 %
47	BVAL-610218	41 %
51	BVAL-610251	55 %
52	BVAL-610252	52 %
56	BVAL-610261	49 %
57	BVAL-610274	69 %
61	BVAL-610303	56 %
62	BVAL-610329	66 %
64	BVAL-610342	40 %
65	BVAL-610345	50 %
71	BVAL-610386	64 %
72	BVAL-610387	62 %
75	BVAL-610469	54 %
79	BVAL-610547	61 %
83	BVAL-610675	59 %
85	BVAL-610750	60 %

## 4.12 Dendrogramme

Aus dem Dendrogramm, das auf Basis der Sequenzierdaten aus CharAccess erstellt wurde, lassen sich die Verwandtschaftsverhältnisse der 97 Akzessionen/Sorten ablesen (siehe Ribarits et al. 2019). Es lässt sich keine genetische Gruppierung der hitzetoleranteren Akzessionen erkennen. Insbesondere die vier Akzessionen (Nr. 32, 67, 73, 82), die sowohl in CharAccess als auch in CharAccess II ertragreicher waren als die Referenzsorte Bonela (Nr. 88), liegen in dem Stammbaum auf getrennten Ästen (Abbildung 24).

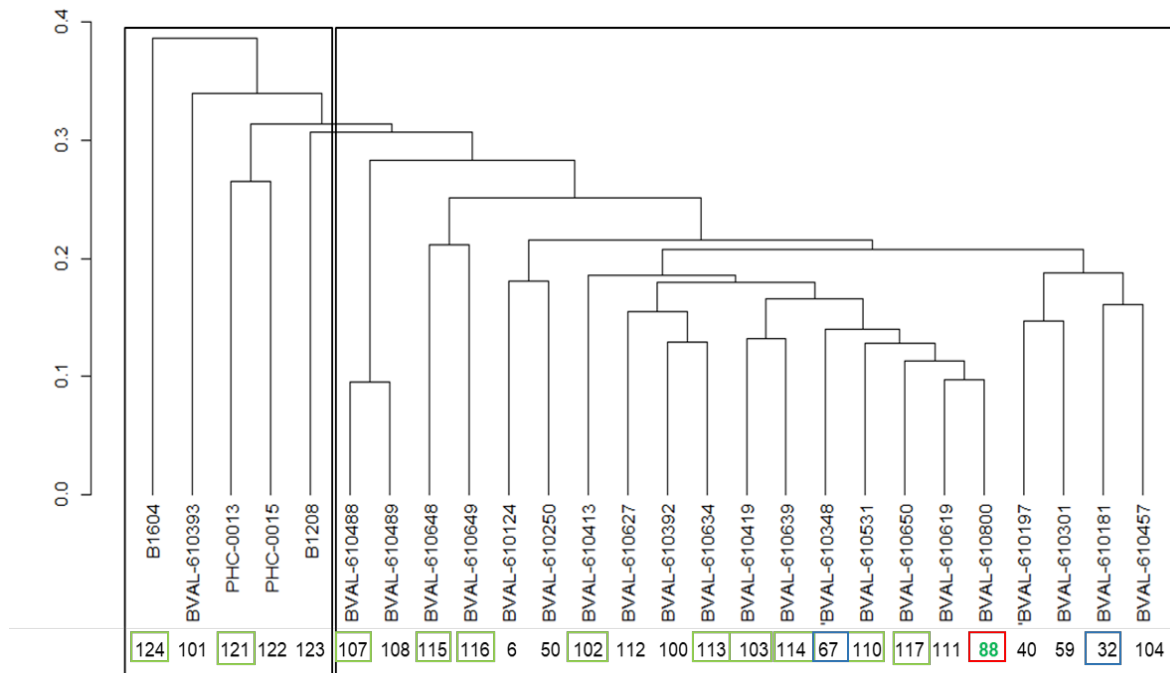
Abbildung 24: Dendrogramm zur Darstellung der Verwandtschaftsstruktur der 97 Akzessionen, die in CharAccess sequenziert wurden.



Blau = bessere Akzession bzw. Sorte im Vergleich zur Referenzsorte Bonela in CharAccess **und** CharAccess II; Grün = bessere Akzession bzw. Sorte im Vergleich zur Referenzsorte Bonela in CharAccess **oder** CharAccess II; Rot = Referenzsorte Bonela.

Ein weiteres Dendrogramm zeigt die genetischen Beziehungen von 26 Akzessionen auf Basis von 54 SNPs, die im MassARRAY® Design funktionell und polymorph waren. Auch hier lässt sich keine Gruppierung der hitzetoleranten Akzessionen erkennen. Das Dendrogramm zeigt eine grobe Abgrenzung der Linien beziehungsweise Akzessionen B1604, B1208, PHC-0013 und PHC-0015 von der großen Gruppe der BVAL-Akzessionen (n = 22; Abbildung 25).

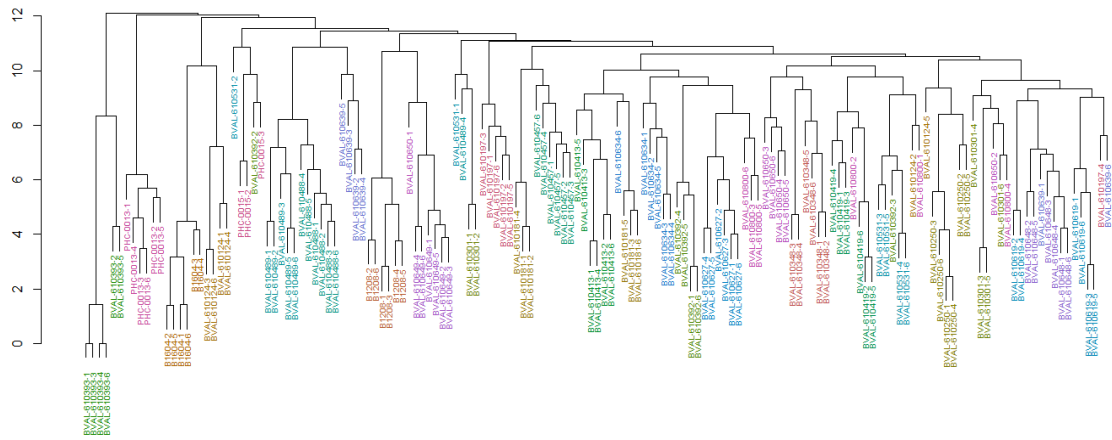
Abbildung 25: Dendrogramm der 26 Akzessionen, die in CharAccess II mittels MassARRAY® auf Basis von 54 SNPs genotypisiert wurden.



Blau = bessere Akzession bzw. Sorte im Vergleich zur Referenzsorte Bonela in CharAccess **und** CharAccess II; Grün = bessere Akzession bzw. Sorte im Vergleich zur Referenzsorte Bonela in CharAccess II; Rot = Referenzsorte Bonela.

Das Dendrogramm der 153 Individuen zeigt, dass Individuen einer Akzession oder Sorte zumeist beieinander zu liegen kommen. Dies lässt darauf schließen, dass die Akzessionen oder Sorten genetisch durchaus gut abtrennbar sind. Es finden sich aber auch Beispiele (z.B. BVAL-610800 = Sorte Bonela), welche eine höhere Diversität aufweisen und deren Individuen auch innerhalb anderer BVAL-Cluster zu liegen kommen (Abbildung 26).

Abbildung 26: Dendrogramm der 153 Individuen, die in CharAccess mittels MassARRAY® auf Basis von 54 SNPs genotypisiert wurden.



# 5 Zusammenfassung und Diskussion

## 5.1 Züchtungsrelevante Akzessionen

Die Saatzucht Gleisdorf GmbH hat 2012 die Bearbeitung der Steirischen Käferbohne wiederaufgenommen, mit dem Ziel die Ertragsstabilität in besonders heißen/trockenen Jahren zu verbessern. Im Zuge dieser Bearbeitung wurden viele Käferbohnen-Akzessionen – auch aus dem europäischen Ausland – auf Stangen gescreent um mögliche Kreuzungspartner für die aktuelle Hauptsorte Bonela zu finden. Leider wurde bis 2020 keine einzige Akzession gefunden, die auf Stangen ein ähnliches oder höheres Ertragspotential als Bonela aufwies. Eine gezielte phänotypische Erfassung von Hitzetoleranz bei der Käferbohne im Freiland gestaltet sich äußerst schwierig und aufwändig. Dies wäre beispielsweise durch die Erfassung des Blüten- und Hülsenabwurfs in Hitzeperioden möglich, was aber mit immensen Aufwand verbunden ist, da eine Einzelpflanze auf Stange im Freiland bis in den Herbst mehrere hundert Blütenstände und mehrere tausend Blüten ausbilden kann.

Im Rahmen der Projekte CharAccess und CharAccess II wurde diesen Umständen Rechnung getragen, indem die Versuche unter weitgehend kontrollierten Bedingungen im Glashaus durchgeführt wurden. Zusätzlich konnten im Rahmen der Projekte die aufwändigen Bonituren von Blüten und Hülsen durchgeführt werden. Um die Assoziationsanalysen von Geno- und Phänotyp durchführen zu können, ist eine große Menge an Daten erforderlich.

Aufgrund der Boniturdaten wurden in dem Gesamtprojekt vier Akzessionen entdeckt, die in beiden Jahren einen deutlich höheren Ertrag unter Hitzebedingungen gehabt haben als die Referenzsorte Bonela (Tabelle 4). Für diese Akzessionen ergab die Berechnung der Hitzetoleranz auf Basis der SNP-Marker einen Wert  $\geq 63\%$ , was auf eine mögliche Hitzetoleranz dieser Akzessionen hindeutet (Tabelle 13, Tabelle 14). Details zu ihrer Herkunft und ihr Aussehen können aus Tabelle 17 entnommen werden.

- Die Akzession Nr. 67 (BVAL-610348) stammt aus Italien und ihre Bohnenfarbe ist weiß.
- Die Akzession Nr. 82 (BVAL-610637) stammt aus dem Burgenland, Österreich und wird als rosa hellviolett marmoriert beschrieben.
- Die Akzession Nr. 32 (BVAL-610181) stammt aus Klausen, Steiermark, Österreich und wird als fleckig rosa hellviolett beschrieben.
- Die Akzession Nr. 73 (BVAL-610388) stammt aus Stadtschlaining, Burgenland, Österreich und wird als rosa hell violett marmoriert beschrieben.

In CharAccess II waren 25 Akzessionen, Linien oder Sorten ertragreicher als die Referenzsorte Bonela (Tabelle 5). Mit mehr als 10 Bohnen im Versuch und damit als besonders ertragreich zeigten sich vier Akzessionen, eine Linie und eine Sorte. Neben der Akzession Nr. 32, die oben beschrieben wurde, fallen die zwei Akzessionen Nr. 102 und Nr. 114, sowie die Linie B1604 (Nr. 124) aufgrund ihrer hohen berechneten Hitzetoleranz von über 65 % positiv auf (Tabelle 13, Tabelle 14). Die Akzession Nr. 110 hat eine berechnete Hitzetoleranz von 60 %. Bei der Sorte Hammonds Dwarf Scarlet (Nr. 70) und der Akzession Nr. 58 liegt die berechnete Hitzetoleranz unter 60 %.

- Die Akzession Nr. 110 (BVAL-610531). Die Bohnen kommen aus Budapest, Ungarn und werden als violett-schwarz marmoriert beschrieben.
- Die Akzession Nr. 102 (BVAL-610413). Die Bohnen stammen aus Podgoria, Burgenland, Österreich und werden als cremeweiß beschrieben.
- Die Akzession Nr. 114 (BVAL-610639) stammt aus dem Burgenland und wird als weiß beschrieben.
- Die Linie B1604 (Nr. 124) stammt aus Gleisdorf, Steiermark, Österreich und wird als violett marmoriert beschrieben.

Durch die Geno- und Phänotypisierung in den beiden CharAccess-Projekten konnten aus dem Genbankmaterial der Genbank Linz 7 Akzessionen und 1 Linie mit potenziellen Hitzetoleranzgenen und/oder guter Performanz ausgewählt werden. 3 dieser Akzessionen wurden bereits bei der Saatzucht Gleisdorf im Freiland einjährig gescreent und blieben im Ertragsniveau unter Bonela, weswegen diese ohne Genotypisierung nicht als Kreuzungspartner ausgewählt würden.

## 5.2 Vorhersage der Hitzetoleranz

Wie durch die Charakterisierung der Hitzetoleranz der im Rahmen von CharAccess phänotypisierten Akzessionen erkennbar ist, kann die Genetik auf Basis der 18 SNP Marker einen Hinweis auf das Ausmaß der Hitzetoleranz der Akzessionen geben. Für 4 von 6 Akzessionen stimmte ein hoher Prozentwert ( $> 65\%$ ) mit einem hohen Ertrag überein, und für 3 von 4 Akzessionen hat ein niedriger Prozentwert ( $< 50\%$ ) mit keinerlei Ertrag unter Hitzebedingungen übereingestimmt. Es wurden aber auch Akzessionen beobachtet, die einen hohen Prozentwert ( $\geq 65\%$ ) aufweisen, jedoch keine Hülsen gebildet haben (z.B. Akzession Nr. 101, 65 %), sowie Akzessionen mit einem niedrigeren Prozentwert ( $< 65\%$ ), die viele Hülsen gebildet haben (z.B. Akzession Nr. 110, 60 %, 13 Hülsen; Tabelle 13).

Daraus lässt sich schließen, dass die Vorhersage auf Basis der 18 SNPs als guter Ansatzpunkt gelten kann, der jedoch einer weiteren Überprüfung bedarf. Ob eine erhöhte Hitzetoleranz durch die Genetik und im Speziellen durch die ausgewählten SNPs zuverlässig vorhergesagt werden kann, muss in weiteren Praxisversuchen überprüft werden. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse sollte dabei ein Fokus auf jene Genotypen gelegt werden, die Prozentwerte zwischen 50 % und 65 % aufweisen, um eine möglichst sichere Vorhersage der Hitzetoleranz zu gewährleisten.

Aufgrund der vorliegenden Sequenzierdaten konnten auch jene 33 Akzessionen, welche im Vorläuferprojekt zwar mittels RADseq genotypisiert, aber weder in CharAccess noch in CharAccess II phänotypisiert worden sind, auf mögliche Hitzetoleranz analysiert werden. Bei der Vorhersage der Hitzetoleranz anhand der 18 SNP Marker stechen zwei Akzessionen hervor, die einen Wert von über 65% aufweisen und für die damit ein hoher Ertrag unter Hitzebedingungen prognostiziert wird (Tabelle 15):

- Die Akzession Nr. 57 (BVAL-610274) stammt aus St. Nikolai, Steiermark, Österreich und wird als hellbraun fleckig beschrieben.
- Die Akzession Nr. 62 (BVAL-610329) stammt aus Oberhaag, Steiermark, Österreich und wird als hellbraun beschrieben.

Ähnlich können weitere Herkünfte bzw. Zuchtmaterial mit Hilfe der definierten SNPs gescreent und ausgewählt werden. So wurde auch in einer Zuchtlinie der Saatzucht Gleisdorf GmbH (B1604) ein hoher Prozentsatz potentieller Hitzetoleranzgene gefunden, was die Bestrebungen, diese Linie weiter zu entwickeln, bestärkt.

Nach derzeitigem Wissensstand können die gefundenen SNPs ein guter Indikator sein, um Hitzetoleranz vorherzusagen. Dennoch ist zunächst auch die Beobachtung des Pflanzenmaterials, wie beispielsweise der oben genannten Akzessionen unter Hitzestressbedingungen, ein wesentlicher Bestandteil der Selektion. Bestätigt sich die Hitzetoleranz der ausgewählten Pflanzen ist von einer Zuverlässigkeit der gefundenen SNP Marker auszugehen.

### 5.3 Dendrogramme

Auch die Dendrogramme geben Hinweise auf mögliche weitere Strategien, die im Zusammenhang mit der Züchtung hitzetoleranter Käferbohnen berücksichtigt werden können. So zeigen die zwei Akzessions-basierten Dendrogramme, dass Akzessionen mit erhöhter Hitzetoleranz genetisch nicht miteinander verwandt sein müssen (Abbildung 24, Abbildung 25).

Für die Suche nach hitzetoleranten Akzessionen lohnt sich daher die komplette Überprüfung der umfangreichen internationalen Genbanken eher als der Fokus auf bestimmte genetische Herkünfte.

Die Dendrogramme, die auf den ausgewählten 54 SNPs beruhen (Abbildung 25, Abbildung 26), eignen sich nur bedingt als Grundlage für die Interpretationen zur genetischen Distanz und Verwandtschaft. Für eine geeignete Analytik wird üblicherweise eine höhere Anzahl (im 3- bis 4-stelligen Bereich) von SNP Markern herangezogen. Außerdem sollten diese SNP Marker neutral sein und nicht adaptiv wie im vorliegenden Fall. So weisen die Zuchtlinien B1208 und B1604, die laut Informationen der Züchterin durch Züchtungen mit der Referenzsorte Bonela entstanden sind, in dem Dendrogramm keine genetische Nähe zu der Referenzsorte auf (Abbildung 25).

Im Individuen-basierten Dendrogramm fällt insbesondere auf, dass die Referenzsorte Bonela (BVAL-610800) eine hohe genetische Diversität aufweist. Allerdings bestätigt sich auch das Bild aus CharAccess, dass die meisten untersuchten Akzessionen genetisch sehr homogen und schwach divers einzustufen sind. Dadurch wird die Annahme abgeschwächt, dass die Genotypen von individuellen Käferbohnenpflanzen jedenfalls hohe Diversität aufweisen. Es ist daher nicht zwingend notwendig, Geno- und Phänotypen auf strikter Individuenebene zu untersuchen, wie es im Rahmen von CharAccess erfolgt ist. Herkünfte können damit auf Grundlage der Genotypen von wenigen Pflanzen rasch gescreent werden, was ein Vorteil aufgrund der teilweise eingeschränkten Verfügbarkeit sowohl von Genbank- als auch Zuchtmaterial ist.



## 6 Ausblick

Durch die in CharAccess ermittelten Marker kann frühzeitig überprüft werden, ob die Kreuzung gelungen ist und ob in den Nachkommen die potenziellen Hitzetoleranzgene vorhanden sind oder nicht. So kann die Anzahl der in den Folgejahren bearbeiteten Nachkommen frühzeitig und gezielt reduziert werden. Dies ist immens wichtig, da die Käferbohne ein strikter Fremdbefruchter ist und eine Linienentwicklung nur mit Einzelpflanzen auf isolierten Standorten, einzeln mit Bestäuberinsekten eingenetzt oder mit gezielten manuellen Selbstungen möglich ist, was in jedem Fall wiederum mit hohem Aufwand verbunden ist.

Es konnten in beiden CharAccess-Projekten potenziell hitzetolerante Akzessionen ermittelt werden. Diese sollen 2022 als Kreuzungspartner für die Entwicklung hitzetoleranter Käferbohnenlinien herangezogen werden. Von den jeweiligen Einzelpflanzen in den gezielten Kreuzungen wird Pflanzenmaterial für eine mögliche spätere Überprüfung mittels der im Rahmen des Projekts ermittelten Marker gesampelt und eingelagert werden. 2023 werden die gekreuzten Samen angebaut und wiederum Pflanzenmaterial gesampelt und überprüft. In Entwicklung befindliches spaltendes Zuchtmaterial aus Kreuzungen von Käfer- und Gartenbohnen (*Phaseolus coccineus* x *Phaseolus vulgaris*) könnte ebenfalls mit Hilfe der in Characcess gewonnenen Marker auf potentielle Hitzetoleranzgene überprüft werden.

Die in CharAccess gewonnenen Erkenntnisse werden eine Entwicklung neuer Linien beschleunigen und weniger aufwändig machen, als dies mit rein konventionellen Züchtungsmethoden möglich ist.

# 7 Anhang

## 7.1 Übersicht der untersuchten Akzessionen

Tabelle 16: Übersicht über die zeitlichen Geno- und Phänotypisierungen der 113 Akzessionen im Gesamtprojekt.

Nummer	ID	Sortenname	Genotypisiert CH	Phänotypisiert CH	Genotypisiert CH-II	Phänotypisiert CH-II
1	BVAL-610108		Ja	Ja	Nein	Nein
2	BVAL-610109		Ja	Nein	Nein	Ja
3	BVAL-610110		Ja	Nein	Nein	Nein
4	BVAL-610112		Ja	Ja	Nein	Ja
5	BVAL-610113		Ja	Nein	Nein	Nein
6	BVAL-610124		Ja	Ja	Ja	Ja
7	BVAL-610125		Ja	Nein	Nein	Nein
8	BVAL-610130		Ja	Nein	Nein	Ja
9	BVAL-610131		Ja	Nein	Nein	Nein

Nummer	ID	Sortenname	Genotypisiert CH	Phänotypisiert CH	Genotypisiert CH-II	Phänotypisiert CH-II
10	BVAL-610135		Ja	Nein	Nein	Ja
11	BVAL-610137		Ja	Nein	Nein	Nein
12	BVAL-610138		Ja	Ja	Nein	Nein
13	BVAL-610140		Ja	Nein	Nein	Ja
14	BVAL-610141		Ja	Nein	Nein	Nein
15	BVAL-610142		Ja	Nein	Nein	Nein
16	BVAL-610143		Ja	Ja	Nein	Nein
17	BVAL-610144		Ja	Nein	Nein	Ja
18	BVAL-610145		Ja	Nein	Nein	Nein
19	BVAL-610146		Ja	Ja	Nein	Nein
20	BVAL-610147		Ja	Nein	Nein	Ja
21	BVAL-610150		Ja	Nein	Nein	Ja
22	BVAL-610151		Ja	Nein	Nein	Ja
23	BVAL-610158		Ja	Nein	Nein	Ja
24	BVAL-610159		Ja	Nein	Nein	Ja

Nummer	ID	Sortenname	Genotypisiert CH	Phänotypisiert CH	Genotypisiert CH-II	Phänotypisiert CH-II
25	BVAL-610160		Ja	Nein	Nein	Nein
26	BVAL-610161		Ja	Nein	Nein	Nein
27	BVAL-610162		Ja	Nein	Nein	Nein
28	BVAL-610172		Ja	Nein	Nein	Nein
29	BVAL-610173		Ja	Ja	Nein	Nein
30	BVAL-610174		Ja	Nein	Nein	Nein
31	BVAL-610180		Ja	Nein	Nein	Ja
32	BVAL-610181		Ja	Ja	Ja	Ja
34	BVAL-610183		Ja	Ja	Nein	Nein
35	BVAL-610184		Ja	Nein	Nein	Ja
36	BVAL-610192		Ja	Nein	Nein	Ja
37	BVAL-610194		Ja	Nein	Nein	Nein
38	BVAL-610195		Ja	Nein	Nein	Ja
39	BVAL-610196		Ja	Nein	Nein	Nein
40	BVAL-610197		Ja	Ja	Ja	Ja

Nummer	ID	Sortenname	Genotypisiert CH	Phänotypisiert CH	Genotypisiert CH-II	Phänotypisiert CH-II
41	BVAL-610198		Ja	Nein	Nein	Nein
42	BVAL-610199		Ja	Nein	Nein	Ja
43	BVAL-610200		Ja	Nein	Nein	Ja
44	BVAL-610204		Ja	Nein	Nein	Nein
45	BVAL-610215		Ja	Ja	Nein	Nein
46	BVAL-610216		Ja	Nein	Nein	Nein
47	BVAL-610218		Ja	Nein	Nein	Nein
48	BVAL-610248		Ja	Nein	Nein	Ja
49	BVAL-610249		Ja	Nein	Nein	Ja
50	BVAL-610250		Ja	Ja	Ja	Ja
51	BVAL-610251		Ja	Nein	Nein	Nein
52	BVAL-610252		Ja	Nein	Nein	Nein
53	BVAL-610258		Ja	Ja	Nein	Nein
54	BVAL-610259		Ja	Ja	Nein	Nein
55	BVAL-610260		Ja	Nein	Nein	Ja

Nummer	ID	Sortenname	Genotypisiert CH	Phänotypisiert CH	Genotypisiert CH-II	Phänotypisiert CH-II
56	BVAL-610261		Ja	Nein	Nein	Nein
57	BVAL-610274		Ja	Nein	Nein	Nein
58	BVAL-610285		Ja	Nein	Nein	Ja
59	BVAL-610301		Ja	Ja	Ja	Ja
60	BVAL-610302		Ja	Ja	Nein	Nein
61	BVAL-610303		Ja	Nein	Nein	Nein
62	BVAL-610329		Ja	Nein	Nein	Nein
63	BVAL-610334		Ja	Ja	Nein	Nein
64	BVAL-610342		Ja	Nein	Nein	Nein
65	BVAL-610345		Ja	Nein	Nein	Nein
66	BVAL-610347		Ja	Ja	Nein	Nein
67	BVAL-610348		Ja	Ja	Ja	Ja
68	BVAL-610349		Ja	Nein	Nein	Ja
69	BVAL-610350	Prijswinner	Ja	Nein	Nein	Ja
70	BVAL-610351	Hammonds Dwarf Scarlet	Ja	Nein	Nein	Ja

Nummer	ID	Sortenname	Genotypisiert CH	Phänotypisiert CH	Genotypisiert CH-II	Phänotypisiert CH-II
71	BVAL-610386		Ja	Nein	Nein	Nein
72	BVAL-610387		Ja	Nein	Nein	Nein
73	BVAL-610388		Ja	Ja	Nein	Ja
74	BVAL-610468		Ja	Nein	Nein	Ja
75	BVAL-610469		Ja	nein	Nein	Nein
76	BVAL-610470		Ja	Nein	Nein	Ja
77	BVAL-610475		Ja	Ja	Nein	Nein
78	BVAL-610487		Ja	Nein	Nein	Ja
79	BVAL-610547		Ja	Nein	Nein	Nein
80	BVAL-610635		Ja	Nein	Nein	Ja
82	BVAL-610637		Ja	Ja	Nein	Ja
83	BVAL-610675		Ja	Nein	Nein	Nein
84	BVAL-610734		Ja	Ja	Nein	Nein
85	BVAL-610750		Ja	Nein	Nein	Nein
86	BVAL-610776		Ja	Nein	Nein	Ja

Nummer	ID	Sortenname	Genotypisiert CH	Phänotypisiert CH	Genotypisiert CH-II	Phänotypisiert CH-II
87	BVAL-610807	Melange	Ja	Ja	Nein	Ja
88	BVAL-610800	Bonela	Ja	Ja	Ja	Ja
89	BVAL-610809	Steirische Riesen	Ja	Ja	Nein	Ja
91	BVAL-610814	Hestia	Ja	Ja	Nein	Nein
92	BVAL-610815	Lady Di	Ja	Ja	Nein	Ja
93	BVAL-610812	Hara	Ja	Ja	Nein	Ja
94	BVAL-610811	Choco	Ja	Ja	Nein	Ja
95	BVAL-610813	Hellviolette	Ja	Ja	Nein	Ja
96	BVAL-610810	Aldrian	Ja	Ja	Nein	Ja
97	BVAL-610816	Prijswinner	Ja	Ja	Nein	Nein
100	BVAL-610392		Nein	Nein	Ja	Ja
101	BVAL-610393		Nein	Nein	Ja	Ja
102	BVAL-610413		Nein	Nein	Ja	Ja
103	BVAL-610419		Nein	Nein	Ja	Ja
104	BVAL-610457		Nein	Nein	Ja	Ja



Nummer	ID	Sortenname	Genotypisiert CH	Phänotypisiert CH	Genotypisiert CH-II	Phänotypisiert CH-II
107	BVAL-610488		Nein	Nein	Ja	Ja
108	BVAL-610489		Nein	Nein	Ja	Ja
110	BVAL-610531		Nein	Nein	Ja	Ja
111	BVAL-610619		Nein	Nein	Ja	Ja
112	BVAL-610627		Nein	Nein	Ja	Ja
113	BVAL-610634		Nein	Nein	Ja	Ja
114	BVAL-610639		Nein	Nein	Ja	Ja
115	BVAL-610648		Nein	Nein	Ja	Ja
116	BVAL-610649		Nein	Nein	Ja	Ja
117	BVAL-610650		Nein	Nein	Ja	Ja
121	PHC-0013		Nein	Nein	Ja	Ja
122	PHC-0015		Nein	Nein	Ja	Ja
123	B1208		Nein	Nein	Ja	Ja
124	B1604		Nein	Nein	Ja	Ja

Tabelle 17: Übersicht über Herkunft und Aussehen der 113 untersuchten Akzessionen im Gesamtprojekt.

Nr.	ID	Sorten-name	Herkunft	Sammelort	HKM g	medianer Längs-schnitt	mittlerer Quer-schnitt	Farben	Haupt-farbe	Vert. Sekundär-farbe	Weiß Aderung	Nabel-umrandung
1	BVAL-610108		AUT	Breitenfeld	145	breit elliptisch	schmal elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		gleiche Farbe
2	BVAL-610109		AUT	Breitenfeld	158	nierenförmig	elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		andere Farbe
3	BVAL-610110		AUT	Breitenfeld	153	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Hellbraun	fleckig		andere Farbe
4	BVAL-610112		AUT	Wolfsberg	178	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		gleiche Farbe
5	BVAL-610113		AUT	Wolfsberg	150	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Hellbraun	fleckig		andere Farbe
6	BVAL-610124		AUT	Mettersdorf	156	nierenförmig	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe
7	BVAL-610125		AUT	Mettersdorf	140	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Hellbraun	fleckig		andere Farbe
8	BVAL-610130		AUT	St. Nikolai	156	nierenförmig	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe

Nr.	ID	Sorten-name	Herkunft	Sammelort	HKM g	medianer Längs-schnitt	mittlerer Quer-schnitt	Farben	Haupt-farbe	Vert. Sekundär-farbe	Weiß Aderung	Nabel-umrandung
9	BVAL-610131		AUT	St. Nikolai	134	nierenförmig	schmal elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		gleiche Farbe
10	BVAL-610135		AUT	St. Peter	124	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe
11	BVAL-610137		AUT	St. Peter	147	nierenförmig	schmal elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		andere Farbe
12	BVAL-610138		AUT	St. Peter	173	nierenförmig	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	fleckig		gleiche Farbe
13	BVAL-610140		AUT	St. Peter	125	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe
14	BVAL-610141		AUT	St. Peter	137	nierenförmig	elliptisch	zwei	Hellbraun	fleckig		andere Farbe
15	BVAL-610142		AUT	St. Peter	169	nierenförmig	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	fleckig		andere Farbe
16	BVAL-610143		AUT	St. Peter	169	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		gleiche Farbe
17	BVAL-610144		AUT	St. Peter	144	elliptisch	elliptisch	eine	Weiß	#	gering	gleiche Farbe

Nr.	ID	Sorten-name	Herkunft	Sammelort	HKM g	medianer Längs-schnitt	mittlerer Quer-schnitt	Farben	Haupt-farbe	Vert. Sekundär-farbe	Weiß Aderung	Nabel-umrandung
18	BVAL-610145		AUT	St. Peter	143	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		andere Farbe
19	BVAL-610146		AUT	St. Peter	166	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Hellbraun	fleckig		andere Farbe
20	BVAL-610147		AUT	St. Peter	129	nierenförmig	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe
21	BVAL-610150		AUT	Vogau	100	breit elliptisch	schmal elliptisch	zwei	Hellbraun	fleckig		andere Farbe
22	BVAL-610151		AUT	Vogau	134	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		gleiche Farbe
23	BVAL-610158		AUT	Vogau	117	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		gleiche Farbe
24	BVAL-610159		AUT	Vogau	125	nierenförmig	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	fleckig		gleiche Farbe
25	BVAL-610160		AUT	Vogau	149	breit elliptisch	elliptisch	eine	Weiß	#	mittel	gleiche Farbe
26	BVAL-610161		AUT	Vogau	131	breit elliptisch	kreisförmig	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe

Nr.	ID	Sorten-name	Herkunft	Sammelort	HKM g	medianer Längs-schnitt	mittlerer Quer-schnitt	Farben	Haupt-farbe	Vert. Sekundär-farbe	Weiß Aderung	Nabel-umrandung
27	BVAL-610162		AUT	Vogau	109	elliptisch	elliptisch	zwei	Hellbraun	fleckig		andere Farbe
28	BVAL-610172		AUT	Eichberg	141	nierenförmig	elliptisch	zwei	Hellbraun	fleckig		andere Farbe
29	BVAL-610173		AUT	Maltschach	195	breit elliptisch	kreisförmig	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		andere Farbe
30	BVAL-610174		AUT	Maltschach	150	nierenförmig	elliptisch	eine	Weiß	#	gering	gleiche Farbe
31	BVAL-610180		AUT	Klausen	131	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe
32	BVAL-610181		AUT	Klausen	139	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	fleckig		andere Farbe
34	BVAL-610183		AUT	Klausen	129	breit elliptisch	schmal elliptisch	eine	schwarz	#	#	gleiche Farbe
35	BVAL-610184		AUT	Klausen	136	nierenförmig	elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		andere Farbe
36	BVAL-610192		AUT	Feldbach	137	breit elliptisch	elliptisch	eine	Weiß	#	gering	gleiche Farbe

Nr.	ID	Sorten-name	Herkunft	Sammelort	HKM g	medianer Längs-schnitt	mittlerer Quer-schnitt	Farben	Haupt-farbe	Vert. Sekundär-farbe	Weiß Aderung	Nabel-umrandung
37	BVAL-610194		AUT	Feldbach	113	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe
38	BVAL-610195		AUT	Misselsdorf	153	breit elliptisch	elliptisch	eine	Weiß	#	mittel	gleiche Farbe
39	BVAL-610196		AUT	Misselsdorf	135	breit elliptisch	schmal elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		gleiche Farbe
40	BVAL-610197		AUT	Misselsdorf	162	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe
41	BVAL-610198		AUT	Misselsdorf	143	nierenförmig	schmal elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe
42	BVAL-610199		AUT	Misselsdorf	141	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	fleckig		andere Farbe
43	BVAL-610200		AUT	Misselsdorf	139	breit elliptisch	schmal elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe
44	BVAL-610204		AUT	Unterpurkla	100	breit elliptisch	schmal elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe
45	BVAL-610215		AUT	St. Anna	145	breit elliptisch	kreisförmig	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe

Nr.	ID	Sorten-name	Herkunft	Sammelort	HKM g	medianer Längs-schnitt	mittlerer Quer-schnitt	Farben	Haupt-farbe	Vert. Sekundär-farbe	Weiß Aderung	Nabel-umrandung
46	BVAL-610216		AUT	St. Anna	145	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe
47	BVAL-610218		AUT	St. Anna	119	elliptisch	schmal elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		andere Farbe
48	BVAL-610248		AUT	Lebring	110	breit elliptisch	schmal elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		gleiche Farbe
49	BVAL-610249		AUT	Lebring	105	nierenförmig	elliptisch	zwei	Hellbraun	fleckig		andere Farbe
50	BVAL-610250		AUT	Lebring	224	breit elliptisch	schmal elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		andere Farbe
51	BVAL-610251		AUT	Lebring	166	breit elliptisch	elliptisch	eine	Weiß	#	gering	gleiche Farbe
52	BVAL-610252		AUT	Lebring	152	nierenförmig	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	fleckig		andere Farbe
53	BVAL-610258		AUT	St. Nikolai	165	elliptisch	elliptisch	eine	schwarz	#	#	gleiche Farbe
54	BVAL-610259		AUT	St. Nikolai	166	elliptisch	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe

Nr.	ID	Sorten-name	Herkunft	Sammelort	HKM g	medianer Längs-schnitt	mittlerer Quer-schnitt	Farben	Haupt-farbe	Vert. Sekundär-farbe	Weiß Aderung	Nabel-umrandung
55	BVAL-610260		AUT	St. Nikolai	173	breit elliptisch	schmal elliptisch	eine	Hellbraun	#	#	gleiche Farbe
56	BVAL-610261		AUT	St. Nikolai	159	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		gleiche Farbe
57	BVAL-610274		AUT	St. Nikolai	152	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Hellbraun	fleckig		andere Farbe
58	BVAL-610285		AUT	St. Nikolai	116	nierenförmig	elliptisch	eine	Weiß	#	mittel	gleiche Farbe
59	BVAL-610301		AUT	Groß St. Florian	158	breit elliptisch	elliptisch	eine	Weiß	#	gering	gleiche Farbe
60	BVAL-610302		AUT	Groß St. Florian	129	breit elliptisch	kreisförmig	eine	Weiß	#	mittel	gleiche Farbe
61	BVAL-610303		AUT	Unterbergla /Gross St. Florian	150	breit elliptisch	schmal elliptisch	zwei	Hellbraun	fleckig		andere Farbe
62	BVAL-610329		AUT	Oberhaag	142	nierenförmig	elliptisch	eine	Hellbraun	#	#	gleiche Farbe
63	BVAL-610334		AUT	Oberhaag	158	elliptisch	elliptisch	eine	schwarz	#	#	gleiche Farbe



Nr.	ID	Sorten-name	Herkunft	Sammelort	HKM g	medianer Längs-schnitt	mittlerer Quer-schnitt	Farben	Haupt-farbe	Vert. Sekundär-farbe	Weiß Aderung	Nabel-umrandung
64	BVAL-610342		AUT	Oberhaag	84	breit elliptisch	schmal elliptisch	zwei	violett	fleckig		andere Farbe
65	BVAL-610345		AUT	Oberhaag	146	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe
66	BVAL-610347		AUT	Oberhaag	143	elliptisch	elliptisch	eine	Weiß	#	gering	gleiche Farbe
67	BVAL-610348		ITA	Santuario Madonna di Polsi	121	elliptisch	elliptisch	eine	Weiß	#	gering	gleiche Farbe
68	BVAL-610349				102	nierenförmig	schmal elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		gleiche Farbe
69	BVAL-610350	Prijswinner	DDR		131	nierenförmig	elliptisch	zwei	violett	fleckig		andere Farbe
70	BVAL-610351	Hammonds Dwarf Scarlet			122	nierenförmig	elliptisch	zwei	violett	fleckig		andere Farbe
71	BVAL-610386		AUT	Stadtschlainging	103	elliptisch	elliptisch	eine	Weiß	#	gering	gleiche Farbe
72	BVAL-610387		AUT	Stadtschlainging	105	schmal elliptisch	elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		andere Farbe

Nr.	ID	Sorten- name	Herkunft	Sammelort	HKM g	medianer Längs- schnitt	mittlerer Quer- schnitt	Farben	Haupt- farbe	Vert. Sekundär- farbe	Weiß Aderu- ng	Nabel- umrandu- ng
73	BVAL-610388		AUT	Stadtschlain- ing	142	elliptisch	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe
74	BVAL-610468		AUT	Löffelbach	154	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		andere Farbe
75	BVAL-610469		AUT	Löffelbach	147	nierenför- mig	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe
76	BVAL-610470		AUT	Löffelbach	109	breit elliptisch	elliptisch	eine	Weiß	#	gering	gleiche Farbe
77	BVAL-610475		CHN	Chengdu, Sichuan	77	elliptisch	schmal elliptisch	eine	Weiß	#	gering	gleiche Farbe
78	BVAL-610487		AUT		163	breit elliptisch	elliptisch	eine	schwarz	#	#	gleiche Farbe
79	BVAL-610547		AUT	Styria	155	breit elliptisch	elliptisch	eine	Weiß	#	gering	gleiche Farbe
80	BVAL-610635		AUT	Burgenland	113	nierenför- mig	schmal elliptisch	zwei	Hellbraun	fleckig		andere Farbe
82	BVAL-610637		AUT	Burgenland	135	elliptisch	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe

Nr.	ID	Sortenname	Herkunft	Sammelort	HKMg	medianer Längsschnitt	mittlerer Querschnitt	Farben	Hauptfarbe	Vert. Sekundärfarbe	Weiß Aderung	Nabelumrandung
83	BVAL-610675		AUT	Deutschland sberg	128	schmal elliptisch	elliptisch	eine	schwarz	#	#	gleiche Farbe
84	BVAL-610734		PRT	Funchal, Madeira	105	elliptisch	elliptisch	eine	Weiß	#	gering	gleiche Farbe
85	BVAL-610750		AUT	Oberhaag	117	elliptisch	elliptisch	eine	Weiß	#	gering	gleiche Farbe
86	BVAL-610776		AUT	Leonding	153	elliptisch	elliptisch	eine	schwarz	#	#	gleiche Farbe
87	BVAL-610807	Melange	AUT	Wies	186	nierenförmig	elliptisch	zwei	Hellbraun	fleckig		gleiche Farbe
88	BVAL-610800	Bonela	AUT	Wies	208	breit elliptisch	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe
89	BVAL-610809	Steirische Riesen	AUT	Wies	199	nierenförmig	elliptisch	eine	Weiß	#	gering	gleiche Farbe
91	BVAL-610814	Hestia	NL	Holland Select Research BV	77	nierenförmig	schmal elliptisch	zwei	violett	fleckig		andere Farbe
92	BVAL-610815	Lady Di	NL	Holland Select Research BV	82	nierenförmig	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	marmoriert		gleiche Farbe

Nr.	ID	Sortenname	Herkunft	Sammelort	HKMg	medianer Längsschnitt	mittlerer Querschnitt	Farben	Hauptfarbe	Vert. Sekundärfarbe	Weiß Aderung	Nabelumrandung
93	BVAL-610812	Hara	AUT	Wies	158	breit elliptisch	elliptisch	eine	schwarz	#	#	gleiche Farbe
94	BVAL-610811	Choco	AUT	Wies	177	breit elliptisch	elliptisch	eine	Hellbraun	#	#	gleiche Farbe
95	BVAL-610813	Hellviolette	AUT	Wies	173	nierenförmig	elliptisch	zwei	Rosa hell violett	fleckig		andere Farbe
96	BVAL-610810	Aldrian	AUT	Wies	168	elliptisch	elliptisch	zwei	Hellbraun	marmoriert		andere Farbe
97	BVAL-610816	Prijswinner	NL	zugel. NL u. UK, schon im 1 Katalog seit 1972	119	schmal elliptisch	elliptisch	zwei	violett	fleckig		andere Farbe
100	BVAL-610392		AUT	Allersdorf	97	breit elliptisch	elliptisch	zwei	violett/lila	marmoriert		gleiche Farbe
101	BVAL-610393		AUT	Alersdorf	111	nierenförmig	schmal elliptisch	eine	cremeweiß			gleiche Farbe
102	BVAL-610413		AUT	Podgoria	70	breit elliptisch	elliptisch	eine	cremeweiß			gleiche Farbe
103	BVAL-610419		AUT	Althodis	99	nierenförmig	elliptisch	eine	weiß			

Nr.	ID	Sortenname	Herkunft	Sammelort	HKMg	medianer Längsschnitt	mittlerer Querschnitt	Farben	Hauptfarbe	Vert. Sekundärfarbe	Weiß Aderung	Nabelumrandung
104	BVAL-610457		AUT	Gschmaier	114	breit elliptisch	elliptisch	zwei	violett/lila	mamoriert		gleiche Farbe
107	BVAL-610488		AUT		130	breit elliptisch	kreisförmig	zwei	violett/lila und weiß	mamoriert		gleiche Farbe
108	BVAL-610489		AUT		141	breit elliptisch	elliptisch	eine	cremeweiß			gleiche Farbe
110	BVAL-610531		HUN	Budapest	107	nierenförmig	elliptisch	zwei	violett-schwarz/lila	marmoriert		gleiche Farbe
111	BVAL-610619		AUT	Deutschland sberg	132	breit elliptisch	kreisförmig	eine	violett/lila und schwarz			
112	BVAL-610627		AUT	St. Michael	148	breit elliptisch	kreisförmig	eine	braun und schwarz			gleiche Farbe
113	BVAL-610634		AUT	Burgenland	95	breit elliptisch	elliptisch	zwei	violett/lila und gelb	fleckig		andere Farbe
114	BVAL-610639		AUT	Burgenland	98	elliptisch	elliptisch	eine	weiß			gleiche Farbe

Nr.	ID	Sorten- name	Herkunft	Sammelort	HKM g	medianer Längs- schnitt	mittlerer Quer- schnitt	Farben	Haupt- farbe	Vert. Sekundär- farbe	Weiß Aderu ng	Nabel- umrandu ng
115	BVAL-610648		AUT	Burgenland	108	elliptisch	elliptisch	zwei	braun und violett/lil a	marmoriert		gleiche Farbe
116	BVAL-610649		AUT	Burgenland	121	breit elliptisch	kreisförm ig	zwei	violett/lil a	marmoriert		gleiche Farbe
117	BVAL-610650		AUT	Burgenland	98	elliptisch	elliptisch	eine	weiß			gleiche Farbe
121	PHC-0013		ESP	Ponteiverda	119	breit elliptisch	elliptisch	eine	weiß			gleiche Farbe
122	PHC-0015		ESP	Ponteiverda	129	breit elliptisch	elliptisch	eine	weiß			gleiche Farbe
123	B1208		AUT	Gleisdorf	128	breit elliptisch	elliptisch	zwei	violett	mamoriert		gleiche Farbe
124	B1604		AUT	Gleisdorf	215	breit elliptisch	elliptisch	zwei	violett	mamoriert		gleiche Farbe

## 7.2 Temperaturverlauf und Hitzestress im Glashausversuch

Abbildung 27: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 30 °C im GH 1 über den Versuchszeitraum.

	29.06.- 05.07.	06.07.- 12.07.	13.07.- 19.07.	20.07.- 26.07.	27.07.- 02.08.	03.08.- 09.08.	10.08.- 16.08.	17.08.- 23.08.	24.08.- 30.08.	31.08.- 06.09.	07.09.- 13.09.	14.09.- 20.09.
Mo		6,8	0	5,8	9,2	0	10,2	0,2	2,4	0	0	0,2
Di	3	0	3,8	5,8	12,2	0	5	0	0	0	0	0
Mi	9	3,2	5	5,6	7,2	0	9,4	0	4,8	0	0	0
Do	7	3,8	0	7,4	11,2	2	8,2	7,8	0	0	0	0
Fr	0	11	0	3,2	10	9,6	0	7,8	3,4	0	0	0
Sa	4,6	0	0	3,4	10	11	0	7,6	0	3,6	0	
So	9,4	0	0	4,8	4,4	10,6	3,2	3	0	0	3,8	

Tage mit weniger als 4 gemessenen Stunden über 30 °C sind gelb, Tage mit über 4 gemessenen Stunden über 30 °C sind rot hinterlegt.

Abbildung 28: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 31 °C im GH 1 über den Versuchszeitraum.

	29.06.- 05.07.	06.07.- 12.07.	13.07.- 19.07.	20.07.- 26.07.	27.07.- 02.08.	03.08.- 09.08.	10.08.- 16.08.	17.08.- 23.08.	24.08.- 30.08.	31.08.- 06.09.	07.09.- 13.09.	14.09.- 20.09.
Mo		6,6	0	5,4	8,6	0	9,4	0	1	0	0	0
Di	1	0	1,4	5,2	11,2	0	4,6	0	0	0	0	0
Mi	7,2	1,8	3,8	4,2	5,2	0	8,4	0	2,6	0	0	0
Do	6	2	0	6	10,2	0,4	6,6	7	0	0	0	0
Fr	0	9,6	0	2,8	9,2	8,6	0	7	1,6	0	0	0
Sa	1,8	0	0	1,8	9,4	10,2	0	6,8	0	0	0	
So	8	0	0	3,8	3,8	9,8	1,6	1,6	0	0	2,4	

Tage mit weniger als 4 gemessenen Stunden über 31 °C sind gelb, Tage mit über 4 gemessenen Stunden über 31 °C sind rot hinterlegt.

Abbildung 29: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 33 °C im GH 1 über den Versuchszeitraum.

	29.06.- 05.07.	06.07.- 12.07.	13.07.- 19.07.	20.07.- 26.07.	27.07.- 02.08.	03.08.- 09.08.	10.08.- 16.08.	17.08.- 23.08.	24.08.- 30.08.	31.08.- 06.09.	07.09.- 13.09.	14.09.- 20.09.
Mo		4,8	0	4	6,2	0	8	0	0	0	0	0
Di	0	0	0	4,2	8,2	0	1,2	0	0	0	0	0
Mi	3,6	0	1,8	0,2	2,2	0	6,4	0	0	0	0	0
Do	3	0	0	3,6	8,4	0	4,6	5,2	0	0	0	0
Fr	0	7,8	0	0,2	7	6,4	0	4,4	0	0	0	0
Sa	0	0	0	0	7,4	8	0	5,2	0	0	0	
So	5,8	0	0	0,2	1	7,6	0,4	0	0	0	0	

Tage mit weniger als 4 gemessenen Stunden über 33 °C sind gelb, Tage mit über 4 gemessenen Stunden über 33 °C sind rot hinterlegt.

Abbildung 30: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 34 °C im GH 1 über den Versuchszeitraum.

	29.06.- 05.07.	06.07.- 12.07.	13.07.- 19.07.	20.07.- 26.07.	27.07.- 02.08.	03.08.- 09.08.	10.08.- 16.08.	17.08.- 23.08.	24.08.- 30.08.	31.08.- 06.09.	07.09.- 13.09.	14.09.- 20.09.
Mo		2,6	0	3,2	2,6	0	7,2	0	0	0	0	0
Di	0	0	0	3	7,6	0	0	0	0	0	0	0
Mi	2,2	0	0,2	0	0,6	0	5,4	0	0	0	0	0
Do	1,4	0	0	2,2	7,6	0	2,6	2,2	0	0	0	0
Fr	0	6,6	0	0	6	6	0	1,2	0	0	0	0
Sa	0	0	0	0	6,4	7	0	4	0	0	0	
So	2	0	0	0	0,2	5,8	0	0	0	0	0	

Tage mit weniger als 4 gemessenen Stunden über 34 °C sind gelb, Tage mit über 4 gemessenen Stunden über 34 °C sind rot hinterlegt.



Abbildung 31: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 35 °C im GH 1 über den Versuchszeitraum.

	29.06.- 05.07.	06.07.- 12.07.	13.07.- 19.07.	20.07.- 26.07.	27.07.- 02.08.	03.08.- 09.08.	10.08.- 16.08.	17.08.- 23.08.	24.08.- 30.08.	31.08.- 06.09.	07.09.- 13.09.	14.09.- 20.09.
Mo		0	0	1,2	0	0	6,4	0	0	0	0	0
Di	0	0	0	2	6,8	0	0	0	0	0	0	0
Mi	0,2	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
Do	0	0	0	0,4	5,4	0	0,2	0	0	0	0	0
Fr	0	4,8	0	0	4,8	4,2	0	0	0	0	0	0
Sa	0	0	0	0	5,2	6,8	0	2,6	0	0	0	
So	0	0	0	0	0	4,2	0	0	0	0	0	

Tage mit weniger als 4 gemessenen Stunden über 35 °C sind gelb, Tage mit über 4 gemessenen Stunden über 35 °C sind rot hinterlegt. Der im Projekt CharAccess künstlich erzeugte Hitzestress betrug 35 °C für 4 Stunden pro Tag.

Abbildung 32: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 30 °C im GH 2 über den Versuchszeitraum.

	29.06.- 05.07.	06.07.- 12.07.	13.07.- 19.07.	20.07.- 26.07.	27.07.- 02.08.	03.08.- 09.08.	10.08.- 16.08.	17.08.- 23.08.	24.08.- 30.08.	31.08.- 06.09.	07.09.- 13.09.	14.09.- 20.09.
Mo		6,2	0	4,6	8,6	0	9,4	0,4	2,6	0	0	4,6
Di	3,8	0	4,6	6,4	11,6	0	5	0	0,8	0	0	3,6
Mi	7,8	1,4	4,8	5,4	6,8	0	9	0	5,8	0	0,8	0,6
Do	6,4	4	0	6,4	10,6	1,6	7,8	7,6	0	0	0	0
Fr	0	10	0	2,8	9,6	8,8	0	8,4	3,6	0,6	1	0
Sa	3,8	0	0	2,4	9,2	10,2	0	7	0	4,8	3,4	
So	8,8	0	0	3,8	4,2	9,8	3,8	1	0	0	4,8	

Tage mit weniger als 4 gemessenen Stunden über 30 °C sind gelb, Tage mit über 4 gemessenen Stunden über 30 °C sind rot hinterlegt.

Abbildung 33: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 31 °C im GH 2 über den Versuchszeitraum.

	29.06.- 05.07.	06.07.- 12.07.	13.07.- 19.07.	20.07.- 26.07.	27.07.- 02.08.	03.08.- 09.08.	10.08.- 16.08.	17.08.- 23.08.	24.08.- 30.08.	31.08.- 06.09.	07.09.- 13.09.	14.09.- 20.09.
Mo		5,4	0	4	7,6	0	8,8	0	2	0	0	2,8
Di	3	0	3,4	5,6	10,4	0	5	0	0	0	0	2,2
Mi	6,6	0,4	3,6	4,2	5	0	8,2	0	4,4	0	0	0
Do	5,4	1,6	0	5,4	9,6	0	6,2	7	0	0	0	0
Fr	0	9,2	0	2,4	8,4	8,2	0	7	3	0	0	0
Sa	1,8	0	0	0,2	8,6	9,4	0	6,4	0	3,6	0,2	
So	7,2	0	0	2,8	3,4	9	2,6	0,6	0	0	2,8	

Tage mit weniger als 4 gemessenen Stunden über 31 °C sind gelb, Tage mit über 4 gemessenen Stunden über 31 °C sind rot hinterlegt.

Abbildung 34: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 33 °C im GH 2 über den Versuchszeitraum.

	29.06.- 05.07.	06.07.- 12.07.	13.07.- 19.07.	20.07.- 26.07.	27.07.- 02.08.	03.08.- 09.08.	10.08.- 16.08.	17.08.- 23.08.	24.08.- 30.08.	31.08.- 06.09.	07.09.- 13.09.	14.09.- 20.09.
Mo		2,8	0	2,6	4,6	0	7,6	0	0,2	0	0	0
Di	0	0	0	3,4	8	0	2,8	0	0	0	0	0
Mi	3,2	0	1,6	1	2,2	0	6,2	0	0	0	0	0
Do	1,8	0	0	3	7,8	0	4	5	0	0	0	0
Fr	0	7,2	0	0	6,8	5,8	0	5	0	0	0	0
Sa	0	0	0	0	6,8	7,8	0	4,8	0	0,2	0	
So	4	0	0	0	1,4	6,6	0,2	0	0	0	0	

Tage mit weniger als 4 gemessenen Stunden über 33 °C sind gelb, Tage mit über 4 gemessenen Stunden über 33 °C sind rot hinterlegt.

Abbildung 35: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 34 °C im GH 2 über den Versuchszeitraum.

	29.06.- 05.07.	06.07.- 12.07.	13.07.- 19.07.	20.07.- 26.07.	27.07.- 02.08.	03.08.- 09.08.	10.08.- 16.08.	17.08.- 23.08.	24.08.- 30.08.	31.08.- 06.09.	07.09.- 13.09.	14.09.- 20.09.
Mo		1	0	1,6	3	0	7,2	0	0	0	0	0
Di	0	0	0	2,8	7,2	0	1,4	0	0	0	0	0
Mi	0,2	0	0	0	0,4	0	4,8	0	0	0	0	0
Do	0,2	0	0	0,2	6,6	0	3	4	0	0	0	0
Fr	0	6,4	0	0	5,4	5,4	0	3,8	0	0	0	0
Sa	0	0	0	0	5,8	7,2	0	4	0	0	0	
So	2	0	0	0	0,2	5,8	0	0	0	0	0	

Tage mit weniger als 4 gemessenen Stunden über 34 °C sind gelb, Tage mit über 4 gemessenen Stunden über 34 °C sind rot hinterlegt.

Abbildung 36: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 35 °C im GH 2 über den Versuchszeitraum.

	29.06.- 05.07.	06.07.- 12.07.	13.07.- 19.07.	20.07.- 26.07.	27.07.- 02.08.	03.08.- 09.08.	10.08.- 16.08.	17.08.- 23.08.	24.08.- 30.08.	31.08.- 06.09.	07.09.- 13.09.	14.09.- 20.09.
Mo		0	0	0	1	0	5,4	0	0	0	0	0
Di	0	0	0	2	6	0	0	0	0	0	0	0
Mi	0	0	0	0	0	0	3,4	0	0	0	0	0
Do	0	0	0	0	5,6	0	2	2	0	0	0	0
Fr	0	5,6	0	0	3,6	5	0	2	0	0	0	0
Sa	0	0	0	0	4,6	6,6	0	3,4	0	0	0	
So	0	0	0	0	0	2,6	0	0	0	0	0	

Tage mit weniger als 4 gemessenen Stunden über 35 °C sind gelb, Tage mit über 4 gemessenen Stunden über 35 °C sind rot hinterlegt. Der im Projekt CharAccess künstlich erzeugte Hitzestress betrug 35 °C für 4 Stunden pro Tag.

### 7.3 Phänotypische Daten aus CharAccess II

Tabelle 18: Deskriptive Daten der 64 im Glashaus phänotypisierten Käferbohnen-Akzessionen und -Sorten. Die Referenzsorte Bonela ist rot eingefärbt. Die Höchstwerte der erhobenen Parameter sind fett markiert.

Nr.	ID	1. Blüte	1. Hülse	blühende Individuen	hülstragende Individuen	Blüten gesamt	Finale Anzahl Hülansenätze	Hülsen final	Bohnen gesamt	Bohnen pro Hülse	Gewicht pro Bohne
2	BVAL-610109	24.07.20	-	4/6	0	142	8	0	0	-	0
4	BVAL-610112	24.07.20	-	3/6	0	96	1	0	0	-	0
6	BVAL-610124	24.07.20	-	6/6	0	241	15	0	0	-	0
8	BVAL-610130	24.07.20	-	6/6	0	112	4	0	0	-	0
10	BVAL-610135	22.07.20	-	4/6	0	143	0	0	0	-	0
13	BVAL-610140	27.07.20	-	1/6	0	2	0	0	0	-	0
17	BVAL-610144	27.07.20	-	3/6	0	39	2	0	0	-	0
20	BVAL-610147	24.07.20	-	6/6	0	112	0	0	0	-	0
21	BVAL-610150	22.07.20	18.09.20	5/6	1/6	181	9	1	1	1,0	0,17
22	BVAL-610151	24.07.20	16.09.20	5/6	1/6	332	22	1	1	1,0	0,40
23	BVAL-610158	24.07.20	17.08.20	5/6	2/6	285	5	5	7	1,4	0,70

Nr.	ID	1. Blüte	1. Hülse	blühende Individuen	hülstragende Individuen	Blüten gesamt	Finale Anzahl Hülansenätze	Hülsen final	Bohnen gesamt	Bohnen pro Hülse	Gewicht pro Bohne
24	BVAL-610159	20.07.20	07.09.20	6/6	2/6	387	5	3	5	1,7	0,39
31	BVAL-610180	22.07.20	04.09.20	3/6	2/6	105	0	1	2	2,0	0,04
32	BVAL-610181	22.07.20	09.09.20	5/6	1/6	410	6	4	11	2,8	0,41
35	BVAL-610184	24.07.20	04.09.20	6/6	1/6	308	0	0	0	-	0
36	BVAL-610192	24.07.20	-	4/6	0	64	0	0	0	-	0
38	BVAL-610195	20.07.20	14.09.20	4/6	1/6	104	7	2	2	1,0	0,36
40	BVAL-610197	22.07.20	16.09.20	5/6	1/6	343	18	1	2	2,0	0,59
42	BVAL-610199	20.07.20	-	5/6	0	324	5	0	0	-	0
43	BVAL-610200	22.07.20	-	5/6	0	300	0	0	0	-	0
48	BVAL-610248	27.07.20	-	2/6	0	84	0	0	0	-	0
49	BVAL-610249	24.07.20	04.09.20	6/6	1/6	78	8	2	5	2,5	0,88
50	BVAL-610250	24.07.20	-	6/6	0	312	0	0	0	-	0
55	BVAL-610260	22.07.20	16.09.20	6/6	1/6	160	7	1	3	3,0	1,70
58	BVAL-610285	22.07.20	03.08.20	5/6	3/6	490	12	7	17	2,4	0,96
59	BVAL-610301	20.07.20	-	5/6	0	266	13	0	0	-	0
67	BVAL-610348	20.07.20	03.08.20	6/6	3/6	716	13	4	5	1,3	0,38

Nr.	ID	1. Blüte	1. Hülse	blühende Individuen	hülstragende Individuen	Blüten gesamt	Finale Anzahl Hülansenätze	Hülsen final	Bohnen gesamt	Bohnen pro Hülse	Gewicht pro Bohne
68	BVAL-610349	20.07.20	14.09.20	4/6	1/6	487	0	1	1	1,0	1,42
69	BVAL-610350	31.07.20	-	4/6	0	98	6	0	0	-	0
70	BVAL-610351	<b>15.07.20</b>	<b>31.07.20</b>	5/6	4/6	633	0	9	16	1,8	0,80
73	BVAL-610388	20.07.20	17.08.20	6/6	2/6	<b>733</b>	23	2	2	1,0	0,66
74	BVAL-610468	24.07.20	16.09.20	4/6	1/6	294	2	1	1	1,0	1,30
76	BVAL-610470	27.07.20	14.09.20	5/6	1/6	90	0	1	4	<b>4,0</b>	1,45
78	BVAL-610487	<b>15.07.20</b>	28.08.20	6/6	1/6	611	34	5	5	1,0	1,04
80	BVAL-610635	22.07.20	16.09.20	5/6	1/6	248	6	1	1	1,0	1,10
82	BVAL-610637	20.07.20	07.09.20	5/6	1/6	154	15	2	6	3,0	1,16
86	BVAL-610776	20.07.20	-	6/6	0	631	0	0	0	-	0
87	BVAL-610807	24.07.20	16.09.20	6/6	1/6	214	4	1	3	3,0	0,19
88	<b>BVAL-610800</b>	<b>31.07.20</b>	<b>16.09.20</b>	<b>4/6</b>	<b>1/6</b>	<b>68</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>2,0</b>	<b>1,01</b>
89	BVAL-610809	20.07.20	16.09.20	6/6	1/6	315	7	1	2	2,0	1,80
92	BVAL-610815	22.07.20	02.09.20	6/6	1/6	44	4	1	3	3,0	0,42
93	BVAL-610812	24.07.20	-	5/6	0	123	5	0	0	-	0
94	BVAL-610811	24.07.20	-	3/6	0	15	0	0	0	-	0

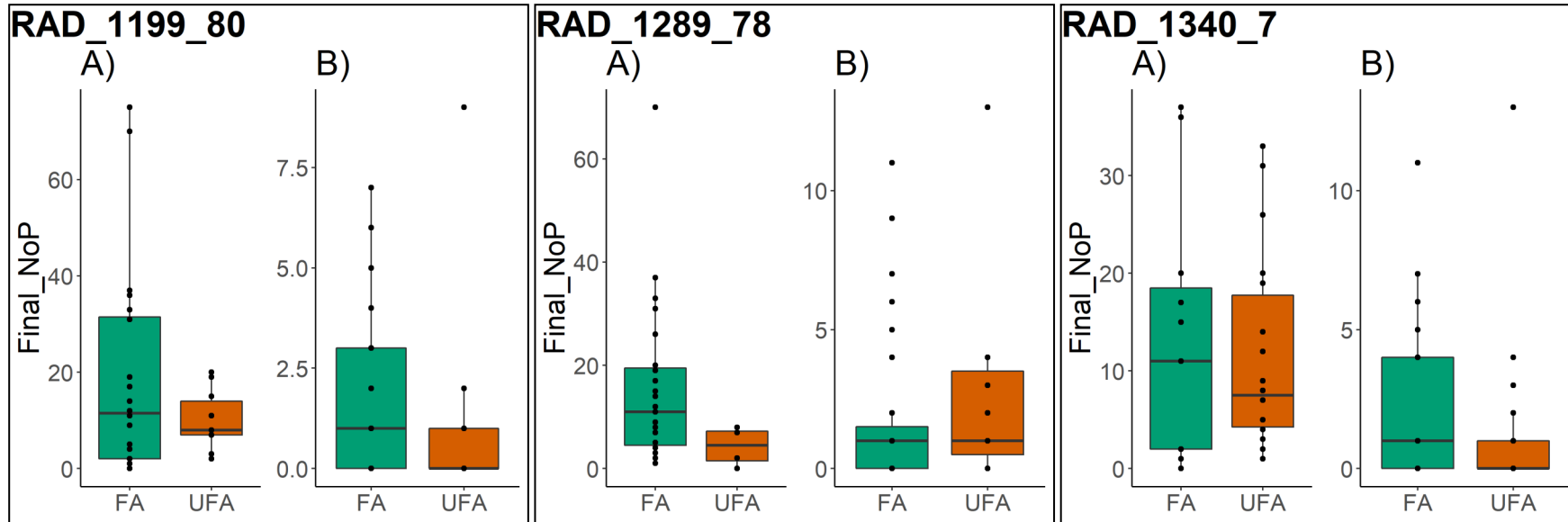
Nr.	ID	1. Blüte	1. Hülse	blühende Individuen	hülstragende Individuen	Blüten gesamt	Finale Anzahl Hülansenätze	Hülsen final	Bohnen gesamt	Bohnen pro Hülse	Gewicht pro Bohne
95	BVAL-610813	20.07.20	-	6/6	0	276	1	0	0	-	0
96	BVAL-610810	22.07.20	-	6/6	0	175	0	0	0	-	0
100	BVAL-610392	24.07.20	-	4/6	0	59	1	0	0	-	0
101	BVAL-610393	20.07.20	-	6/6	0	551	0	0	0	-	0
102	BVAL-610413	22.07.20	12.08.20	6/6	4/6	662	13	11	16	1,5	0,52
103	BVAL-610419	20.07.20	02.09.20	6/6	1/6	375	0	1	2	2,0	1,49
104	BVAL-610457	22.07.20	-	4/6	0	117	8	0	0	-	0
107	BVAL-610488	22.07.20	07.08.20	5/6	3/6	282	6	4	6	1,5	0,92
108	BVAL-610489	20.07.20	16.09.20	6/6	1/6	300	7	1	1	1,0	2,21
110	BVAL-610531	24.07.20	24.08.20	4/6	4/6	319	9	<b>13</b>	<b>29</b>	2,2	0,92
111	BVAL-610619	22.07.20	09.09.20	5/6	1/6	346	16	1	1	1,0	<b>1,90</b>
112	BVAL-610627	20.07.20	-	6/6	0	265	12	0	0	-	0
113	BVAL-610634	27.07.20	31.08.20	5/6	2/6	423	12	6	8	1,3	0,95
114	BVAL-610639	20.07.20	10.08.20	4/6	2/6	303	1	4	10	2,5	1,00
115	BVAL-610648	20.07.20	11.09.20	6/6	1/6	288	36	1	3	3,0	0,35
116	BVAL-610649	24.07.20	09.09.20	6/6	1/6	184	9	3	4	1,3	0,83

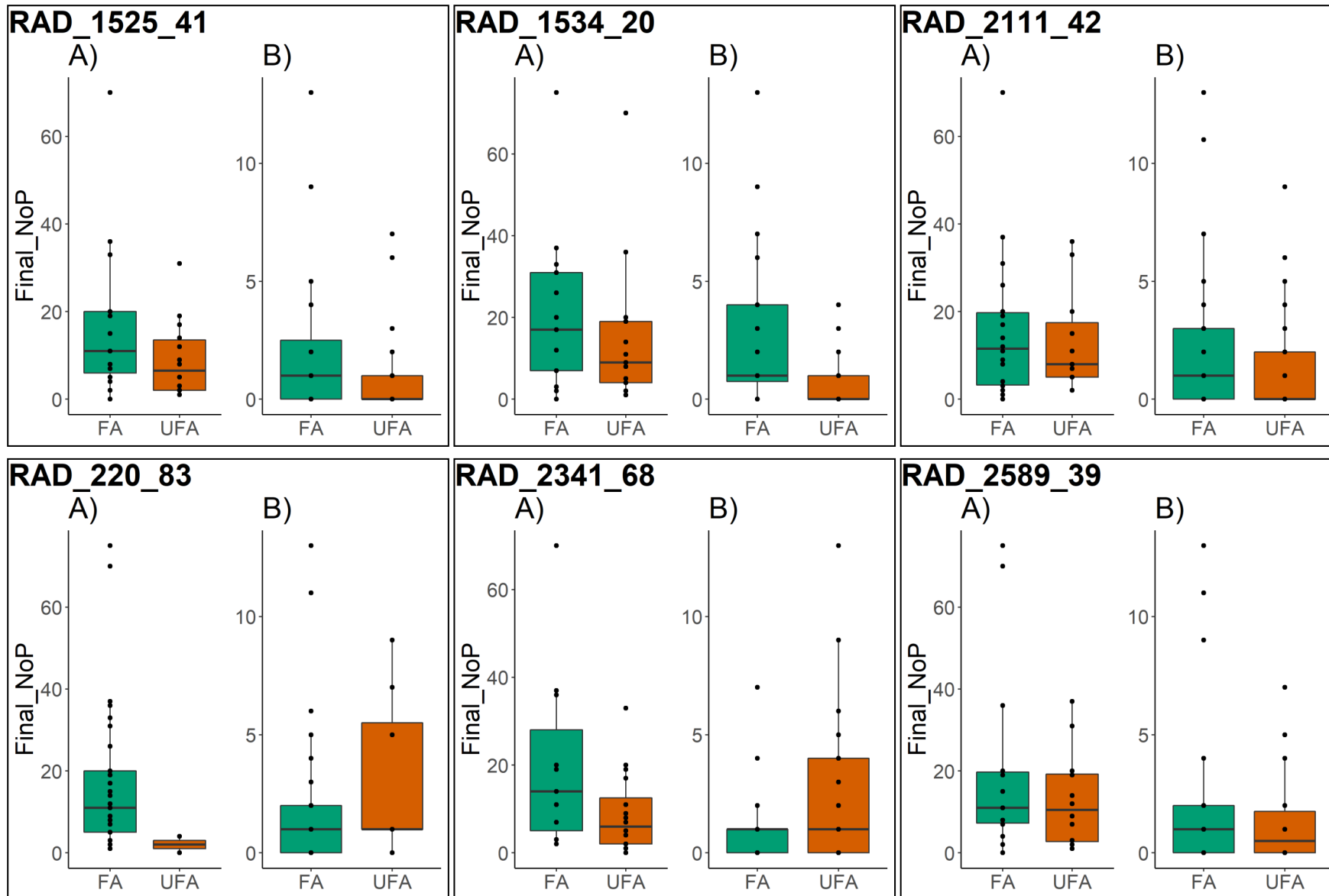
Nr.	ID	1. Blüte	1. Hülse	blühende Individuen	hülstragende Individuen	Blüten gesamt	Finale Anzahl Hülseansätze	Hülsen final	Bohnen gesamt	Bohnen pro Hülse	Gewicht pro Bohne
117	BVAL-610650	22.07.20	12.08.20	6/6	4/6	340	2	4	4	1,0	0,46
121	PHC-0013	22.07.20	02.09.20	5/6	2/6	392	9	2	3	1,5	0,87
122	PHC-0015	24.07.20	19.08.20	1/3	1/3	124	0	0	0	-	0
123	B1208	27.07.20	-	2/6	0	71	4	0	0	-	0
124	B1604	20.07.20	18.09.20	6/6	1/6	214	<b>46</b>	4	11	2,8	0,98

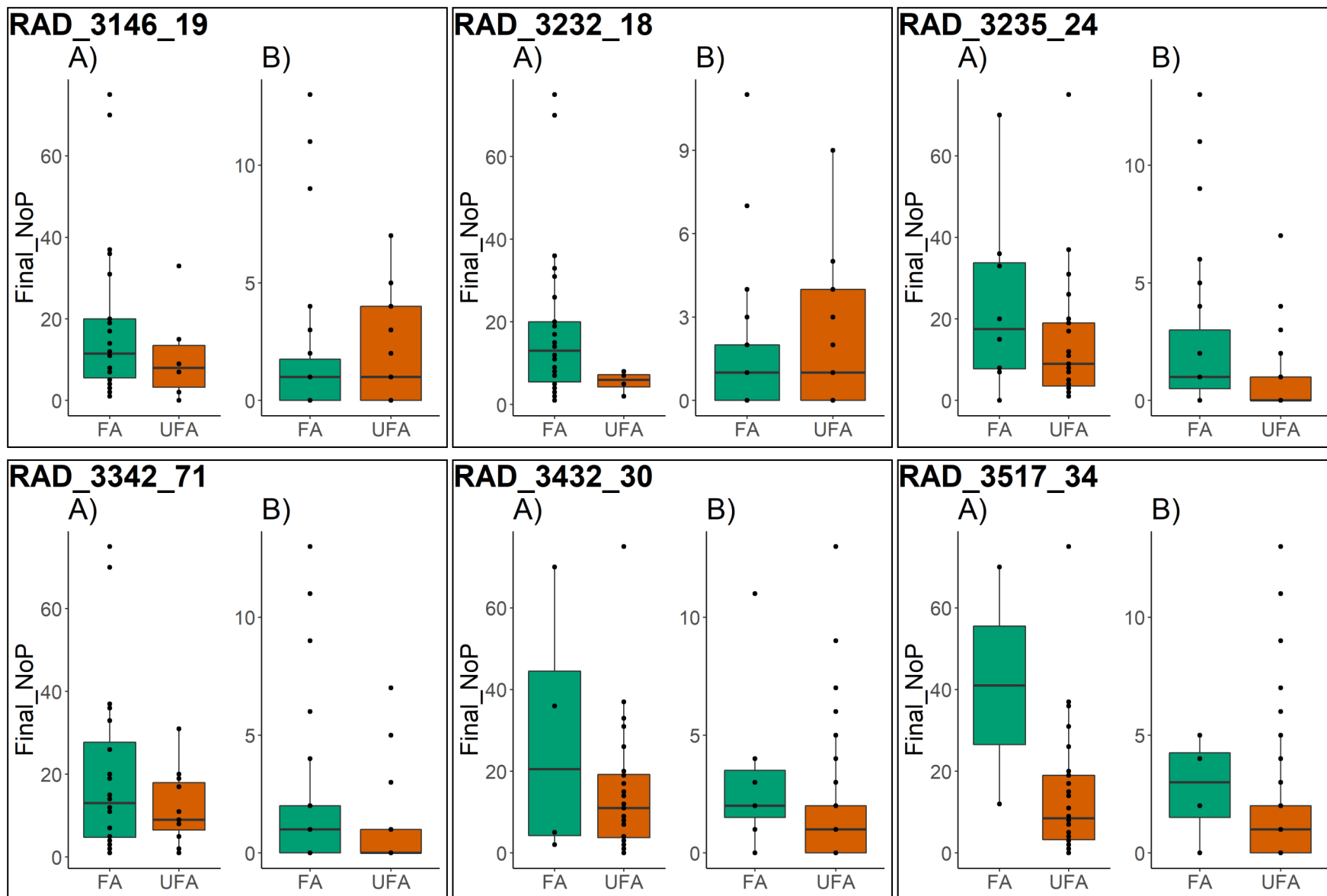
## 7.4 Boxplots der 18 SNP Marker

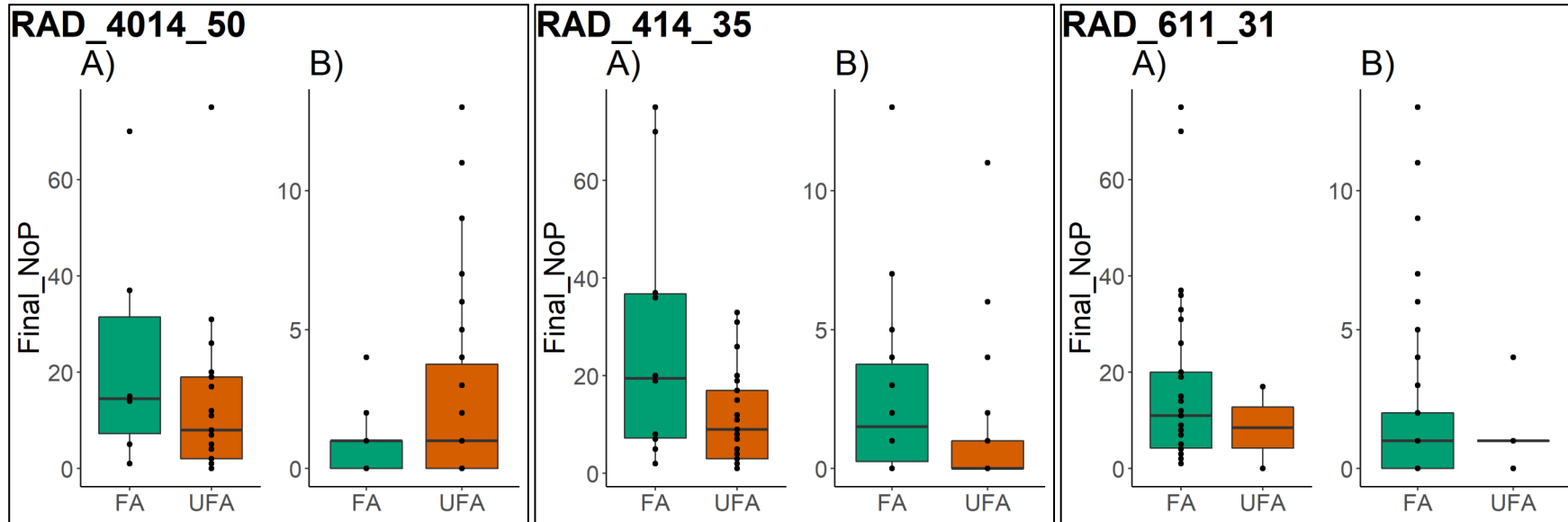
Die Boxplots veranschaulichen für jeden SNP Marker die Anzahl der Hülsen (Final\_NoP) der Akzessionen, die das positive Allel (FA) tragen gegen die Akzessionen mit dem nachteiligen Allel (UFA). A) zeigt die Werte der 33 Akzessionen, die in CharAccess untersucht wurden und B) zeigt die Werte der 64 Akzessionen, die in CharAccess II angebaut wurden.











# 8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Schritte der Qualitätsfilterung der RAD-SNPs aus den Sequenz Rohdaten zum finalen Datensatz Assembl_201006_80 mit 4.175 RAD-SNPs.	21
Tabelle 2: Bedeutung der phänotypischen Merkmale, die während dem Hitzestress bonitiert und in der Assoziationsanalyse weiter untersucht wurden. Die fett markierten Merkmale wurden für beide Assoziationsanalysen in CharAccess und CharAccess II berücksichtigt. Die übrigen Merkmale wurden nur in CharAccess II erhoben.	23
Tabelle 3: Überblick über die wichtigsten Ereignisse im Glashausversuch	30
Tabelle 4: Auflistung der Akzessionen, die in CharAccess und CharAccess II genauso viele oder mehr Bohnen (Total_NoB) gebildet haben als die Referenzsorte Bonela. Bonela ist rot markiert.	43
Tabelle 5: Auflistung der Akzessionen, Sorten und Linien, die in CharAccess II im Vergleich mit der Referenzsorte Bonela genauso viele oder mehr Bohnen (Total_NoB) gebildet haben. Bonela ist rot markiert.	43
Tabelle 6: Auflistung der Akzessionen und Sorten, die in CharAccess im Vergleich mit der Referenzsorte Bonela genauso viele oder mehr Bohnen (Total_NoB) gebildet haben. Bonela ist rot markiert.	45
Tabelle 7: Deskriptive Daten der 18 Akzessionen und Sorten, die sowohl in CharAccess als auch in CharAccess II im Glashaus phänotypisiert wurden. Die Referenzsorte Bonela ist rot eingefärbt. Die Höchstwerte der erhobenen Parameter sind fett markiert.	47
Tabelle 8: Aufteilung der 8 signifikanten Assoziationen von RAD-SNPs zu den acht hitzetoleranten Merkmalen, die für jede der 261 Individuen erhoben wurden. Der Genotyp basiert auf ausgewählten 1.190 RAD-SNPs. FDR<0,01.	50
Tabelle 9: Aufteilung der 235 signifikanten Assoziationen von RAD-SNPs zu den acht hitzetoleranten Merkmalen, die für jede der 33 Akzessionen in CharAccess erhoben wurden. Der Genotyp basiert auf ausgewählten 1.190 RAD-SNPs. FDR<0,01.	51
Tabelle 10: Aufteilung der 444 signifikanten Assoziationen von RAD-SNPs zu den zwölf hitzetoleranten Merkmalen, die für jede der 45 Akzessionen in CharAccess II erhoben wurden. Der Genotyp basierte auf ausgewählte 1.190 RAD-SNPs. FDR<0,01.	51
Tabelle 11: Information über diejenigen SNPs, die durch Literaturrecherche ausgewählt und im MassARRAY® untersucht wurden.	53
Tabelle 12: Auflistung des positiven (FA) und nachteiligen Allels (UFA) der 18 ausgewählten SNP Marker mit Ergebnis der Berechnung des phänotypischen Effekts ( $\alpha$ ) unter Berücksichtigung des Geno- und Phänotyps aus CharAccess (CH) und CharAccess II (CH-II). Der phänotypische Effekt wurde für das Merkmal „Finale Anzahl der Hülsen“ (Final_NoP) berechnet. Der höchste phänotypische Wert ist fett markiert.	57

Tabelle 13: Berechnete Hitzetoleranz auf Basis der 18 SNP Marker und Anzahl der Hülsen (Final_NoP) der 26 Akzessionen, die in CharAccess II mittels MassARRAY® genotypisiert und im Glashaus phänotypisiert wurden. Grün = Hitzetoleranz > 65 %; Orange = Hitzetoleranz < 50 %; Rot = Referenzsorte Bonela.	60
Tabelle 14: Berechnete Hitzetoleranz auf Basis der 18 SNP Marker und Anzahl der Hülsen (Final_NoP) von fünf ausgewählten Akzessionen bzw. Sorten, die in CharAccess sequenziert wurden. Grün = Hitzetoleranz > 65 %; Orange = Hitzetoleranz < 50 %.	61
Tabelle 15: Berechnete Hitzetoleranz auf Basis der 18 SNP Marker der 33 Akzessionen, die weder in CharAccess noch in CharAccess II im Glashaus angebaut bzw. phänotypisiert wurden. Grün = Hitzetoleranz > 65 %; Orange = Hitzetoleranz < 50 %.	62
Tabelle 16: Übersicht über die zeitlichen Geno- und Phänotypisierungen der 113 Akzessionen im Gesamtprojekt.	72
Tabelle 17: Übersicht über Herkunft und Aussehen der 113 untersuchten Akzessionen im Gesamtprojekt.	80
Tabelle 18: Deskriptive Daten der 64 im Glashaus phänotypisierten Käferbohnen-Akzessionen und -Sorten. Die Referenzsorte Bonela ist rot eingefärbt. Die Höchstwerte der erhobenen Parameter sind fett markiert.	98

## 9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Stellplan der 192 in Glashaus 1 aufgezogenen Käferbohnen.	14
Abbildung 2: Stellplan der 192 in Glashaus 2 aufgezogenen Käferbohnen.	15
Abbildung 3: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 32 °C im GH 1 über den Versuchszeitraum.	17
Abbildung 4: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 32 °C im GH 2 über den Versuchszeitraum.	17
Abbildung 5: Beispiel für zwei bonitierte, aber anschließend verkümmerte, Hülsen.	20
Abbildung 6: Unterschiedlich gut entwickelte Käferbohnen.	20
Abbildung 7: Agarosegel zur beispielhaften Darstellung der DNA-Qualität.	25
Abbildung 8: Beispielberechnung der Hitzetoleranz.	29
Abbildung 9: Angebaute Käferbohnenpflanzen im Zweiblattstadium.	31
Abbildung 10: Entwicklung der Käferbohnenpflanzen im Glashaus.	32
Abbildung 11: Auftretender Spinnmilbenbefall im Glashaus.	33
Abbildung 12: Abgeworfene Blüten und Hülsenansätze als Resultat des Hitzestresses.	34
Abbildung 13: Verhalten der Honigbienen im Glashaus.	35
Abbildung 14: Entwicklung der Käferbohnenhülsen im Glashaus.	36
Abbildung 15: Temperaturverlauf und gesamte Blütenanzahl aller Akzessionen kumuliert über die Projektdauer.	38
Abbildung 16: Gesamtzahl aller Hülsen und Hülsenansätze über beide Glashäuser von Anfang Juli bis Mitte September.	40
Abbildung 17: Häufigkeitsverteilung der Anzahl der geernteten Hülsen und Bohnen einer Akzession oder Sorte.	41
Abbildung 18: Finale Anzahl der von den 64 unterschiedlichen Akzessionen und Sorten geernteten Hülsen und Bohnen.	41
Abbildung 19: Beispiel für gute Genotypisierqualität	54
Abbildung 20: Links: Beispiel für schlechte Genotypisierqualität: Rechts: Beispiel für gute Genotypisierqualität.	55
Abbildung 21: Beispiel für Monomorphie.	55
Abbildung 22: Beschreibung der Schritte zur Auswahl der SNP Marker.	56
Abbildung 23: Boxplots zur Gegenüberstellung der Anzahl der Hülsen (Final_NoP) von Akzessionen, die das positive Allel (FA) tragen, gegen die Akzessionen mit nachteiligem Allel (UFA).	59
Abbildung 24: Dendrogramm zur Darstellung der Verwandtschaftsstruktur der 97 Akzessionen, die in CharAccess sequenziert wurden.	64

Abbildung 25: Dendrogramm der 26 Akzessionen, die in CharAccess II mittels MassARRAY® auf Basis von 54 SNPs genotypisiert wurden.	65
Abbildung 26: Dendrogramm der 153 Individuen, die in CharAccess mittels MassARRAY® auf Basis von 54 SNPs genotypisiert wurden.	66
Abbildung 27: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 30 °C im GH 1 über den Versuchszeitraum.	93
Abbildung 28: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 31 °C im GH 1 über den Versuchszeitraum.	93
Abbildung 29: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 33 °C im GH 1 über den Versuchszeitraum.	94
Abbildung 30: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 34 °C im GH 1 über den Versuchszeitraum.	94
Abbildung 31: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 35 °C im GH 1 über den Versuchszeitraum.	95
Abbildung 32: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 30 °C im GH 2 über den Versuchszeitraum.	95
Abbildung 33: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 31 °C im GH 2 über den Versuchszeitraum.	96
Abbildung 34: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 33 °C im GH 2 über den Versuchszeitraum.	96
Abbildung 35: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 34 °C im GH 2 über den Versuchszeitraum.	97
Abbildung 36: Tägliche Anzahl der gemessenen Stunden über 35 °C im GH 2 über den Versuchszeitraum.	97



# 10 Literaturverzeichnis

**Ariani A, Berny Mier y Teran JC und Gepts P** (2016) Genome-wide identification of SNPs and copy number variation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) using genotyping-by-sequencing (GBS). *Molecular Breeding* 36, 87. doi:10.1007/s11032-016-0512-9

**Assefa T, Assibi Mahama A, Brown AV, Cannon EKS, Rubyogo JC, Rao IM, Blair MW und Cannon SB** (2019) A review of breeding objectives, genomic resources, and marker-assisted methods in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Molecular Breeding* 39(2):20. doi:10.1007/s11032-018-0920-0

**Beaver JS und Osorno JM** (2009) Achievements and limitations of contemporary common bean breeding using conventional and molecular approaches. *Euphytica* 168:145-175. doi:10.1007/s10681-009-9911-x

**BAES** (Hrsg.), 2020: Österreichische Sortenliste 2020. Schriftenreihe 03/2020, ISSN 1560-635X.

**Beebe SE, Rao IM, Mukankusi C und Buruchara A** (2012) Improving resource use efficiency and reducing risk of common bean production in Africa, Latin America, and the Caribbean. In: Hershey, Clair H. (ed.). *Eco-Efficiency: From vision to reality*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, CO. 18 p. (über <http://hdl.handle.net/10568/55608>)

**Bitocchi E, Rau D, Bellucci E, Rodriguez M, Murgia ML, Gioia T, Santo D, Nanni L, Attene G und Papa R** (2017) Beans (*Phaseolus* spp.) as a model for understanding crop evolution. *Front Plant Sci* 8:722. doi:10.3389/fpls.2017.00722

**D'Agostino N und Tripodi P** (2017) NGS-based genotyping, high-throughput phenotyping and genome-wide association studies laid the foundations for next-generation breeding in horticultural crops. *Diversity* 9, 38. doi:10.3390/d9030038

**Driedonks N, Rieu I und Vriezen WH** (2016) Breeding for plant heat tolerance at vegetative and reproductive stages. *Plant Reproduction* 29(1-2):67–79. doi.org/10.1007/s00497-016-0275-9

**Dwivedi SL, Scheben A, Edwards D, Spillane C, Ortiz R.** (2017) Assessing and Exploiting Functional Diversity in Germplasm Pools to Enhance Abiotic Stress Adaptation and Yield in Cereals and Food Legumes *Front Plant Sci.* 2017;8:1461. doi:10.3389/fpls.2017.01461

**Eaton DAR, Overcast I.** (2020). "ipyRAD: Interactive assembly and analysis of RADseq datasets." *Bioinformatics*. Apr 15;36(8):2592-2594. doi: 10.1093/bioinformatics/btz966. PMID: 31904816.

**Ellis JA, Ong B** (2017) The MassARRAY® System for Targeted SNP Genotyping. In: White S., Cantsilieris S. (eds) *Genotyping. Methods in Molecular Biology*, vol 1492. Humana Press, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6442-0\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6442-0_5)

**Frichot E, Francois O** (2014). "LEA: an R package for Landscape and Ecological Association studies." *under review*. <http://membres-timc.imag.fr/Olivier.Francois/lea.html>

**Frichot E, Francois O** (2017). „LEA: An R package for Landscape and Ecological Association studies." [http://membres-timc.imag.fr/Olivier.Francois/LEA/files/LEA\\_github.pdf](http://membres-timc.imag.fr/Olivier.Francois/LEA/files/LEA_github.pdf)

**Gross Y, Jaime Kigel J (1994)** Differential sensitivity to high temperature of stages in the reproductive development of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Field Crops Research* 36(3): 201-212. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(94\)90112-0](https://doi.org/10.1016/0378-4290(94)90112-0).

**Guerra-García A, Suárez-Atilano M, Mastretta-Yanes A, Delgado-Salinas A und Piñero D** (2017) Domestication genomics of the open-pollinated scarlet runner bean (*Phaseolus coccineus* L.). *Front Plant Sci* 8:1891. doi:10.3389/fpls.2017.01891

**Gujaria-Verma N, Ramsay L, Sharpe AG, Sanderson LA, Debouck DG, Tar'an B und Bett KE** (2016) Gene-based SNP discovery in tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) and common bean (*P. vulgaris*) for diversity analysis and comparative mapping. *BMC Genomics* 17:239. doi: 10.1186/s12864-016-2499-3

**Halewood M, Chiurugwi T, Sackville Hamilton R, Kurtz B, Marden E, Welch E, Michiels F, Mozafari J, Sabran M, Patron N, Kersey P, Bastow R, Dorius S, Dias S, McCouch S und Powell W** (2018) Plant genetic resources for food and agriculture: opportunities and challenges emerging from the science and information technology revolution. *New Phytol* 217:1407-1419. doi:10.1111/nph.14993

**Henry RJ** (2014) Genomics strategies for germplasm characterization and the development of climate resilient crops. *Front Plant Sci* 5, 68. doi:10.3389/fpls.2014.00068

**Hernández-Delgado S, Muruaga-Martínez JS, Vargas-Vázquez MLP, Martínez-Mondragón J, Chávez-Servía JL, Gill-Langarica HR und Mayek-Pérez N** (2015) Advances in genetic diversity analysis of *Phaseolus* in Mexico. In: Prof. Mahmut Caliskan (Ed.) *Molecular Approaches to Genetic Diversity*, InTech. doi:10.5772/60029. über:

<http://www.intechopen.com/books/molecular-approaches-to-genetic-diversity/advances-in-genetic-diversity-analysis-of-phaseolus-in-mexico>

**Jha UC, Bohra A und Singh NP** (2014) Heat stress in crop plants: its nature, impacts and integrated breeding strategies to improve heat tolerance. *Plant Breeding* 133:679-701.

**Jombart, Thibaut** (2008) adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers, *Bioinformatics*; 24(11):1403–1405, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>

**Lind K** (2017) Ernte-Start mit Sorgen. Artikel Ernte-Start ohne Sorgen (abgerufen am 18.03.2020)

**Lioi L, Zuluaga DL, Pavan S und Sonnante G** (2019) Genotyping-by-Sequencing reveals molecular genetic diversity in Italian common bean landraces. *Diversity* 11:154. [doi.org/10.3390/d11090154](https://doi.org/10.3390/d11090154)

**López-Hernández F und Cortés AJ** (2019) Last-Generation Genome–Environment Associations Reveal the Genetic Basis of Heat Tolerance in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Frontiers in Genetics*, 10(954). doi:10.3389/fgene.2019.00954

**Mercati F, Catarcione G, Paolacci AR, Abenavoli MR, Sunseri F und Ciaffi M** (2015) Genetic diversity and population structure of an Italian landrace of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.): inferences for its safeguard and on-farm conservation. *Genetica* 143(4):473-85.

**Ofir M, Gross Y, Bangerth F, Kigel J** (1993) High temperature effects on pod and seed production as related to hormone levels and abscission of reproductive structures in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Scientia Horticulturae* 55 (3–4): 201-211. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(93\)90032-L](https://doi.org/10.1016/0304-4238(93)90032-L).

**Oladzad A, Porch T, Rosas JC, Moghaddam SM, Beaver J, Beebe SE, Burrridge J, Jochua CN, Miguel MA, Miklas PN, Raatz B, White JW, Lynch J, McClean PE** (2019) Single and Multi-trait GWAS Identify Genetic Factors Associated with Production Traits in Common Bean Under Abiotic Stress Environments. *G3 (Bethesda)* 5;9(6):1881-1892. doi: 10.1534/g3.119.400072.

**Pandey MK, Roorkiwal M, Singh VK, Ramalingam A, Kudapa H, Thudi M, Chitkineni A, Rathore A und Varshney RK** (2016) Emerging genomic tools for legume breeding: current status and future prospects. *Front Plant Sci* 7:455. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.00455>.

**Porch TG, Jahn M** (2001) Effects of high-temperature stress on microsporogenesis in heat-sensitive and heat-tolerant genotypes of *Phaseolus vulgaris*. *Plant, Cell & Environment* 24 (7): 723-731. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00716.x>.

**Porch TG, Bernsten R, Rosas JC und Jahn M** (2007) Climate change and the potential economic benefits of heat-tolerant bean varieties for farmers in Atlantida, Honduras. *J. Agric. Univ. P.R.* 91(3-4):133-148.

**Rainey KM und Griffiths PD** (2005) Differential response of common bean genotypes to high temperature. *J Americ Soc Hort Sci* 130(1):18-23.

**Ribarits A, Sehr EM, von Gehren P, Riegler B, Schwab M, Adam E, Morawetz L und Freudenthaler P** (2019) Genomik und Phänomik österreichischer Käferbohnenherkünfte mit dem Fokus auf Hitzetoleranz – CharAccess; Abschlussbericht zum DaFNE plus Forschungsprojekt Nr. 101193

**Rodriguez M, Rau D, Angioi SA, Bellucci E, Bitocchi E, Nanni L, Knüpffer H, Negri V, Papa R und Attene G** (2013) European *Phaseolus coccineus* L. landraces: population structure and adaptation, as revealed by cpSSRs and phenotypic analyses. *PLoS One* 8(2):e57337. doi: 10.1371/journal.pone.0057337

**Schwember AR, Carrascoa B und Gepts P** (2017) Unraveling agronomic and genetic aspects of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.) *Field Crops Res* 206:86-94. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.02.020>

**Sedlar A, Kidrič M, Šuštar-Vozlič J, Pipan B, Zadražnik T und Meglič V** (2019) Drought Stress Response in Agricultural Plants: A Case Study of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). 10.5772/intechopen.86526.

**Sicard D, Nanni L, Porfiri O, Bulfon D, Papa R** (2005) Genetic diversity of *Phaseolus vulgaris* L. and *P. coccineus* L. landraces in central Italy. *Plant Breed* 124:464–472.

**Silva DA d, Pinto-Maglio CAF, Oliveira É C d, Reis RL d M d, Carbonell SAM und Chiorato AF** (2020). Influence of high temperature on the reproductive biology of dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Scientia Agricola*, 77. [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-90162020000301100&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162020000301100&nrm=iso) (abgerufen am 18.03.2020)

**Soltani A, Weraduwage SM, Sharkey TD und Lowry DB** (2019) Elevated temperatures cause loss of seed set in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) potentially through the disruption of source-sink relationships. *BMC Genomics* 20(1): 312. doi:10.1186/s12864-019-5669-2

**Sommer E und Höbaus E** (2019) Steirische Käferbohne g.U. [https://www.bmlrt.gv.at/land/lebensmittel/trad-lebensmittel/spezialkulturen/steir\\_kaeferbohne.html](https://www.bmlrt.gv.at/land/lebensmittel/trad-lebensmittel/spezialkulturen/steir_kaeferbohne.html) (abgerufen am 18.03.2020)

**Spataro G, Tiranti B, Arcaleni P, Bellucci E, Attene G, Papa R, Spagnoletti Zeuli P und Negri V.** (2011) Genetic diversity and structure of a worldwide collection of *Phaseolus coccineus* L. *Theor Appl Genet* 122(7):1281-1291.

**Statistik Austria** (2015) Gemüseproduktion, endgültiges Ergebnis 2015. URL: [http://www.statistik.at/web\\_de/statistiken/wirtschaft/land\\_und\\_forstwirtschaft/agrarstruktur\\_flaechen\\_ertraege/gemuese/105832.html](http://www.statistik.at/web_de/statistiken/wirtschaft/land_und_forstwirtschaft/agrarstruktur_flaechen_ertraege/gemuese/105832.html) (Stand 03.08.2016)

**Statistik Austria** (2016) Gartenbau- und Feldgemüseanbauerhebung 2015. URL: [http://www.statistik.at/web\\_de/statistiken/wirtschaft/land\\_und\\_forstwirtschaft/agrarstruktur\\_flaechen\\_ertraege/gartenbau\\_feldgemuese/anbau/107930.html](http://www.statistik.at/web_de/statistiken/wirtschaft/land_und_forstwirtschaft/agrarstruktur_flaechen_ertraege/gartenbau_feldgemuese/anbau/107930.html) (Stand 03.08.2016)

**Sudan J, Singh R, Sharma S, Salgotra RK, Sharma V, Singh G, Sharma I, Sharma S, Gupta SK und Zargar SM** (2019) ddRAD sequencing-based identification of inter-genepool SNPs and association analysis in *Brassica juncea*. *BMC Plant Biology*, 19(1), 594. doi:10.1186/s12870-019-2188-x

**Thomson MJ** (2014) High-throughput SNP genotyping to accelerate crop improvement. *Plant Breed Biotech* 2:195–212.

**Traub J, Porch T, Naeem M, Urrea CA, Austic G, Kelly JD und Loescher W** (2018) Screening for heat tolerance in *Phaseolus* spp. using multiple methods. *Crop Science* 58(6): 2459-2469. doi:10.2135/cropsci2018.04.0275

**Valdisser PA, Pappas GJr., de Menezes IP, Müller BS, Pereira WJ, Narciso MG, Brondani C, Souza TL, Borba TC und Vianello RP** (2016) SNP discovery in common bean by restriction-associated DNA (RAD) sequencing for genetic diversity and population structure analysis. *Mol Genet Genomics* 291(3):1277-91.

**Van Treuren R und van Hintum TJL** (2014) Next-generation genebanking: plant genetic resources management and utilization in the sequencing era. *Plant Gen Res* 12(3): 298-307.

**Varshney RK, Singh VK, Kumar A, Powell W, Sorrells ME** (2018) Can genomics deliver climate-change ready crops? *Curr Opin Plant Biol* 45(Pt B):205-211. doi: 10.1016/j.pbi.2018.03.007

**Vogl-Lukasser B, Falschlunger G, Blauensteiner P, Vogl CR** (2007) Erfahrungswissen über Lokalsorten traditioneller Kulturarten in Ost- und Nordtirol. Endbericht zum Teilprojekt „Sicherung und Beschreibung des Erfahrungswissens über Saat- und Pflanzgut lokaler Sorten traditioneller Kulturarten im Bereich Gemüse und Getreide in Tirol“ im Auftrag des Amtes der Tiroler Landesregierung. Teilprojekt im Projekt „Gene-Save“ gefördert im Rahmen des INTERREGG IIIA Programmes durch die Länder Tirol, Südtirol und die Europäische Union. Enthält Elemente aus dem Projekt 1272, GZ 21.210/41-II1/03 (Teil 2) gefördert vom Land Tirol und dem Lebensministerium (BMLFUW).

**Zhang T, Qian N, Zhu X, Chen H, Wang S, Mei H, Zhang Y** (2013) Variations and Transmission of QTL Alleles for Yield and Fiber Qualities in Upland Cotton Cultivars Developed in China. *PLOS ONE* 8(2): e57220. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057220>

**Bundesministerium für Landwirtschaft, Regionen und Tourismus**

Stubenring 1, 1010 Wien

[bmlrt.gv.at](http://bmlrt.gv.at)