

Aus dem Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I
Professur für Pflanzenzüchtung
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Untersuchungen zur Proteinqualität im Winterraps (*Brassica napus* L.)
im Hinblick auf das Cruciferin:Napin-Verhältnis unter Berücksichtigung der
Aminosäurezusammensetzung

INAUGURAL DISSERTATION

Zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. agr.)
im Fachbereich Agrarwissenschaften, Ökotoxikologie und
Umweltwissenschaften der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Isabelle Deppe-Badasu
aus Burgthann

Gießen, 2024

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	V
Tabellenverzeichnis.....	X
Abkürzungsverzeichnis.....	XII
1. Einleitung.....	15
1.1 Pflanzenproteine und ihre Rolle in der menschlichen Ernährung	16
1.2 Raps	16
1.2.1 Die Evolution und züchterische Meilensteine von Raps	16
1.2.2 Die wirtschaftliche Bedeutung von Raps.....	18
1.2.3 Wertvolle Inhaltsstoffe der Rapssaat	20
1.2.3.1 Öl als Hauptwertgebender Inhaltsstoff	20
1.2.3.2 Speicherproteinfraktionen Cruciferin und Napin im Raps	20
1.2.3.3 Aminosäuren bestimmen die Proteinqualität	23
1.2.3.4 Rapsschrot für die menschliche Ernährung.....	23
1.3 Die Qualität von Rapsprotein im Zusammenhang mit der Stickstoffdüngung.....	27
1.4 Labormethoden zur Bestimmung der Proteinqualität	28
1.4.1 Aminosäurenanalyse	28
1.4.2 Nahinfrarotreflektionsspektroskopie NIRS	29
1.4.3 Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis - SDS-PAGE.....	30
1.5 Ziel dieser Arbeit	31
2. Material und Methoden	33
2.1 Pflanzenmaterial des Winterrapsdiversitätssets und der Winterrapselitesorten	33
2.1.1 Saatgutproduktion für das Winterrapsdiversitätsset BnASSYST	37
2.1.2 Saatgutproduktion zur Proteinqualität unter verschiedenen Stickstoffdüngestufen in ausgewählten Winterrapselitesorten der letzten 25 Jahre.....	37
2.2 Datenerhebung.....	38
2.2.1 Datenerhebung im Winterrapsdiversitätsset BnASSYST	38
2.2.1.1 Aminosäurenanalyse	38
2.2.1.1.1 Probenvorbereitung für die Aminosäurenanalyse	38
2.2.1.1.2 Aminosäurenanalyse im Aminosäurenanalysator.....	39
2.2.1.2 Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis – SDS-PAGE	39
2.2.2 Datenerhebung zur Proteinqualität unter verschiedenen Stickstoffdüngestufen in ausgewählten Winterrapselitesorten der letzten 25 Jahren.....	41
2.3 Datenauswertung und Datenanalyse	41
2.3.1 Erstellung der NIRS-Kalibration für die Aminosäuregruppen essentielle-, semi-essentielle und nicht-essentielle Aminosäuren.....	41
2.3.2 Datenanalyse der Aminosäurenanalyse	43

2.3.2.1	Deskriptive Statistik und Heritabilität	43
2.3.2.2	SNP Genotypisierung der ERANET BnASSYST Winterrapsakzessionen	43
2.3.2.3	Assoziationsstudie	44
2.3.2.4	Haplotyp-Blöcke	44
2.3.2.5	Kandidatengene.....	44
2.3.3	Datenauswertung zur Proteinqualität unter verschiedenen Stickstoffdüngestufen in ausgewählten Winterrapselitesorten der letzten 25 Jahren.....	45
3.	Ergebnisse.....	46
3.1	Die Proteinqualität und ihre Genetik im Winterrapsdiversitätsset ERANET BnASSYST	46
3.1.1	Proteinfraktionen Cruciferin, Napin und das Cruciferin:Napin Verhältnis im Winterraps Diversitätsset.....	46
3.1.2	Aminosäuremuster und Aminosäuregehalte im Winterraps Diversitätsset	49
3.1.3	Erstellung einer NIRS-Kalibration für essentielle, semi- essentielle und nicht-essentielle Aminosäuregruppen.....	56
3.1.4	GWAS und Haplotypen Analyse für die essentiellen, semi-essentiellen und nicht essentiellen Aminosäuren (EAA, SEA, NEA) und die Proteinfraktionen (Cruciferin, Napin) im Winterraps Diversitätsset.....	59
3.1.4.1	Deskriptive Statistik der phänotypischen Daten der GWAS aus den geschätzten Werten der essentiellen, semi-essentiellen und nicht-essentiellen Aminosäuren.....	59
3.1.4.2	GWAS Ergebnisse für die Proteinfraktionen Cruciferin und Napin sowie das Cruciferin:Napin Verhältnis	60
3.1.4.3	GWAS Ergebnisse für die einzelnen Aminosäuren	63
3.1.4.4	GWAS Ergebnisse für die Merkmale der essentiellen, semi-essentiellen und nicht-essentiellen Aminosäuregruppen.....	74
3.1.4.5	GWAS Ergebnisse für den Öl- und Proteingehalt	80
3.2	Die Proteinzusammensetzung im Hinblick auf unterschiedliche Stickstoffdüngemengen... 84	
3.2.1	Haplotypen der Elitesorten für die im Winterrapsdiversitätsset gefundenen Haploblöcke.....	86
4.	Diskussion.....	95
4.1	Die Proteinqualität und ihr ernährungsphysiologischer Wert im Winterrapsdiversitätsset 95	
4.1.1	Samenspeicherproteinfraktionen Cruciferin und Napin	95
4.1.2	Aminosäuren im Winterrapsdiversitätsset.....	96
4.1.3	Der ernährungsphysiologische Wert des Rapsschrotes für die menschliche Ernährung.....	98
4.2	Erstellung einer NIRS Kalibration für die Aminosäuregruppen der essentiellen, semi-essentiellen und nicht-essentiellen Aminosäuren	100
4.3	Genomweite Assoziationsstudie im Winterrapsdiversitätsset	101
4.3.1	GWAS-Ergebnisse für die Samenspeicherproteine Cruciferin und Napin.....	101
4.3.2	Haploblöcke der Genotypen Liporta, Lirafit und Lisek	101
4.3.3	Die Rolle der Gene, welche in den Haploblöcken liegen.....	104

4.3.4	Gene, welche mit den einzelnen Aminosäuren assoziiert sind.....	107
4.3.5	Gene, welche mit den essentiellen- und nicht-essentiellen Aminosäuren assoziiert sind	110
4.3.6	Gene, welche mit dem Öl- und Proteingehalt assoziiert sind	111
4.3.7	Loci der Traits im Literaturvergleich.....	112
4.4	Proteinqualität und Stickstoffdüngung in Elitewinterrapssorten	112
4.5	Bedeutung der Haploblöcke in den Elitesorten des Stickstoffdüngerversuchs.....	114
5.	Fazit	115
6.	Summary.....	116
7.	Zusammenfassung.....	117
	Literaturverzeichnis.....	119
8.	Anhang.....	CXXXII
	Erklärung von Eides statt.....	CLIII

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Verbrauch von Pflanzenölen in Deutschland im Jahr 2022 in Prozent einer Bruttomenge von 6,3 Millionen Tonnen; andere Öle umfassen: Leinsamenöl, Olivenöl, Rizinusöl, Maisöl, Erdnussöl, Baumwollsaamenöl, Sesamöl; Daten stammen von OVID 2023, eigene Darstellung	19
Abbildung 2 Verwendung von Ölschroten in Deutschland 2010 bis 2022 in Mio. t Soja, Raps und Sonnenblume; Daten stammen von OVID 2023, eigene Darstellung	19
Abbildung 3 Plietz-Modell der Cruciferin-Struktur. Dargestellt ist die räumliche Anordnung der sechs Untereinheiten und der α - β -Ketten, die jede Untereinheit bilden, Abbildung übernommen von Wanasundara (2011).....	22
Abbildung 4 Kristallstruktur von rproBnlb, einem 2S-Albumin aus Raps, übernommen von Pantoja-Uceda et al. (2004)	22
Abbildung 5 Histogramme für die Merkmale Cruciferin, Napin und CNR, berechnet aus dem Winterraps Diversitätsset ERANET BnASSYST für die Jahre 2017 und 2018, auf dem Standort Rauschholzhausen; N=218	47
Abbildung 6 Streudiagramm für die Merkmale Cruciferin und Napin [$\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$] aus dem Winterrapsdiversitätsset ERANET BnASSYST aus zwei Jahren (2017, 2018) und einem Standort (Rauschholzhausen), N=218; Pearsons Korrelationskoeffizient $r=0,296$	47
Abbildung 7 Häufigkeitsverteilung der essentiellen Aminosäuren aus der Referenzanalytik, die rote Linie markiert das Mittel, N=187; Daten aus zwei Jahren (2016, 2017) und einem Standort (Rauschholzhausen).....	52
Abbildung 8 Häufigkeitsverteilung der semi-essentiellen Aminosäuren aus der Referenzanalytik, die rote Linie Markiert das Mittel, N=187; Daten aus zwei Jahren (2016, 2017) und einem Standort (Rauschholzhausen).....	52
Abbildung 9 Häufigkeitsverteilung der nicht-essentiellen Aminosäuren aus der Referenzanalytik, die rote Linie Markiert das Mittel, N=187; Daten aus zwei Jahren (2016, 2017) und einem Standort (Rauschholzhausen).....	53
Abbildung 10 Häufigkeitsverteilung der Aminosäuregruppen EAA, SEA und NEA aus der Referenzanalytik, die rote Linie Markiert das Mittel, N=187; Daten aus zwei Jahren (2016, 2017) und einem Standort (Rauschholzhausen).....	53
Abbildung 11 Matrix mit Pearson's Korrelation Koeffizienten für die nasschemisch gemessenen Aminosäuregehalte, farblich unterlegte Werte sind signifikant ($p<0,01$), Daten aus dem Winterrapsdiversitätsset ERANET BnASSYST, (2017, 2018), ein Standort (Rauschholzhausen), N=187	55
Abbildung 12 Korrelation des geschätzten Aminosäuregehaltes (NIRS) mit dem gemessenen Aminosäuregehalt aus der Referenzanalytik; die obere Grafik zeigt die Korrelation der Kalibration (N=92), die untere Grafik zeigt Korrelation der Validierung (alle in der Validierung genutzten Werte wurden nicht in der Kalibriererstellung genutzt) (N=95)	58
Abbildung 13 Matrix des Pearsons's Korrelations Koeffizienten für die geschätzten (NIRS) Aminosäuregruppen (EAAe, SEAE, NEAE), dem Öl- (Oil), Protein (Pro)-, Glucosinolat (GSL)-, Cruciferin (Cru)- und dem Napingehalt (Nap), sowie dem Cruciferin:Napin Verhältnis (CNR); farblich hinterlegte Werte sind signifikant ($p<0,01$)	60
Abbildung 14 Manhattanplot für das Merkmal Cruciferin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(p\text{-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(p\text{-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(p\text{-Wert})$	61
Abbildung 15 Manhattanplot für das Merkmal Napin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse	

der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	61
Abbildung 16 Haplotyp Block auf Chromosom A09 bei 0,8 Mbp für das Merkmal Napin mit vier Haplotypen, signifikante ($p < 0,01$) Unterschiede (Student's t-Test) wurden zwischen den Haplotypen Hap_1 und Hap_2, Hap_2 und Hap_3 und Hap_2 und Hap_4 gemessen.....	62
Abbildung 17 Manhattanplot für das Merkmal Alanin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p- Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	66
Abbildung 18 Manhattanplot für das Merkmal Arginin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse, der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	67
Abbildung 19 Haploblock für Alanin auf Chromosom A02	67
Abbildung 20 Haploblock Arginin Chromosom A07	68
Abbildung 21 Haploblock Arginin auf Chromosom C03.....	68
Abbildung 22 Manhattanplot für das Merkmal Glutaminsäure, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	69
Abbildung 23 Manhattanplot für das Merkmal Isoleucin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	69
Abbildung 24 Manhattanplot für das Merkmal Leucin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	69
Abbildung 25 Manhattanplot für das Merkmal Lysin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	70
Abbildung 26 Manhattanplot für das Merkmal Methionin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	70
Abbildung 27 Haploblock auf Chromosom A05 für Methionin	71
Abbildung 28 Haploblock auf Chromosom C03 für Methionin.....	71
Abbildung 29 Manhattanplot für das Merkmal Prolin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	72
Abbildung 30 Haploblock für Prolin auf Chromosom C06	72
Abbildung 31 Manhattanplot für das Merkmal Serin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	73
Abbildung 32 Haploblock für Serin auf Chromosom C06	73

Abbildung 33 Manhattanplot für das Merkmal Taurin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	74
Abbildung 34 Manhattanplot für das Merkmal Threonin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	74
Abbildung 35 Manhattanplot für das Merkmal EAA, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	76
Abbildung 36 Haploblock für EAA auf Chromosom A02.....	76
Abbildung 37 Haploblock für EAA auf Chromosom C02.....	77
Abbildung 38 Manhattanplot für das Merkmal SEA, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	77
Abbildung 39 Manhattanplot für das Merkmal NEA, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	78
Abbildung 40 Haploblock für NEA auf Chromosom A02.....	78
Abbildung 41 Manhattanplot für das Merkmal Proteingehalt, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	80
Abbildung 42 Manhattanplot für das Merkmal Ölgehalt, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$	81
Abbildung 43 Haploblock für den Proteingehalt auf Chromosom C01.....	84
Abbildung 44 Verteilung des CNR (Cruciferin:Napin Verhältnisses) im Winterrapseliteset für drei Standorte (ASD Asendorf, MOS Moosburg, RHA Rauschholzhausen) und zwei Jahre (2015, 2016), in niedriger (N1, violett) und hoher (N2, grün) Stickstoffdüngestufe.....	89
Abbildung 45 Pearson Korrelationskoeffizienten in der niedrigen (N1, links) und hohen (N2, rechts) Stickstoffdüngestufe für den Cruciferin (Cru)- und Napingehalt (Nap), das Cruciferin:Napin-Verhältnis (CNR), den Proteingehalt (ProCon), die Glucosinolate (GSL), den Proteinertrag (ProteinY), der Samenertrag (SYtha), das Zulassungsjahr (Year_of_reg); alle signifikanten Korrelationen sind farblich hinterlegt; Daten sind aus zwei Jahren (2015, 2016) und drei Standorten (Asendorf, Moosburg, Rauschholzhausen).....	89
Abbildung 46 Korrelation des Cruciferingehalts [$\mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$] mit dem Proteingehalt [% des Samens] in der niedrigen (N1, links) und hohen (N2, rechts) Stickstoffdüngestufe im Winterrapseliteset, unterteilt nach neuen/alten Linien und Hybriden.....	90
Abbildung 47 Korrelation des Napingehalts [$\mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$] und Proteingehalt [% des Samens], in der niedrigen (N1, links) und der hohen (N2, rechts) Stickstoffdüngestufe, aufgeteilt nach neuen/alten Linien und Hybriden.....	90

Abbildung 48 Korrelation des Cruciferin:Napin-Verhältnisses mit dem Proteingehalt [% des Samens], in der niedrigen (N1, links) und hohen (N2, rechts) Stickstoffdüngestufe, unterteilt nach den Gruppen der neuen/alten Linien und Hybriden	91
Abbildung 49 Die Boxplots zeigen den Napingehalt [$\mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$] für die niedrige (N1, links) und hohe (N2, rechts) Stickstoffdüngestufe, unterschieden nach alten/neuen Linien und Hybriden; Daten stammen aus zwei Jahren (2015, 2016) und drei Standorten (Asendorf, Moosburg, Rauschholzhausen)	91
Abbildung 50 Boxplots zeigen den Cruciferingehalt [$\mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$] in der niedrigen (N1, links) und der hohen (N2, rechts) Stickstoffdüngestufe, unterschieden nach neuen/alten Linien und Hybriden; Daten stammen aus zwei Jahren (2015, 2016) und drei Standorten (Asendorf, Moosburg, Rauschholzhausen)	92
Abbildung 51 Boxplots zeigen das Cruciferin:Napin Verhältnis in der niedrigen (N1, links) und der hohen (N2, rechts) Stickstoffdüngestufe der alten/neuen Linien und Hybriden; Daten stammen aus zwei Jahren (2015, 2016) und drei Standorten (Asendorf, Moosburg, Rauschholzhausen)	92
Abbildung 52 Korrelation des Cruciferin:Napin Verhältnisses mit dem Zulassungsjahr für die niedrige (N1, oben) und die hohe (N2, unten) Stickstoffdüngestufe, die Genotypen sind unterschieden nach neuen/alten Linien und Hybriden; Daten stammen aus zwei Jahren (2015, 2016) und drei Standorten (Asendorf, Moosburg Rauschholzhausen)	93
Abbildung 53 Korrelation zwischen dem Cruciferingehalt [$\mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$] und dem Jahr der Sortenzulassung in der niedrigen (N1, oben) und der hohen (N2, unten) Stickstoffdüngestufe, unterschieden nach neuen/alten Linien und Hybriden; Daten stammen aus zwei Jahren (2015, 2016) und drei Standorten (Asendorf, Moosburg, Rauschholzhausen)	93
Abbildung 54 Korrelation zwischen dem Napingehalt [$\mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$] und dem Jahr der Sortenzulassung in der niedrigen (N1, oben) und hohen (N2, unten) Stickstoffdüngestufe, unterschieden nach neuen/alten Linien und Hybriden; Daten stammen aus zwei Jahren (2015, 2016) und drei Standorten (Asendorf, Moosburg Rauschholzhausen)	94
Abbildung 55 Manhattanplot für das Merkmal Cruciferin:Napin-Verhältnis, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p- Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$	CXXXII
Abbildung 56 (A) Manhattanplot für das Merkmal Asparaginsäure, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p- Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$	CXXXII
Abbildung 57 (A) Manhattanplot für das Merkmal Cystein, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p- Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$	CXXXII
Abbildung 58 (A) Manhattanplot für das Merkmal Glycin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p- Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$	CXXXIII
Abbildung 59 (A) Manhattanplot für das Merkmal Histidin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p- Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$	CXXXIII
Abbildung 60 (A) Manhattanplot für das Merkmal Phenylalanin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen	

angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$ CXXXIII

Abbildung 61 (A) Manhattanplot für das Merkmal Tyrosin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$ CXXXIV

Abbildung 62 (A) Manhattanplot für das Merkmal Valin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$ CXXXIV

Abbildung 63 (A) GWAS QQ-Plot für das Merkmal CNR (links) und das Merkmal Cru (rechts) CXLVIII

Abbildung 64 (A) GWAS QQ-Plot für das Merkmal EAA (links) und das Merkmal Nap (rechts)..... CXLIX

Abbildung 65 (A) GWAS QQ-Plot für das Merkmal SEA (links) und das Merkmal NEA (rechts)..... CXLIX

Abbildung 66 (A) GWAS QQ-Plot für das Merkmal Asp (links) und das Merkmal Cys (rechts) CXLIX

Abbildung 67 (A) GWAS QQ-Plot für das Merkmal Ala (links) und das Merkmal Arg (rechts) CL

Abbildung 68 (A) GWAS QQ-Plot für das Merkmal Glu (links) und das Merkmal Gly (rechts) CL

Abbildung 69 (A) GWAS QQ-Plot für das Merkmal Ile (links) und das Merkmal Cys (rechts) CL

Abbildung 70 (A) GWAS QQ-Plot für das Merkmal Lys (links) und das Merkmal Leu (rechts) CLI

Abbildung 71 (A) GWAS QQ-Plot für das Merkmal Met (links) und das Merkmal Phe (rechts) CLI

Abbildung 72 (A) GWAS QQ-Plot für das Merkmal Pro (links) und das Merkmal Ser (rechts) CLI

Abbildung 73 (A) GWAS QQ-Plot für das Merkmal Thr (links) und das Merkmal Tau (rechts) CLII

Abbildung 74 (A) GWAS QQ-Plot für das Merkmal Tyr (links) und das Merkmal Val (rechts) CLII

Abbildung 75 (A) GWAS QQ-Plot für das Merkmal Protein (links) und das Merkmal Öl (rechts) CLII

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Aminosäuregehalte in Rapsschrot im Prozentanteil des Rohproteins (Wanasundara et al. 2017).....	23
Tabelle 2 Aminosäuregehalte in Rapsschrot und anderen Proteinprodukten aus Raps übernommen von Wanasundara et al. (2016)	26
Tabelle 3 Akzessionen des Winterrapsdiversitätssets ERANET BnASSYST sowie deren Qualitätsstatus	33
Tabelle 4 Elitesorten, welche im Feldversuch der Stickstoffdüngestufen angebaut wurden, jeweils mit dem Sortennamen und dem Jahr der Sortenzulassung	36
Tabelle 5 Einordnung der Aminosäuren in die Gruppen essentielle, semi-essentielle und nicht-essentielle Aminosäuren	43
Tabelle 6 Deskriptive Statistik für die Merkmale Cruciferin, Napin und Cruciferin:Napin Verhältnis mit Ergebnissen der Varianzanalyse (Genotyp) und die Heritabilität (H^2); N=218, Daten aus zwei Jahren (2017, 2018) und einem Ort (Rauischholzhausen); Signifikanz: ***=0, **=0,001, *=0,01, =0,05	47
Tabelle 7 Winterraps Akzessionen aus dem ERANET BnASSYST Diversitätsset, welche ein Cruciferin:Napin-Verhältnis <1 aufweisen und ihre Qualität (00= niedriger Erucasäure- und Glucosinolatgehalt, 0+=niedriger Erucasäure- und hoher Glucosinolatgehalt, +++= hoher Erucasäure und Glucosinolatgehalt); N=33.....	48
Tabelle 8 Deskriptive Statistik für die Aminosäuren Referenzanalytik in $g\ kg^{-1}eRS$; angegeben sind jeweils das Mittel, Minimum, Maximum, der kleinste signifikante Unterschied, Variationskoeffizient, Varianzanalyse des Genotyps (Genotyp) und die Heritabilität (H^2); N=178; Daten stammen aus zwei Jahren (2017, 2018) und einem Standort (Rauischholzhausen)	51
Tabelle 9 Aminosäuregehalt, Aminosäuregruppen Gehalt, Proteingehalt [%], CNR, Ölgehalt [%], Glucosinolatgehalt [$\mu mol\ GSL\ g\ Rapssaar^{-1}$], Erucasäuregehalt der Genotypen aus dem Winterrapsdiversitätsset ERANET BnASSYST welche einen CNR Gehalt <1 und eine 00-Ölqualität aufweisen; N=187; Daten aus zwei Jahren (2017, 2018) und einem Standort (Rauischholzhausen) ...	54
Tabelle 10 Daten zur NIRS Kalibration der Aminosäuregruppen (EAA, SEA, NEA), N=92 aus der Referenzanalytik der Aminosäuren	58
Tabelle 11 Deskriptive Statistik für die geschätzten Werte (NIRS) der Aminosäuregruppen, inklusive des Variationskoeffizienten, des geringsten signifikanten Unterschied (LSD), der Varianzanalyse des Genotyps (Genotyp) und der Heritabilität (H^2). Daten sind adjustierte Mittelwerte aus zwei Jahren (2017, 2018) und einem Ort (Rauischholzhausen). Signifikanz: ***=0, **=0,001, *=0,01, =0,05	59
Tabelle 12 SNPs aus der Assoziationsstudie mit $3 < -\log_{10}(p\text{-Wert})$ für die Merkmale Cruciferin und Napin	61
Tabelle 13 Alle SNPs über einem Wert von 3 ($-\log_{10}(p\text{-Wert})$) für die Merkmale EAA und NEA	79
Tabelle 14 Beschreibung der SNPs über 3 ($-\log_{10}(P\text{-Wert})$) für das Merkmal EAA und deren assoziierten Gene, beide auf Chr A02 lokalisiert.....	79
Tabelle 15 Beschreibung der SNPs über 3 ($-\log_{10}(P\text{-Wert})$) für das Merkmal NEA und deren assoziierten Gene, lokalisiert auf Chr A02 und A08	79
Tabelle 16 Alle SNPs über einem Wert von 3 ($-\log_{10}(p\text{-Wert})$) für die Merkmale Proteingehalt und Ölgehalt	81
Tabelle 17 Beschreibung der SNPs über 3 ($-\log_{10}(P\text{-Wert})$) für das Merkmale Protein- und Ölgehalt und deren assoziierten Gene, lokalisiert auf Chr C05 und C01 für den Ölgehalt und auf Chr 04, Chr A02 und A06 für den Proteingehalt.....	82
Tabelle 18 Deskriptive Statistik für die Merkmale Cruciferin, Napin und CNR, unterschieden nach niedriger (N1) und hoher (N2) Stickstoffdüngestufe für das Minimum (Min), Maximum (Max) dem Mittelwert (Mittel) und der Kovarianz (CoV)	87

Tabelle 19 Varianzanalyse (Gruppe), die Umwelt (N), Gruppen und Genotyp-Interaktion und Heritabilität (H^2) für die Merkmale Cruciferin, Napin und CNR für die Gruppen der neuen/alten Hybriden und Linien in der niedrigen (N1) und hohen (N2) Stickstoffdüngestufe	87
Tabelle 20 Haplotypen der gefunden Haploblöcke für die Winterrapselitesorten, aufgeteilt nach neuen/alten Hybriden und Linien und die respektiven Haplotypen (Hap); farblich unterlegt sind die Haplotypen, welche die stärkste Merkmalsausprägung zeigen.....	88
Tabelle 21 Empfehlung der WHO über die täglich empfohlene aufzunehmende Menge an EAA [in mg/75 kg Körpergewicht] und des Min, Max und Mittel des EAA Gehaltes [mg/100g] des untersuchten Winterrapsdiversitätssets und der mittlere Gehalt der zwei Genotypen mit den höchsten EAA Werten aus dem Winterrapsdiversitätsset; Daten der WHO stammen aus Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation (2007)	99
Tabelle 22 Haplotypen der Genotypen Lisek, Liporta und Lirafit für die gefunden Haploblöcke der Merkmale Napin, Protein, EAA, NEA, Alanin, Arginin, Methionin, Prolin und Serin; dabei steht NA für nicht verfügbar und HZ für heterozygot. Neben dem Merkmal ist das lokalisierte Chromosom des jeweiligen Haploblocks aufgeführt.....	103
Tabelle 23 Alle SNP welche in der GWAS über $-\log_{10}(p\text{-Wert})$ von 3 liegen für die einzelnen Aminosäuren. Diese umfassen Alanin, Arginin, Glutamin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Prolin, Serin, Taurin, Threonin.....	CXXXIV
Tabelle 24 (A) Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Alanin	CXLII
Tabelle 25 (A) Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Methionin	CXLIII
Tabelle 26 (A) Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Arginin.....	CXLV
Tabelle 27 (A) Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Glutaminsäure	CXLVI
Tabelle 28 (A) Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Leucin.....	CXLVI
Tabelle 29 (A) Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Prolin.....	CXLVI
Tabelle 30 (A) Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Isoleucin.....	CXLVII
Tabelle 31 (A) Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Serin	CXLVII
Tabelle 32 (A) Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Threonin.....	CXLVIII

Abkürzungsverzeichnis

00-Qualität	Rapssaat mit niedrigem Glucosinolat- (<18µmol/g Samen) und Erucasäuregehalt (<2%)
0-Qualität	Raps mit niedrigem Erucasäure (<2%)- und hohem Glucosinolatgehalt
ADL	säurelösliches Lignin (<i>engl.</i> Acid detergent lignin)
ADF	säurelösliche Faserstoffe (<i>engl.</i> acid detergent fiber)
Ala	Alanin
Arg	Arginin
Asp	Asparaginsäure
BnASSYST	ERANET BnASSYST Diversitätsset
Bp	Basenpaare
C22:1	Erucasäure
Chr	Chromosom
CNR	Cruciferin:Napin Verhältnis
Cru	Cruciferin
CruNap	Cruciferin:Napin-Verhältnis
Cys	Cystein
EAA	essentielle Aminosäuren
EAAe	essentielle Aminosäuren mit NIRS geschätzt
Efsa	Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (<i>engl.</i> European food safety authority)
ER	Endoplasmatisches Retikulum
eRS	entfettetes Rapsschrot
FAE1	Fettsäure-Elongase 1 (<i>engl.</i> fatty acid elongase 1)
Glu	Glutamin
Gly	Glycin
GSL	Glucosinolat(e)
GWAS	Genomweite Assoziationsstudie
H ²	Heritabilität
His	Histidin
HN	Hohe Stickstoffdüngestufe
IEC	Ionen-Austausch Chromatografie (<i>engl.</i> Ion exchange chromatography)
Ile	Isoleucin
LC	Flüssigchromatografie (<i>engl.</i> liquid chromatography)

LD	Gametenphasenungleichgewicht (<i>engl.</i> linkage disequilibrium)
Leu	Leucin
LN	Niedrige Stickstoffdüngestufe
LSD	kleinster signifikanter Unterschied (<i>engl.</i> least significant differences)
Lys	Lysin
Met	Methionin
MLPS	modified partial least squares
N	Stickstoff
N1	Niedrige Stickstoffdüngestufe
N2	Hohe Stickstoff Düngestufe
Nap	Napin
NEAe	nicht-essentielle Aminosäuren mit NIRS geschätzt
NES	nicht-essentielle Aminosäuren
NIRS	Nahinfrarotreflexionsspektroskopie
PCA	Hauptkomponentenanalyse (principal component analysis)
PEEK	Polyetheretherketon (polyetheretherketone)
Phe	Phenylalanin
PK model	Hauptkomponenten und Kinship-Matrix Modell
Pro	Prolin
ProCon	Proteingehalt
ProY	Proteinерtrag
QQ-Plot	Quantil-Quantil-Plot
QTL	Region eines quantitativen Merkmals (<i>engl.</i> quantitative trait locus)
R ²	Variationskoeffizient
Rcv ²	Erklärte Varianzen der Kreuzvalidierung (<i>engl.</i> explained variances in cross validation)
RPD	Bestimmtheitsmaß (<i>engl.</i> coefficient of determination)
SD	Standardabweichung
SDS	Natriumdodecylsulfat (<i>engl.</i> sodium dodecyl sulphate)
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese (<i>engl.</i> sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoreses)
SE	Standardfehler
SEA	Semi-essentielle Aminosäuren
SEAe	Semi-essentielle Aminosäuren mit NIRS geschätzt
SEC	Standardfehler der Kalibration

SEL	Standardlaborfehler
SECV	Standardkalibrationsfehler
SEP	Standardvorhersagefehler
Ser	Serin
SNV	standard normal variate
SYtha	Ertrag in t ha ⁻¹
Tau	Taurin
Thr	Threonin
Thy	Tyrosin
Val	Valin
Year_of_reg	Zulassungsjahr

1. Einleitung

Aufgrund des stetigen Anstiegs der menschlichen Bevölkerung auf diesem Planeten muss sichergestellt werden, dass es qualitativ hochwertige Nahrung für alle Menschen gibt. Dieser Herausforderung stellt sich die Landwirtschaft mit Hilfe von Forschung und Politik. In der vorliegenden Studie steht Raps (*Brassica napus* L.) als hochwertige Proteinpflanze für den erhöhten Proteinbedarf durch die stetig wachsende Bevölkerung der Erde im Vordergrund. Zum jetzigen Zeitpunkt ist klar, dass die Aufzucht und Haltung von Tieren zur Fleischproduktion einen großen Einfluss auf unser Klima und damit auch auf den Klimawandel haben (González et al. 2020). Um unsere Umwelt zu schützen und die Erde für nachfolgende Generationen zu erhalten, müssen wir Ideen entwickeln, um unseren CO₂-Fußabdruck zu reduzieren. Dies könnte beispielsweise durch den Verzehr von pflanzlichen statt tierischen Proteinen erreicht werden (Aleksandrowicz et al. 2016). In den letzten Jahren wurden große Anstrengungen unternommen, um die wärmeliebende Eiweiß- und Ölpflanze Soja an unser gemäßigtes Klima in Europa anzupassen (Fogelberg and Recknagel 2017). Sojabohnen in der EU zu produzieren ist möglich, dennoch gibt es nur wenige an die gemäßigten Klimate angepasste Sorten (Fogelberg and Recknagel 2017). Weiterhin ist der Anbau der Sojabohne in Mittel- und Südamerika aufgrund von langen Transportwegen von Argentinien und Brasilien nach Europa nicht nachhaltig (Boerema et al. 2016). Auch die Rodung von primärem tropischen Regenwald zur Schaffung neuer Anbauflächen, unter anderem für den Sojaanbau, ist fragwürdig (Brown et al. 2005). Beispielweise wurden im brasilianischen Bundesstaat Mato Grosso im Zeitraum von 2001 bis 2004 allein mehr als 450.000 ha an Regenwaldfläche in Kulturland umgewandelt (Morton et al. 2006). Um die von den Vereinten Nationen gesetzten Ziele für nachhaltige Entwicklung zu erreichen, ist es von großer Bedeutung die Produktion von pflanzlichen Eiweißquellen in der EU zu erhöhen. Im Jahr 2016/17 wurden etwa 27 Millionen Tonnen in der EU an pflanzlichem Rohprotein verbraucht wurden (EUROPEAN COMMISSION 2018). Raps ist die bedeutendste Ölpflanze in Europa, deren Ölextraktionsschrot eines der wichtigsten Proteinquellen in Westeuropa darstellt. 2021/22 wurden etwa 12 Millionen Tonnen Rapsextraktionsschrot mit einem durchschnittlichem Proteingehalt von 37% in der EU produziert (EUROPEAN COMMISSION: Committee for the Common Organisation of Agricultural Markets 2022). Dabei wird die Proteinqualität als sehr gut eingeschätzt und ist mit der von Sojaprotein vergleichbar (Fleddermann et al. 2013). Des Weiteren ist Raps ein fakultativer Fremdbefruchter (Friedt et al. 2018), was ihn, im Gegensatz zu Soja, einem strengen Selbstbefruchter, zu einer geeigneten Kulturart für die Hybridzüchtung macht. Denn bei Fremdbefruchtern ist ein größerer Heterosiseffekt zu erwarten (Friedt et al. 2018). Zudem existiert für Raps ein leistungsfähiges CMS-System, welches die Produktion von kosteneffizienten Hybridsaatgut ermöglicht (Paril et al. 2024). Der größte Vorteil von F1-Hybridsorten bei Raps sind jedoch die höheren Erträge, welche um 8-

16% über den von Populationssorten liegen, und deren höhere Ertragsstabilität (Friedt et al. 2018). All diese Faktoren machen den Raps zu einer prädestinierten pflanzlichen Proteinquelle in gemäßigten Klimaten.

In der vorliegenden Arbeit wird der genetische Hintergrund der Rapsproteinqualität über die Entwicklung einer Schnellmessmethode ergründet. Weiterhin liefern potentielle Kandidatengene für die Speicherproteinfraktionen (Cruciferin, Napin), die Aminosäuregruppen der essentiellen, semi-essentiellen und nicht-essentiellen Aminosäuren sowie die einzelnen Aminosäuren wertvolle Informationen zur züchterischen Verbesserung des vorhandenen Pflanzenmaterials im Hinblick auf dessen Proteinqualität. Abschließend wird davon ausgegangen, dass die Stickstoffdüngung Einfluss auf die Speicherproteinzusammensetzung (Cruciferin, Napin) der Rapspflanze hat.

1.1 Pflanzenproteine und ihre Rolle in der menschlichen Ernährung

Proteine sind hochkomplexe molekulare Strukturen, die aus einer bestimmten Abfolge von Aminosäuren bestehen, welche durch eine Peptidbindung verbunden sind. Ihre Funktionen im menschlichen Körper sind zahlreich: Sie sind wichtig für Muskeln und Körpermasse, gleichzeitig aber auch unverzichtbar für lebenswichtige Stoffe wie Hormone, Enzyme und Antikörper (Elmadfa and Leitzmann 2015). Deshalb sind Proteine, welche für den Menschen essentielle Aminosäuren enthalten, in der Ernährung von entscheidender Bedeutung. Insgesamt finden sich in tierischen Proteinen höhere Gehalte an essentiellen Aminosäuren als in pflanzlichen Proteinen (Elmadfa and Leitzmann 2015). Auch wenn tierische Proteine hinsichtlich des Gehalts an essentiellen Aminosäuren einen höheren Stellenwert haben, schlagen einige Autoren vor, dass vor allem pflanzliche Proteine für die menschliche Gesundheit von Vorteil sein könnten. Song et al. (2016) argumentieren, dass der Blutdruck gesenkt, der Low-Density-Lipoprotein-Spiegel (LDL, die ungünstige Cholesterinfraktion im menschlichen Körper) reduziert und die Insulinsensitivität erhöht werden kann, indem tierisches Protein und insbesondere rotes Fleisch durch pflanzliche Proteine ersetzt werden. Dies bedeutet, dass der Verzehr von pflanzlichem Protein anstelle von tierischem Protein die Gesamtzahl der Fälle von Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Typ-2-Diabetes-Inzidenzen reduzieren könnte. Darüber hinaus kommen Levine et al. (2014) zu dem Schluss, dass aus Pflanzen gewonnene Nährstoffe, einschließlich Pflanzenprotein, die Gesamtsterblichkeit beim Menschen verringern können. Die genannten Studien untersuchten die Unterschiede zwischen einer Diät mit tierischem und pflanzlichem Protein.

1.2 Raps

1.2.1 Die Evolution und züchterische Meilensteine von Raps

Raps, auch bekannt als *Brassica napus* L., ist ein Produkt der spontanen Hybridisierung von *Brassica rapa* L. (AA, 2n=20) und *Brassica oleracea* L. (CC, 2n=18). Untersuchungen legen nahe, dass das Hybridisierungsereignis vor 7.500 bis 10.000 Jahren in der Mittelmeerregion stattfand. Daher ist Raps

(*Brassica napus* L.) eine vergleichsweise junge Kulturpflanze (Chalhoub et al. 2014). Die Hybridisierung von Raps fand höchstwahrscheinlich mehrfach und an verschiedenen Orten statt. Weil die Eltern von *B. napus* hauptsächlich in Europa (*B. oleracea*) und Osteuropa (*B. rapa*) zu finden sind, ist es sehr wahrscheinlich, dass die Hybridisierung in Europa stattfand (Arias et al. 2014). Raps wird seit seiner Domestizierung als Ölpflanze genutzt und ist heute die am häufigsten angebaute Ölpflanze in der EU mit einer Fläche von 5,32 Millionen Hektar und einem Produktionsvolumen von 16,7 Millionen Tonnen im Jahr 2021 (EUROPEAN COMMISSION: Committee for the Common Organisation of Agricultural Markets 2022). Rapsöl kann durch Extraktion und Raffination gewonnen werden. Wegen der hohen Gehalte an Erucasäure im Öl und Glucosinolaten im Extraktionsschrot wurde Rapsöl vor den 1960er Jahren nur für technische Anwendungen verwendet. Für die menschliche und tierische Ernährung mussten die Gehalte an Erucasäure und Glucosinolaten im Samen drastisch reduziert werden. Erucasäure (C22:1) ist eine einfach ungesättigte Fettsäure, die bei längerer Aufnahme eine kardiale Lipidose hervorzurufen scheint (Kramer et al. 1988). Neben den gesundheitlichen Risiken für den Menschen hat Erucasäure einen unangenehmen Bittergeschmack. In den 1960er Jahren wurde festgestellt, dass die deutsche Sommerrapsorte „Liho“ einen stark reduzierten Erucasäuregehalt aufwies, woraufhin diese Sorte erfolgreich in kanadischen Sommerraps eingekreuzt wurde und damit den sogenannten 0-Qualitätsraps begründete (Harvey and Downey 1964; Stefansson and Hougen 1964). Eine weitere antinutritive Verbindung in Rapsschrot sind die Glucosinolate im Samen, wovon es mehr als 120 bekannte Verbindungen gibt. Glucosinolate sind sekundäre Pflanzenstoffe, die Schwefel, eine β -D-Thioglucosegruppe und eine aus Methionin, Tryptophan oder Phenylalanin gewonnene variable Seitenkette enthalten (Tripathi and Mishra 2007) und höchstwahrscheinlich in den Vakuolen lokalisiert sind (Lüthy and Matile 1984). In Raps kommen die aliphatischen Glucosinolate 3-Butenyl, 4-Pentenyl, 2-Hydroxy-3-butenyl und 2-Hydroxy-4-pentenyl vor (Nadathur et al. 2017). Seit den 1970er Jahren hat sich der Glucosinolatgehalt auf 30 $\mu\text{mol/g}$ im entfetteten Rapsschrot reduziert (Snowdon et al. 2006-2007; Nadathur et al. 2017). Mittlerweile gilt beim Bundessortenamt der Grenzwert von weniger oder gleich 25 $\mu\text{mol/g}$ Samen (9% Feuchtigkeit, 40% Ölgehalt), um eine Sorte als glucosinolfrei zuzulassen; in Kanada sind sogar 18 $\mu\text{mol/g}$ Samen der offizielle Grenzwert (Schuhmann 2005; Song et al. 2016). Dabei zeigen mehr als 90% der zugelassenen Sorten auf der beschreibenden Sortenliste von 2022 einen Glucosinolatgehalt von höchstens 17,9 $\mu\text{mol/g}$ Samen (bei 9% Feuchtigkeit, 40% Ölgehalt)(Bundessortenamt 2022). Problematisch bei den Glucosinolaten ist die Hydrolyse von Glucosinolaten in Glucose, Sulfat und Isothiocyanate durch das Enzym Myrosinase. Myrosinase ist natürlicherweise im Idoplast von Brassicaceen und Ölraps vorhanden. Diese ist membrangebunden und einem Tonoplasten ähnlich (Thangstad et al. 1991). Durch die Gewebeerstörung bei der Ölgewinnung wird die natürliche Trennung von Myrosinase und Glucosinolaten aufgehoben und es kommt zur Bildung von Isothiocyanaten im Rapsextraktionsschrot.

Abgesehen vom bitteren Geschmack gelten Isothiocyanate als goitrogen. Dies bedeutet, dass sie die Jodaufnahme in die Schilddrüse beeinflussen können und damit die Kropfbildung fördern. Darüber hinaus sind Isothiocyanate dafür bekannt, Leber- und Nierenschäden sowie eine Fehlfunktion des Lymphsystems zu verursachen (Snowdon et al. 2006-2007). Beim Menschen können sie eine verminderte Jodaufnahme verursachen (Nadathur et al. 2017). 1969 wurde die polnische Rapsorte „Bronowski“ mit niedrigem Glucosinolatgehalt identifiziert, was zu einer neuen Ära in der Rapszüchtung führte (Kondra and Stefansson 1970). Nun konnte im Raps auf glucosinolatarme und erucasäurefreie Sorten gezüchtet werden. Diese werden auch als 00-Sorten bezeichnet (Bundessortenamt 2022). Diese neuen Sorten haben in der menschlichen Ernährung als hochwertiges Öl mit einem hohen Anteil an ungesättigten Fettsäuren gute Verwendung gefunden. Nach der Ölgewinnung wird das Extraktionsschrot als wertvolles Proteinfuttermittel für Nutztiere verwendet. Für monogastrische Tiere bleiben der hohe Ballaststoffgehalt und die vergleichsweise geringe Proteinverdaulichkeit problematisch (Fenwick and Curtis 1980). Aufgrund der herausragenden Qualität des Rapsschrots mit einem hohen Anteil an essentiellen Aminosäuren in der Proteinfraction wurde es mehrfach als mögliche Verwendung für die menschliche Ernährung diskutiert (Bos et al. 2007; Aider and Barbana 2011; Fleddermann et al. 2013; Sarwar 2013). In Bezug auf den Verbrauch von Protein aus Ölsaaten ist in Europa die Nachfrage höher als das Angebot. Der Hauptgrund hierfür ist ein hoher Import von Sojabohnen und Sojaschrot, der notwendig ist, um den Bedarf an günstigem pflanzlichem Protein in der Tierernährung zu decken.

1.2.2 Die wirtschaftliche Bedeutung von Raps

In Deutschland werden etwa 90 % des Rapsöls verarbeitet: Ein Fünftel wird in der Lebensmittelindustrie verwendet, das restliche Öl wird für technische Anwendungen und hier hauptsächlich für die Herstellung von Biokraftstoffen, genutzt (Graeser et al. 2008). Wie in Abbildung 1 zu sehen ist, ist Rapsöl das meistgenutzte Pflanzenöl in Deutschland.

Weltweit ist Raps nach der Ölpalme (*Elaeis guineensis*) und der Sojabohne (*Glycine max*) die am dritthäufigsten angebaute Ölpflanze. Von insgesamt 216 Millionen Tonnen Pflanzenölproduktion weltweit im Jahr 2020 entfielen etwa 12 % auf Rapsöl. Dies entspricht einer Menge von etwa 26 Millionen Tonnen (OVID 2023). Der Anbau von Ölsaaten in Europa, ist hauptsächlich auf die Ölsaaten Sonnenblume (*Helianthus annuus*) und Raps (FAO) konzentriert. Der Verbrauch von Ölextraktionsschrotschrot in Deutschland teilt sich in Sojaschrot, Rapsschrot und Sonnenblumenschrot auf. Von 2010 bis 2016 wurde hauptsächlich Sojaschrot verwendet. Seit 2018 ist Rapsschrot mit einer Menge von 3,9 Millionen Tonnen im Jahr 2022 der Spitzenreiter (siehe Abbildung 2).

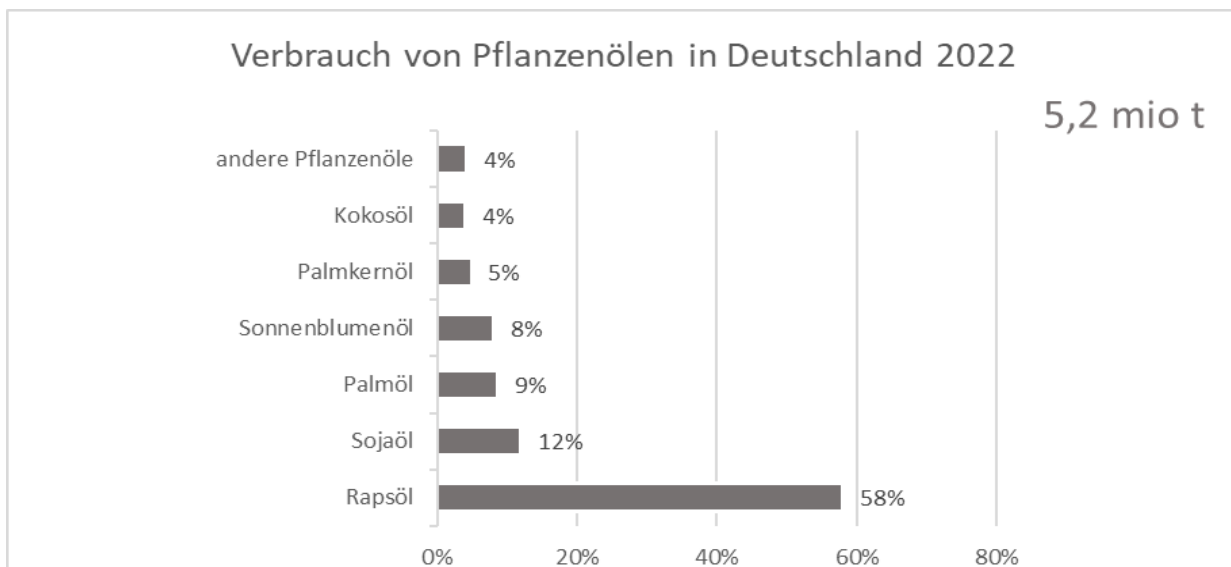


Abbildung 1 Verbrauch von Pflanzenölen in Deutschland im Jahr 2022 in Prozent einer Bruttomenge von 6,3 Millionen Tonnen; andere Öle umfassen: Leinsamenöl, Olivenöl, Rizinusöl, Maisöl, Erdnussöl, Baumwollsaamenöl, Sesamöl; Daten stammen von OVID 2023, eigene Darstellung

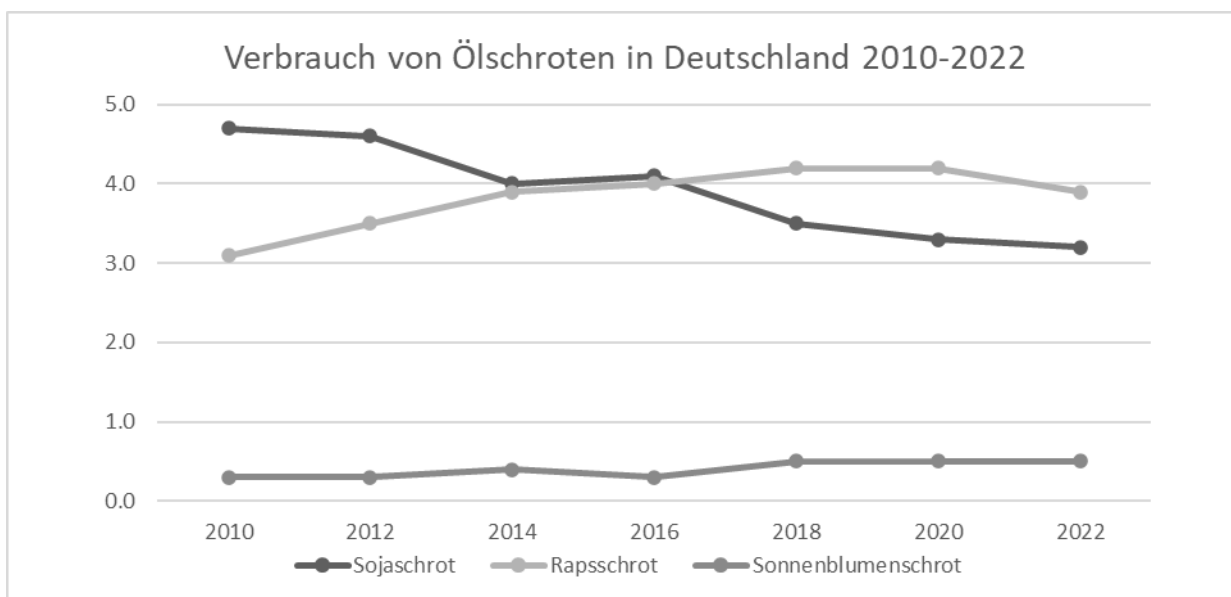


Abbildung 2 Verwendung von Ölschrot in Deutschland 2010 bis 2022 in Mio. t Soja, Raps und Sonnenblume; Daten stammen von OVID 2023, eigene Darstellung

Im Landwirtschaftsjahr 2019/2020 stammten 1.699.000 Tonnen des an Tiere verfütterten Proteins aus Raps, wovon 28% des Rapsproteins in Deutschland produziert wurden. Insgesamt lag der Anteil von Rapsprotein an der Bruttotierfütterung bei 16 % (Deutscher Verband Tierernährung e. V. 2021). EU-weit ist Sojaschrot (30 Millionen Tonnen) im Zeitraum 2019-2020 nach wie vor die wichtigste pflanzliche Proteinschrotquelle für die Tierernährung, von welcher der größte Teil in die EU importiert wird. An Rapsschrot wurden 13 Millionen Tonnen und an Sonnenblumenschrot 8 Millionen Tonnen verfüttert. Hier ist der Selbstversorgungsgrad der EU mit 72 % Rapsschrot und 53 % Sonnenblumenschrot deutlich höher (Lannuzel et al. 2022).

1.2.3 Wertvolle Inhaltsstoffe der Rapssaat

1.2.3.1 Öl als Hauptwertgebender Inhaltsstoff

Raps ist eine Ölpflanze, deren Samen zu 38-49 % aus hochwertigem Öl besteht (Friedt et al. 2018). Bei den modernen 00-Qualitätssorten enthält das Samenkorn 45-50 % Öl. Dieses Öl setzt sich zusammen aus 60 % Ölsäure (18:1), einer einfach ungesättigten Fettsäure, 30 % Linolsäure (18:2), einer zweifach ungesättigten Fettsäure und etwa 10 % Linolensäure (18:3), einer dreifach ungesättigten Fettsäure. Dieses Fettsäuremuster macht Rapsöl zu einem hochwertigem Speiseöl für die menschliche Ernährung (Wittkop et al. 2009). Neben dem Öl ist das Rapsprotein ein weiterer wertvoller Inhaltsstoff (Friedt et al. 2018), welcher allerdings in der Praxis für den Verkauf der Ernte für den Landwirt keine Rolle spielt, da sich der Verkaufspreis hauptsächlich über die Ölmenge, die Samenfeuchte und den Besatz berechnet (Funk and Mohr 2010). Problematisch ist dabei, dass der Öl- und Proteingehalt im Samenkorn negativ korreliert ist und somit eine erhöhte Stickstoffdüngung und eine damit eingehende Proteinmengensteigerung die Ölmenge und somit auch den Verkaufsgewinn der Rapssaat reduzieren würde (Kutcher et al. 2005; Funk and Mohr 2010; Yahbi et al. 2022). Denkbar wäre über eine reduzierte Samenschale den Fasergehalt des Samenkorns zu reduzieren und hierdurch eine Steigerung des Öl- und Proteinertrags zu erzielen. Diese Möglichkeit besteht über die Nutzung einer gelbsamigen Sorte (Chai et al. 2009).

1.2.3.2 Speicherproteinfraktionen Cruciferin und Napin im Raps

Das Samenspeicherprotein von Raps besteht aus drei Hauptproteinfraktionen, die etwa 90 % des Speicherproteins ausmachen. Bei modernen Elitesorten teilen sich die Proteinfraktionen in 60 % des 12 S-Globulins Cruciferin, 20 % des 2 S-Albumin Napin und ca. 10 % Oleosin, auf. Oleosin ist ein Protein, welches in der Ölfraction vorkommt. Da Oleosine nur in geringen Menge vorhanden sind werden sie in dieser Arbeit ausgeklammert (Hayes 2021). Untersuchungen zeigen, dass Napin die häufiger vorkommende Proteinfraktion in glucosinolat- und erucasäurereichen Sorten war (Malabat et al. 2013). Es wird vermutet, dass die Selektion auf niedrige Glucosinolatgehalte auch den Napingehalt beeinflusst. Beide Substanzen, Napin und Glucosinolate, teilen gemeinsame Enzyme in der Aminosäure- bzw. Glucosinolatbiosynthese (Field et al. 2004; Nesi et al. 2008). Das Rapsprotein selbst ist nicht sehr geschmackvoll, kann aber als Zutat für pflanzliche Fleischalternativen oder auch Backwaren eingesetzt werden. Um Rapsprotein als solches zu verwenden, sind die technofunktionellen Eigenschaften des Proteins von größter Bedeutung. Die Wasserabsorptionskapazität (WAC), die bei der Geschmackserhaltung und Verbesserung des Mundgefühls eine Rolle spielt, liegt in Rapsschrot zwischen 218 und 390 % seines Gewichts etwas höher als die WAC von Sojabohnen (303 %). Ein Grund dafür könnte der höhere Ballaststoffgehalt von Rapsschrot im Vergleich zu Sojaschrot sein (Ghodsvali et al. 2005; Aider and Barbana 2011). Ghodsvali et al. (2005) zeigten, dass die Fettaufnahme von ganzem Rapsschrot (265-281 %) weniger variabel als

die von geschältem Rapsschrot (204-295 %) ist. Aider and Barbana (2011) stellen fest, dass die Proteinlöslichkeit eine herausragende Rolle spielt, da sie die Emulsions-, Gelbildungs- und Schaumbildungsfähigkeit beeinflusst. Offensichtlich hat die Art der Mehlherstellung einen großen Einfluss auf die Emulsionskapazität: 66 % Löslichkeit wurden ohne Wärmebehandlung des Mehls angegeben. Das Rösten des Rapsschrots verringerte die Proteinlöslichkeit um bis zu 29 %, das Kochen sogar um bis zu 43 % (Aider and Barbana 2011). Beim Vergleich von Rapsschrot und Proteinisolaten wurde die höchste Proteinlöslichkeit in Rapsproteinisolaten gemessen (Jia et al. 2021). Weiterhin sind die Emulgierkapazität und die Schaumeigenschaften von Rapsschrot höher als diejenige von Sojabohnen und Leinsamen, selbst nach Wärmebehandlung des Schrots (Aider and Barbana 2011). Im Gegensatz dazu ist die Gelierfähigkeit von Raps wenig ausgeprägt: Im Vergleich zu Leinsamen und Sojaschrot waren höhere Schrotkonzentrationen erforderlich, um ein zufriedenstellendes Gel zu bilden, und die Wärmebehandlung des Rapsschrots hatte keine signifikante Veränderung der Gelierfähigkeit zur Folge (Aider and Barbana 2011). In modernen Rapsorten der 00-Qualität macht Cruciferin 32-53 % des Gesamtproteins aus (Malabat et al. 2013). Die Biosynthese von Vorstufen des Cruciferins findet an der rauen Außenseite des Endoplasmatischen Retikulums (ER) statt, anschließend werden diese in die Vakuolen transportiert, wo die Vorläufer Moleküle gespalten und mit Disulfatbrücken verbunden werden, um das endgültige Cruciferin Molekül aufzubauen. In Raps sind fünf Isoformen des Cruciferins bekannt. Reifes Cruciferin besteht aus sechs Untereinheiten, die durch Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) sichtbar gemacht werden können. Sein isoelektrischer Punkt liegt bei 7,25 (Wanasundara 2011). Wegen der Heterogenität des Cruciferin-Moleküls gibt es bisher nur Modelle der Quartärstruktur der sechs Cruciferin-Untereinheiten. Die Heterogenität ist problematisch bei der Herstellung von Kristallen für die Röntgenanalyse, welche die tatsächliche Quartärstruktur von Cruciferin zeigen würde (Wanasundara 2011). Nach Wanasundara (2011) ist davon auszugehen, dass die Quartärstruktur von Cruciferin derjenigen von Proglycinin, der 11S-Proteinfraktion der Sojabohne, ähnlich ist. Dementsprechend würden die Cruciferin-Untereinheiten aus 27 Beta-Strängen und 7 Helices bestehen. Diese Strukturen werden dann in zwei β -Fass-Domänen und zwei verlängerte Helixdomänen gefaltet, die 2 Helices enthalten (Adachi et al. 2001). Nach Plietz et al. (1987) wird Cruciferin aus sechs Untereinheiten gebildet, die α - β -Polypeptide enthalten. Zusammen mit einem Promotor werden diese Untereinheiten im Folgenden zu einem trigonalen Antiprisma angeordnet. Das sogenannte Plietz-Modell ist in Abbildung 3 dargestellt. Die Cruciferin- und Napin-Moleküle unterscheiden sich nicht nur in der Größe, sondern auch in ihrer Sekundärstruktur und Bindungsart. Während Cruciferin aus etwa 10 % α -Helices und etwa 50 % β -Faltblatt besteht und durch nichtkovalente Bindungen verbunden ist, besteht die Napin-Struktur aus etwa 40-46 % α -Helices und 12 % β -Faltblatt und wird hauptsächlich mit Disulfidbrücken stabilisiert (Aachary et al. 2015).

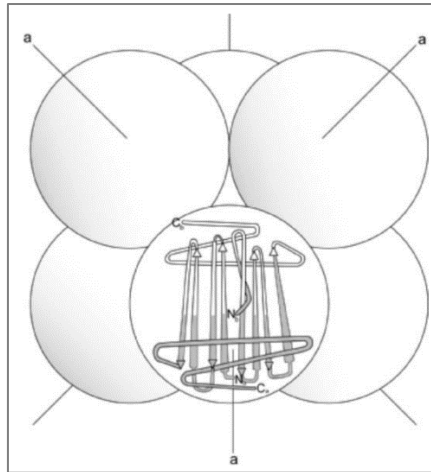


Abbildung 3 Plietz-Modell der Cruciferin-Struktur. Dargestellt ist die räumliche Anordnung der sechs Untereinheiten und der α - β -Ketten, die jede Untereinheit bilden, Abbildung übernommen von Wanasundara (2011).

Die Napingehalte in Raps liegen in den europäischen Sorten je nach Qualität zwischen 25 % und 45 % (Malabat et al. 2013). Aufgrund der multigenfamilien-codierenden Sequenz von Napin ist seine Struktur hochgradig polymorph. Napin wird von 10 bis 16 Genen codiert, von welchen vier genomische Sequenzen (napA, gNa, BngNAP1, napB) und drei cDNA-Sequenzen (pN1, pN2, pNAP1) bekannt sind (Byczyńska and Barciszewski 1999; Wanasundara 2011). Die Synthese von Napin findet an membrangebundenen Ribosomen statt, deren Vorläufer zum Lumen des ER transportiert werden, wo die Disulfidbindungen aufgebaut werden. Durch eine proteolytische Spaltung des negativen Napins in der Vakuole wird das endgültige Napinmolekül hergestellt (Ericson et al. 1986; Murén et al. 1996; Byczyńska and Barciszewski 1999). Napin in seiner reifen Form besteht aus zwei Disulfid verknüpften Teilen: Einer kurzen Untereinheit mit etwa 4,5 kDa und einer langen Seiteneinheit von etwa 10 kDa (Gehrig and Biemann 1996; Byczyńska and Barciszewski 1999). Eine Kristallstruktur von rproBnlb, einem 2S-Albumin aus Raps, abgeleitet von Pantoja-Uceda et al. (2004) ist in Abbildung 4 dargestellt.

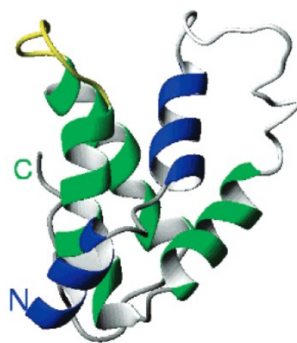


Abbildung 4 Kristallstruktur von rproBnlb, einem 2S-Albumin aus Raps, übernommen von Pantoja-Uceda et al. (2004)

1.2.3.3 Aminosäuren bestimmen die Proteinqualität

Rapsprotein besitzt eine hervorragende ernährungsphysiologische Qualität und wird derzeit als hochwertiges Proteinfuttermittel eingesetzt (Gacek et al. 2018). Die Qualität von Protein wird anhand seines Gehalts an essentiellen Aminosäuren (EAA) gemessen (Mattila et al. 2018). Sie werden als essentiell bezeichnet, weil Säugetiere nicht in der Lage sind, diese Aminosäuren selbst zu synthetisieren. Gleichzeitig sind EAA entscheidend für den Lebenszyklus des Säugetiers. Pflanzliche Proteine weisen im Vergleich zu tierischen Proteinen reduzierte Konzentrationen an EAA auf (Mattila et al. 2018). Raps ist bekannt für seinen hohen Gehalt an den schwefelhaltigen Aminosäuren Methionin und Cystein (Mattila et al. 2018). Mattila et al. (2018) analysierten verschiedene pflanzliche Proteinquellen, einschließlich Raps, und fanden heraus, dass Rapspresskuchen einen überdurchschnittlichen Gehalt an EAA vergleichbar mit Kuhmilch und Hühnerei aufweist. Darüber hinaus enthält Rapspresskuchen gute Mineralstoffquellen, insbesondere Zink. Die Aminosäuregehalte im Rapsschrot, eingeteilt nach den Aminosäuregruppen (essentiell, semi-essentiell, nicht-essentiell) sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1 Aminosäuregehalte in Rapsschrot im Prozentanteil des Rohproteins (Wanasundara et al. 2017)

Essentielle Aminosäuren	Rapsschrot	Semi-Essentielle Aminosäuren	Rapsschrot	Nicht-Essentielle Aminosäuren	Rapsschrot
Cystein	2,39	Arginin	5,87	Alanin	4,36
Histidin	3,39	Glutamin	18,14	Asparaginsäure	7,25
Isoleucin	4,33	Glycin	4,92	Serin	4
Lysin	7,06	Prolin	5,97		
Methionin	5,56				
Phenylalanin	3,83				
Threonin	4,39				
Tryptophan	1,33				
Tyrosin	3,22				
Valin	5,47				
Leucin	7,06				

1.2.3.4 Rapsschrot für die menschliche Ernährung

Rapsschrot ist aufgrund seiner hervorragenden Proteinqualität ein wertvolles Futter für Nutztiere. Angesichts der steigenden Nachfrage nach pflanzlichen Fleischalternativen und seines hohen ernährungsphysiologischen Wertes ist Rapsschrot und -protein zudem prädestiniert für die Humanernährung. Für eine Ernährung mit Rapsprotein spricht, dass verschiedenen Studien tierisches Protein als problematisch für die menschliche Gesundheit sehen. Dies gilt besonders im Erwachsenenalter, wenn der menschliche Körper nicht mehr wächst, sondern nur noch seine Strukturen beibehält. Song et al. (2016) konnten zeigen, dass pflanzliche Proteine im Gegensatz zu

tierischen Proteinen nicht mit einem Anstieg des insulinähnlichen Wachstumsfaktor 1 (Insulin-like-Growth-Factor-1) Spiegels assoziiert sind. Der insulinähnliche Wachstumsfaktor 1 ist ein einkettiges Polypeptid (Humbel 1990), das im menschlichen Körper ähnlich wie Insulin wirkt: Es hemmt die Lipolyse und erhöht die Speicherung von Glucose im Fettgewebe (Froesch et al. 1985), d.h., es hilft Fettgewebe aufzubauen, indem es Fett als Energie speichert. Volk et al. (2020) testeten die Reaktion bei gesunden Menschen auf Raps- und Sojaprotein. Sie fanden heraus, dass Rapsprotein das Hungergefühl stärker reduziert als Sojaprotein, was mit höheren Konzentrationen von Leucin, Lysin, Tryptophan, Isoleucin und Threonin im Blut zusammenhängen kann. Darüber hinaus zeigte sich, dass der Genuss von Rapsprotein mit einem niedrigeren postprandialen Blutzucker einherging und zudem die Insulinempfindlichkeit erhöhte. Sie fanden auch höhere Gehalte an Ballaststoffen, die positive Auswirkungen auf den Blutdruck, Bluthochdruck, kardiovaskuläre Mortalität und Darmkrebs haben können (Volk et al. 2020). Bisher werden vor allem Soja-, Weizen-, Erbsen- und Linsenproteine verwendet, um pflanzliche Fleisch- und Milchfreie Alternativen für den Verbraucher zu schaffen. Die Burcon NutraScience Corporation bietet über die Merit Functional Food Cooperation zwei Proteinpulver auf Rapsbasis für die Lebensmittelindustrie an. Eines davon ist das albuminreiche Supertein[®], welches eine hervorragende Löslichkeit besitzt, um aus Flüssigkeiten, ähnlich wie Hühnereis, einen stabilen Schaum zu erzeugen. Das andere Produkt ist Puratein[®], ein globulinreiches Proteinpulver, das sich hauptsächlich zur Gelbildung, Emulgierung und Verdickung eignet. Durch seine texturierende Fähigkeit können Produkte mit einer fleischähnlichen Sensorik hergestellt werden. Um das Rapsprotein in der menschlichen Ernährung einzusetzen, ist die Proteinqualität entscheidend. In Tabelle 2 ist eine Übersicht über Rapsproteinisolate und deren Aminosäuregehalte dargestellt.

Die Schrotqualität von Raps wird durch den Gehalt an biochemischen Verbindungen bestimmt, die im Schrot vorhanden sind, bei Raps sind dies Restöl und Protein. Durch die Vielzahl von antinutritiven Verbindungen wie Phytate, Phenole, Glucosinolate und deren Abbauprodukten im Raps werden Fehlgerüche erzeugt (Nadathur et al. 2017). Diese Inhaltsstoffe erschweren den Einsatz von Rapsschrot in der Ernährung von monogastrischen Tieren und insbesondere beim Menschen (Snowdon et al. 2006-2007). Phytate sind Salze von Calcium, Magnesium und Kalium in Verbindung mit Phosphat oder Phytinsäure. Je nach pH-Wert während der Proteinextraktion bilden Phytate Kristallstrukturen, die die Proteinstruktur verändern und damit die Löslichkeit, Funktionalität und Verdaulichkeit des Mehls oder der Proteinisolate negativ beeinflussen könnten (Nadathur et al. 2017). Darüber hinaus können Phytinsäuren Komplexe mit Mineralstoffen bilden, was ihre Bioverfügbarkeit und damit die Aufnahmefähigkeit des Körpers verringert. Weiterhin gibt es Experimente, die auf eine reduzierte Amylaseaktivität durch die Anwesenheit von Phytinsäure hindeuten, welche die Verdaulichkeit und Absorption von Stärke verringert (Tan et al. 2011). Bei Raps sind Phenole hauptsächlich freie und

veresterte Phenolsäuren und kondensierte Tannine (Nadathur et al. 2017). Im Vergleich zur Sojabohne enthält Raps etwa 30-mal mehr Phenolester, welche den Großteil der antinutritiven Substanzen im Raps darstellen. Die häufigsten phenolischen Verbindungen in Raps sind Sinapinester und Sinapolycholine (Tan et al. 2011). Besonders Tannine oder Proanthocyanidine erzeugen im Rapsschrot eine unerwünschte dunkle Farbe und einen bitteren Geschmack. Abgesehen von den sensorischen Problemen bilden Tannine mit Proteinen bitter schmeckende Komplexe, welche das bis zu 12-fache ihres eigenen Volumens an Proteinen binden können und damit die Proteine unverdaulich machen. Die Unverdaulichkeit wird durch die Hemmung von Verdauungsenzymen verursacht (Beszterda and Nogala-Kafucka 2019). Durch die genetische Diversität des Phenolgehaltes im Raps (Tan et al. 2011) sollte es möglich sein, Sorten zu züchten, die einen reduzierten Gehalt an Phenolsäureestern haben. Glucosinolate im Rapsschrot sind für Tiere (und Menschen) giftig, wenn sie durch das Enzym Myrosinase hydrolysiert werden. Neben den antinutritiven chemischen Verbindungen enthält Raps hohe Mengen an Faserstoffen, die für eine gute Verdaulichkeit und Schmackhaftigkeit kontraproduktiv sind. Ursächlich hierfür ist vor allem die Samenschale, welche etwa 10-20 % der Gesamtmasse des Samenkorns ausmacht und in welcher die meisten Faserstoffe akkumuliert sind (Lipsa et al. 2012). Untersuchungen haben gezeigt, dass Rapssorten mit helleren Samenfarben und im speziellen einer gelben Samenschale aufgrund der reduzierten Samenhülle auch einen reduzierten Fasergehalt aufweisen. Gleichzeitig ist der Samenprotein- und Ölgehalt in gelbsamigen Rapssorten erhöht (Shirzadegan and Röbbelen 1985). Die genetischen Grundlagen für die gelbsamigen Genotypen stammen höchstwahrscheinlich aus *B. rapa* und *B. juncea*, da gelbe Samen bei *B. rapa* und *B. juncea* häufiger vorkommen als bei *B. napus* (Snowdon et al. 2006-2007). Dabei sind die bis heute bekannten gelbsamigen *B. napus* Genotypen auf eine interspezifische Hybridisierung mit anderen *Brassica*-Arten zurückzuführen (Chao et al. 2022). Auch in der Studie von Liu et al. (2012) wurde die Gelbsamigkeit von *B. napus* mit Hilfe einer Population aus Rekombinanten Inzuchtlinien (RIL) untersucht, wobei der gelbsamige Genotyp in der Parentalgeneration auf eine interspezifische Hybridisierung zwischen *Brassica napus* und *Brassica juncea* zurückgeht. Hier fanden Liu et al. (2012), einen QTL auf den homoologen Chromosomen A9 und C8, welcher auf die Cinnamol Co-A Reduktase 1 zurückgeht und mit dem Ligningehalt (ADL) in der Samenschale assoziiert ist. Dabei besitzen beide Eltern der RIL-Population (Faserreich und Faserarm) die Kopie des Gens für CCR1 auf Chromosom A9, welches ein Protein zu codieren scheint, welches nicht ordnungsgemäß funktioniert. Die scheinbar funktionale Kopie dieses Gens konnte nur bei dem faserreichen Elter gefunden werden, was vermuten lässt, dass dieser QTL einen großen Beitrag für gelbsamige Genotypen leisten kann (Liu et al. 2012).

Tabelle 2 Aminosäuregehalte in Rapsschrot und anderen Proteinprodukten aus Raps übernommen von Wanasundara et al. (2016)

Aminosäure	Rapsproteinprodukte, g Aminosäuren pro 100g						
	Rapsschrot in g pro 100g Rohprotein	Alkalisch extrahiert und säuregefälltes Proteinisolat	Supertein™	Puratein®	Isolexx™	2S Isolat	11S Konzentrat
Essentiell							
Cystein	2,29	0,39	4,5	1,6	2	8,1	1,4
Histidin	3,39	3,17	3,6	2,5	3,1	3,5	1,7
Isoleucin	3,47	5,18	3	4,4	4,2	6	6,1
Leucin	6,19	9,26	6	8,2	7,8	6,8	6,6
Lysin	5,92	5,62	7,4	4	5,5	3,4	4,6
Methionin	1,94	2,6	2,4	1,9	2	2,7	2,2
Phenylalanin	4,06	5,13	2,6	4,9	4,4	4,3	4
Threonin	4,27	5,3	3,2	3,7	4,5	4,5	4,3
Tryptophan	1,33	NA	1,4	2	1,5	1,3	1,2
Tyrosin	2,5	3,93	1,4	4,1	3,3	3,4	2,5
Valin	4,97	5,85	4,3	5,5	5	5,1	4,6
Semi-Essentiell							
Arginin	6,62	7,66	5,8	7,2	7,6	5,4	5,3
Glutamin	18,14	17,27	24,6	19,8	19,8	14,2	19,8
Glycin	4,92	5,05	4,3	5,4	5,4	6,5	6,8
Prolin	5,97	4,32	9,2	5,8	5,8	4,7	6,8
Nicht-Essentiell							
Alanin	4,36	5,14	4	4,2	4,5	5,2	5,3
Asparaginsäure	7,25	9,41	2,6	9,3	8,8	11,4	10,5
Serin	4	4,74	3,3	4,1	4,9	5,2	5,5

Durch eine starke positive Korrelation zwischen der Samenfarbe und dem ADL-Gehalt, nicht allerdings zwischen Cellulose und Hemicellulose, gehen Liu et al. (2012) davon aus, dass vor allem ADL in der Samenschale akkumuliert ist. Weiterhin ist die Farbe der Samenschale stark umweltabhängig und scheint durch mehrere Gene kontrolliert zu werden (van Deynze et al. 1993). Lipsa et al. (2012) fanden drei QTL auf den Chromosomen A09, C01 und C05, welche 66,8 % der Samenschalenfarbe in *B. napus* erklären. Allein das auf A09 lokalisierte QTL beeinflusste 40,9 % der aufgezeichneten phänotypischen

Variation. Badani et al. (2006) fanden einen QTL auf Chromosom C8, welcher einen großen Einfluss auf die Samenfarbe durch die Reduzierung der Fasergehalte (ADF) zu haben scheint. Darüber hinaus gibt es die sogenannten Transparent Testa (TT) Gene, welche eine durchsichtige Samenschale bezeichnen. Diese TT-Gene wurden vor allem in *Arabidopsis* beschrieben, scheinen jedoch auch für eine hellere Samenschale in *Brassica napus* wie beschrieben in Qu et al. (2016), Fu et al. (2007), Wei et al. (2007), Xu et al. (2007), Akhrov et al. (2009) und Auger et al. (2009), von Bedeutung zu sein. Zhou et al. (2016) konnten zeigen, dass der Locus BnaC.TT2.a in *B. napus* die Samenschalenfarbe und den Fettsäuregehalt beeinflusst. Darüber hinaus nutzten sie erfolgreich den Locus BnaC.TT2.a in der Markerentwicklung für Züchtungszwecke (Zhou et al. 2016).

1.3 Die Qualität von Rapsprotein im Zusammenhang mit der Stickstoffdüngung

Stickstoff (N) ist ein essentieller Nährstoff für die Pflanze, da N für Aminosäuren benötigt wird, welche die Grundbausteine für die Synthese von Proteinen, Nukleinsäuren und Chlorophyll sind. Ohne N-Versorgung könnten Pflanzen weder wachsen noch Erträge erbringen. Im Vergleich zu anderen landwirtschaftlichen Feldfrüchten hat Raps einen höheren Stickstoffbedarf, was unter anderem auf seine geringe Stickstoffnutzungseffizienz zurückzuführen ist. Die Rapssamen machen 28-50 % der oberirdischen Biomasse aus (Rathke et al. 2006). Von größter Bedeutung ist das Samenprotein, welches etwa ein Viertel der gesamten Samenmasse ausmacht (Gacek et al. 2018). Der Proteingehalt des Samens wird durch die Verfügbarkeit von Stickstoff für die Pflanze beeinflusst: Eine höhere Stickstoffdüngung führt zu einem erhöhten Proteingehalt in den Samen (Asare and Scarisbrick 1995; Stahl et al. 2017). Aufgrund der negativen Korrelation des Öl- und Proteingehaltes ist jedoch eine erhöhte Stickstoffdüngung aus Gewinnmaximierungsgründen abzulehnen (Kutcher et al. 2005; Funk and Mohr 2010; Yahbi et al. 2022). Weiterhin zeichnet sich Raps durch eine geringe Stickstoffnutzungseffizienz aus, was zur Folge hat, dass nach der Ernte bis zu 50 % des ausgebrachten Stickstoffs auf dem Feld verbleibt und neben einer erheblichen Umweltbelastung, eine unnötige finanzielle Belastung des Landwirtes darstellt (Bouchet et al. 2016). D'Hooghe et al. (2014) konnten zeigen, dass ein Schwefelmangel während der Blühphase von Raps die schwefelreichen Proteinfractionen innerhalb des Samenspeicherproteins zugunsten schwefelarmer Proteinfractionen reduziert. Die Proteinqualität von Raps in Abhängigkeit von Schwefel- und Stickstoffdüngung wurde von Poisson et al. (2019) mit verschiedenen Düngekompositionen untersucht. Sie fanden heraus, dass eine hohe Stickstoffdüngung ohne Schwefel die schwefelarmen Proteinfractionen erhöht. Eine hohe Stickstoffdüngung mit einer mittleren oder hohen Schwefeldüngung erhöhte die Proteinqualität durch die Produktion von schwefelreicheren Proteinfractionen. Daher wird mit einer höheren Schwefelverfügbarkeit der Proteinwert erhöht (Poisson et al. 2019).

1.4 Labormethoden zur Bestimmung der Proteinqualität

1.4.1 Aminosäureanalyse

Die grundlegende Technik der Aminosäureanalyse mittels Ionenaustauschchromatographie (IEC) wurde von Moore and Stein (1948) veröffentlicht. Seit 1948 wurde die Methode verbessert, wobei das zugrunde liegende Prinzip gleichgeblieben ist: Mit Hilfe der Flüssigkeitschromatographie (LC) werden ionische Moleküle in Abhängigkeit von ihrer Ladung, Molekülgröße, Hydrophobizität und Bindungsspezifität getrennt. In der LC gibt es eine mobile und eine stationäre Phase. Die mobile Phase trägt die einzelnen gelösten Stoffe, während die stationäre Phase chemisch modifiziert ist, was zu unterschiedlichen Wechselwirkungen mit den gelösten Stoffen der mobilen Phase führt (Lucy 2003; Fritz 2004; Cummins et al. 2017). Heute wird PEEK (Polyetheretherketon) als stationäre Phase innerhalb der Säule verwendet, während früher Zellulosesäulen und später Polystyrolharze verwendet wurden (Moore et al. 1958). Das Reagenz war immer Ninhydrin. Prinzipiell besteht die Aminosäureanalyse aus zwei Teilen: Zuerst die saure Hydrolyse, bei der die Proteine in ihre einzelnen Aminosäuren zerlegt werden, und im zweiten Schritt die Trennung, der Nachweis und die Quantifizierung der Aminosäuren. Die Aminosäuretrennung findet in der Säule statt, in der sich ein Kationenaustauschharz befindet. Die zugrunde liegende Theorie der Trennung beruht auf den Ladungsunterschieden jeder einzelnen Aminosäure und ihrer ampholytischen Natur. Die Analyse einer Probe beginnt bei einem sehr niedrigen pH-Wert um 2,2. Bei diesem Säuregrad sind alle Aminosäuren positiv geladen und an das Harz gebunden, welches Kationen für die positiv geladenen Aminosäuren abgibt. Anschließend wird der pH-Wert mit Hilfe des angeschlossenen Puffersystems (der mobilen Phase) schrittweise angehoben. Wenn die Aminosäuren dann aufgrund der pH-Differenz ihre Ladung ändern, werden sie von der Säule eluiert. Anschließend wird die eluierte Aminosäure mit Ninhydrin derivatisiert und bildet einen violett gefärbten Komplex (Ruhemanns Purpur), der photometrisch bei einer Wellenlänge von 570 nm detektiert wird. Zwei Verbindungen, Prolin und Hydroxyprolin, bilden einen gelben Farbkomplex und sind daher bei 440 nm besser nachweisbar (Moore et al. 1958; George R. Stark et al. 1960; Moore and Stein 1963; Lottspeich and Engels 2012). Die Unterscheidung der Aminosäuren auf dem Chromatogramm ist über ihre Retentionszeit möglich. Die Retentionszeit ist die Zeit, die die detektierten Moleküle benötigen, um die Säule (stationäre Phase) vom Zeitpunkt der Injektion bis zur Detektion durch das Photometer zu passieren (Lottspeich and Engels 2012). In der praktischen Pflanzenzüchtung wird die Aminosäureanalyse vor allem für die Bestimmung des Gehaltes der Aminosäuren angewendet, um die tatsächliche Proteinqualität zu erfahren und damit effektive Selektion betreiben zu können. Zarkadas et al. (2007) analysierten 14 Sojabohnensorten und fanden signifikante Unterschiede in den Gehalten von Prolin, Valin und Phenylalanin sowie den Samenspeicherproteinen. Dabei schlussfolgerten Zarkadas et al. (2007), dass die Aminosäureanalyse eine gute Methode für die angewandte Pflanzenzüchtung ist. Chen et al. (2011) nutzten ebenfalls einen

Aminosäurenanalysator für die Bestimmung der Aminosäurezusammensetzung, um mit den erhobenen Daten den Züchtungsprozess für hohe Proteinqualität über die Erstellung einer Nahinfrarotspektroskopie zu beschleunigen und zu vereinfachen. Es gibt weitere Methoden für die Aminosäureanalytik wie beschrieben in Kaspar et al. (2009), abhängig von der jeweiligen Nutzung der Daten mit Vor- und Nachteilen. Die Ergebnisse der Aminosäureanalyse über die Flüssigchromatografie und die Nachsäulenderivatisierung mit Ninhydrin sind, um exakte Resultate zu erzielen, allerdings auch sehr zeitintensiv (Kaspar et al. 2009).

1.4.2 Nahinfrarotreflektionsspektroskopie NIRS

Die Nahinfrarot-Reflexionsspektroskopie (NIRS) verwendet die Spektren von für das menschliche Auge nicht wahrnehmbarem Licht zwischen den Wellenlängen von 700–2500 nm, um die Schwingungseigenschaften einer Probe zu messen (Bokobza 2007). Moleküle besitzen eine natürliche Grundschiwingung. Werden Nahinfrarotwellen auf das Molekül gelenkt, produzieren sie zusätzlich Obertöne. Die Obertonschiwingung wird als diffuse Strahlung in alle Richtungen übertragen. Je nach Molekülstruktur wird ein Teil der Strahlung absorbiert und ein Teil reflektiert. Der Anteil der absorbierten Strahlung wird hauptsächlich durch die Bindungen von O-H, C-H, N-H und C-O bestimmt. Je mehr dieser Bindungen in der Probe vorhanden sind, desto weniger Strahlung wird reflektiert (Rotollo 1979). Am Ende berechnet die Software des NIRS-Geräts mit Hilfe einer Kalibrierung den Inhalt der Substanz. In der angewandten Züchtung ist NIRS ein gängiges Instrument zur Schätzung von Inhaltsstoffen im Auswahlprozess. Bisher wurde die NIRS-Technologie zur Schätzung von Glucosinolaten, Erucasäure, Öl, Protein und Fettsäuren verwendet. Für genaue Ergebnisse der Schätzungen ist es entscheidend, über eine gut etablierte Kalibrierung zu verfügen. Um eine präzise Kalibrierung zu entwickeln, sind eine breite phänotypische Variabilität sowie mindestens 50-100 Messungen verschiedener Genotypen erforderlich. Ein großer Vorteil der NIRS-Technologie, sobald eine Kalibrierung eingerichtet ist, ist die schnelle und zerstörungsfreie Messung (H.W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata, H.M. Heise 2002). Für die Pflanzenzüchtung bedeutet dies ein schnelles und zuverlässiges Testergebnis für Nachkommen, ohne dass Saatgut für Feldversuche verloren geht. Bei *Brassica*-Arten ist die Anwendung von NIRS für den Züchtungsprozess weit verbreitet, insbesondere für die schnelle und zerstörungsfreie Quantifizierung von Samenbestandteilen wie Glucosinolaten, Faserstoffen, Proteinen, Öl und sogar Fettsäuren. Für ADF (acid detergent fiber, in Säure lösliche Faserstoffe) konnten Font et al. (2005) zeigen, dass die von der gleichen Spezies abgeleitete Kalibriergleichung und eine Mehrspezieskalibrierung keinen signifikanten Unterschied in der Kalibrierengenauigkeit zeigen. Für Raps wurden mehrere Kalibrierungen für Saatgutbestandteile erstellt, darunter die Faserfraktionen NDF, ADF und ADL (Dimov et al. 2012; Wittkop 2012). Ein großer Vorteil der NIRS-Technologie ist die Analyse von nicht sichtbaren Spektren: Wittkop (2012) konnten zeigen, dass durch die NIRS-Technologie *B. napus*-Genotypen mit niedrigem ADL-Gehalt und in Folge dessen mit einem niedrigeren

Gehalt an phenolischen Verbindungen in der Samenschale selektiert werden können, ohne eine eventuell vorhandene Gelbsamigkeit zu beachten, denn die Ausprägung dieser ist stark umweltabhängig. Darüber hinaus zeigten Wittkop (2012) auch, dass Mikroküvetten (1 mL) und Makroküvetten (10 mL), die für die NIRS-Analyse verfügbar sind, ähnliche Ergebnisse liefern und somit beide Volumina für die Analyse von Zuchtmaterial verwendet werden können. Dies ist in frühen Zuchtstadien von Vorteil, wenn nur wenige Samen pro Genotyp verfügbar sind, da die Mikroküvetten mit einem Fassungsvermögen von 1 mL bereits mit etwa 50 Rapssamen gefüllt sind (Font et al. 2005; Wittkop 2012). Die NIRS-Technologie ist eine geschätzte Methode im Pflanzenzüchtungsprozess, weil sie genau, preisgünstig und schnell ist. Dazu ist die Analyse von intakten Samenkörnern möglich, sodass diese in einer weiteren Aussaat verwendet werden können (Font et al. 2006). Auch im Hinblick auf genomische Selektion ist NIRS eine geeignete Methode um phänotypische Daten zu erheben, speziell bei quantitativen Merkmalen, bei welchen die Genotyp-Umwelt-Interaktionen genau geschätzt werden müssen. Voraussetzung für die Erhebung von belastbaren Daten ist eine genaue Kalibration um die Differenz zwischen den geschätzten und tatsächlichen Werten so gering wie möglich zu halten (Cozzolino et al. 2001; Cabrera-Bosquet et al. 2012). Um die Züchtung auf hochwertiges Protein im Raps zu beschleunigen und vereinfachen, erstellten Stolte et al. (2022) eine NIRS Kalibration um den Gehalt der Proteinfractionen Cruciferin und Napin schätzen zu können. Dabei erzielten Stolte et al. (2022) eine Genauigkeit der erklärten Varianz in der Kreuzvalidierung und der unabhängigen Validierung um 0.9.

1.4.3 Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis - SDS-PAGE

Die Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) ist eine biochemische Methode, um Fragmente unterschiedlicher Größe und damit unterschiedlicher Ladung durch elektrische Spannung zu trennen (Hamdan and Righetti 2005a, 2005b). SDS-PAGE wird für die Schätzung der Proteingröße, die Beurteilung der Proteinreinheit, die Proteinquantifizierung, die Überwachung der Proteinintegrität, die Zusammensetzung verschiedener Proben sowie die Analyse der Anzahl und Größe von Polypeptiduntereinheiten verwendet (Sharma et al. 2015). Ein Gel in welchem SDS-PAGE stattfindet, besteht aus zwei verschiedenen Teilen: dem Sammel- und dem Trenngel. Das Sammelgel sitzt auf dem Trenngel und erzeugt eine höhere Auflösung der Banden innerhalb des Trenngels. Die Porengröße des Sammelgels ist mit nur 4 % Acrylamid groß. Das Trenngel zur Trennung von Proteinen nach ihrer Größe hat üblicherweise eine Acrylamidkonzentration von 7,5-15 % Acrylamid (Wilson 2012; Sharma et al. 2015). Der tatsächlich eingesetzte Prozentsatz an Acrylamid hängt von der Länge der zu trennenden Fragmente ab. Eine weitere Option ist die Herstellung eines Gradientengels. Hier wird die Porengröße zum unteren Ende hin kleiner, was bei sehr unterschiedlich großen Fragmenten sinnvoll ist (Hamdan and Righetti 2005b). Die Probenvorbereitung muss die Inaktivierung proteolytischer Enzyme und das Aufbrechen von Disulfidbindungen umfassen,

was durch Kochen mit β -Mercaptoethanol und SDS erreicht wird. Das β -Mercaptoethanol reduziert die Disulfidbrücken des Proteins und SDS ist für die Denaturierung des Proteins verantwortlich, wodurch eine stäbchenartige Struktur entsteht. Zusätzlich bindet SDS an die Aminosäuren der Proteinfragmente und erzeugt eine negative Ladung, welche die tatsächliche Ladung des Fragments maskiert. Normalerweise bindet ein SDS-Molekül pro zwei Aminosäuren an das Fragment (Hamdan and Righetti 2005b; Wilson 2012). Die Pufferlösung um das Gel herum und die elektrisch angelegte Spannung sorgen dafür, dass die negative geladenen Proteinbruchstücke abhängig von ihrer Größe durch das Gel transportiert werden (Wilson 2012). Kleine Fragmente werden aufgrund der Porengröße des Acrylamidgels schneller und weiter transportiert als größere (Sharma et al. 2015). Anschließend wird das gesamte Gel gefärbt. Üblicherweise wird Coomassie-Brillantblau verwendet, aber andere Farbstoffe und sogar fluoreszierende Farbstoffe sind möglich (Hamdan and Righetti 2005a). Der letzte Schritt ist das Entfärben, wodurch die gesamte überschüssige Farbe entfernt wird und nur die Fragmente auf einem transparenten Hintergrund des Gels angefärbt bleiben (Wilson 2012). SDS-PAGE ist eine wichtige Methode in der Pflanzenzüchtung um die Proteinqualität zu bestimmen und damit fundierte Selektionsentscheidungen treffen zu können. Galterio et al. (1993) konnten mit Hilfe von SDS-PAGE zeigen, dass für die optimale Teigwarenherstellung das Verhältnis der hochmolekulargewichtigen und niedrigmolekulargewichtigen Gluteline zu den mittelmolekulargewichtigen Glutelinen in Hartweizen eine zentrale Rolle spielt. Auch bei der Selektion von trockentoleranten Zuckerrüben konnten Sen and Alikamanoglu (2012) auf SDS-PAGE zurückgreifen, indem sie die wasserlöslichen Proteine analysierten und feststellten, dass trockentolerante Mutanten ein individuelles Proteinbandenmuster zeigen. Für die Brotherstellung aus Weizen ist die Proteinzusammensetzung von großer Wichtigkeit, um eine gute Backfähigkeit zu erhalten. Moonen et al. (1982) stellten fest, dass SDS-PAGE eine gute Methode ist, um die Proteinzusammensetzung zu erfassen, anhand derer die Backfähigkeit geschätzt werden kann. Für die Erstellung einer NIRS Kalibration der Proteinzusammensetzung im Raps ermittelten Stolte et al. (2022) die Gehalte von Cruciferin und Napin, ebenfalls mit Hilfe von SDS-PAGE. Ebenfalls im Raps fanden Schatzki et al. (2014) QTL für Cruciferin und Napin, wobei die Daten der Proteinfraktionen für die QTL Studie mit SDS-PAGE bestimmt wurden.

1.5 Ziel dieser Arbeit

In vielen Veröffentlichungen wurde das Protein von Ölraps untersucht und beschrieben (Crouch and Sussex 1981; Ghodsvai et al. 2005; Aider and Barbana 2011; Peltonen-Sainio et al. 2011; Wanasundara 2011; Fleddermann et al. 2013; Malabat et al. 2013; Achary et al. 2015; Campbell et al. 2016). Dennoch fehlt es an Information über die phänotypische Variation der Proteinqualität und deren schnelle Messmethoden. Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Arbeit die phänotypische Varianz der Speicherproteinfraktionen Cruciferin und Napin sowie der Aminosäurezusammensetzung

in diversen Winterrapsakzessionen bestimmt und eine genetische Assoziationsstudie durchgeführt, um Kandidatengene für die Proteinqualität zu identifizieren. Weiterhin wurde eine NIRS-Kalibration zur schnellen Einschätzung der Proteinqualität von Rapsamen erstellt und der Einfluss von Stickstoffdüngung auf die Proteinqualität im Raps untersucht. Die Erkenntnisse aus dieser Arbeit sollen dazu dienen, in der angewandten Pflanzenzüchtung die Entwicklung einer Zweinutzungssorte im Winterölraps voranzubringen, welche eine exzellente Proteinqualität und eine hohe Ölausbeute miteinander vereint.

2. Material und Methoden

2.1 Pflanzenmaterial des Winterrapsdiversitätssets und der Winterrapselitesorten

Um das Aminosäureprofil und die damit zusammenhängende Genetik einer diversen *B. napus*-Population zu untersuchen, wurden die ERANET BnASSYST-Winterakzessionen verwendet. Dieses Diversitätsset wurde gewählt, weil es verschiedene Genotypen mit hohen und niedrigen Erucasäure- und Glucosinolatgehalten sowie Zuchtstämme, Landrassen und Elitesorten enthält. Ziel war es, unter anderem die Proteinqualität in unterschiedlichen Rapsakzessionen abzubilden. Das ERANET BnASSYST Set wurde bereits von Bus et al. (2011) und Körber et al. (2012) beschrieben. Eine Übersicht über die in dieser Studie verwendeten Akzessionen aus dem BnASSYST-Set und deren Qualitätsstatus ist in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3 Akzessionen des Winterrapsdiversitätssets ERANET BnASSYST sowie deren Qualitätsstatus

#BnASSYST	AKZESSION	#BnASSYST	AKZESSION
HOHER ERUCASÄURE- UND GLUCOSINOLATGEHALT (++)			
BnASSYST-096	Hansen x Gaspard DH Line	BnASSYST-198	Palu
BnASSYST-108	Lembkes Malchower (Lenora)	BnASSYST-199	Parapluie
BnASSYST-110	Oilmpiade	BnASSYST-200	Samo
BnASSYST-111	Shang-you	BnASSYST-201	Silona
BnASSYST-112	Mansholt	BnASSYST-202	Chuosenshu
BnASSYST-114	Sollux	BnASSYST-203	Taisetsu
BnASSYST-118	Askari	BnASSYST-204	Q100
BnASSYST-119	Lirabon	BnASSYST-206	Brauner Schnittkohl
BnASSYST-129	Resyn-H048	BnASSYST-208	Couve Nabica
BnASSYST-130	Resyn-Gö S4	BnASSYST-210	Red Russian
BnASSYST-131	Resyn-Gö H226	BnASSYST-211	Siberische Boerenkool
BnASSYST-133	Baltia	BnASSYST-212	Slapska, Slapy
BnASSYST-134	Bolko	BnASSYST-213	Abukuma Natane
BnASSYST-143	Gross-Luesewitzer	BnASSYST-219	Grüner Schnittkohl
BnASSYST-144	Gülzower Ölquell	BnASSYST-223	Taiwan
BnASSYST-145	Hokkai 3-Go	BnASSYST-405	Kohalik Sinine
BnASSYST-149	Krapphauser	BnASSYST-408	Vogesa
BnASSYST-150	Kromerska	BnASSYST-409	Bronze Top
BnASSYST-158	Major	BnASSYST-411	Jaune A Collet Vert
BnASSYST-159	Markus	BnASSYST-413	Pike
BnASSYST-160	Matador	BnASSYST-418	Altasweet
BnASSYST-162	Moldavia	BnASSYST-419	Angus
BnASSYST-164	Nemertschanskij 1	BnASSYST-421	Bangholm PT
BnASSYST-168	Ramses	BnASSYST-422	Best of All
BnASSYST-169	Sarepta	BnASSYST-423	Britannia
BnASSYST-170	Skrzeszowicki	BnASSYST-424	Conqueror Bronze Green Top
BnASSYST-171	Skziverskij	BnASSYST-426	Drummonds Purple Top
BnASSYST-172	Slovenska Krajova	BnASSYST-427	Essex Model
BnASSYST-173	Sobotkowski	BnASSYST-430	Parkside
BnASSYST-174	Sonnengold	BnASSYST-431	Peerless (Acme)

#BnASSYST	AKZESSION	#BnASSYST	AKZESSION
HOHER ERUCASÄURE- UND GLUCOSINOLATGEHALT (++)			
BnASSYST-176	Trebicska	BnASSYST-432	Purple Top
BnASSYST-177	Victor	BnASSYST-434	Tankard Bronze Top
BnASSYST-178	Vinnickij 15/59	BnASSYST-435	The Bell
BnASSYST-179	Wolynski	BnASSYST-436	Tina
BnASSYST-180	V8	BnASSYST-437	Tipperary (Magnificent)
BnASSYST-186	Moana, Moana Rape	BnASSYST-447	Rotabaggeue
BnASSYST-189	Fora	BnASSYST-448	Wilhelmsburger; Reform
BnASSYST-190	Aphid Resistant Rape	BnASSYST-450	Dalo Trifolium
BnASSYST-192	Bladkool	BnASSYST-452	Magres Pajberg
BnASSYST-193	Dwarf Essex	BnASSYST-453	Sator Oetofte
BnASSYST-197	Nunsdale	BnASSYST-454	Troendersk Kvithamar
#BnASSYST	AKZESSION	#BnASSYST	AKZESSION
NIEDRIGER ERUCASÄURE- UND HOHER GLUCOSINOLATGEHALT (0+)			
BnASSYST-035	Lipton	BnASSYST-142	Erra
BnASSYST-090	Apex-93_5 x Ginyou_3 DH Line	BnASSYST-146	Janpol
BnASSYST-091	Bienvenu DH4	BnASSYST-148	Jupiter
BnASSYST-098	Rafal DH1	BnASSYST-156	Lirakotta
BnASSYST-101	Euro1	BnASSYST-157	Madora
BnASSYST-103	Primor	BnASSYST-175	Start
BnASSYST-117	Maplus	BnASSYST-195	Liragrün
BnASSYST-132	Anja	BnASSYST-217	Evvin
BnASSYST-137	Coriander	BnASSYST-414	Sensation NZ
BnASSYST-140	Doral	BnASSYST-415	Wilhelmsburger
BnASSYST-141	Edita		
#BnASSYST	AKZESSION	#BnASSYST	AKZESSION
NIEDRIGER ERUCASÄURE- UND GLUCOSINOLATGEHALT (00)			
BnASSYST-001	Alesi	BnASSYST-063	Lorenz
BnASSYST-002	Remy	BnASSYST-064	Baros
BnASSYST-003	Robust	BnASSYST-065	Rasmus
BnASSYST-004	Alaska	BnASSYST-066	Gefion
BnASSYST-005	Pirola	BnASSYST-067	Nugget
BnASSYST-006	Adder	BnASSYST-068	Zephir
BnASSYST-007	Milena	BnASSYST-069	SLM 0413
BnASSYST-008	Allure	BnASSYST-070	SLM 0512
BnASSYST-009	Agalon	BnASSYST-071	LSF 0519
BnASSYST-010	K615	BnASSYST-072	Beluga
BnASSYST-011	Picasso	BnASSYST-073	Amor
BnASSYST-012	Lord	BnASSYST-074	Ascona
BnASSYST-013	KW3077	BnASSYST-075	Campari
BnASSYST-014	Rodeo	BnASSYST-076	Caramba
BnASSYST-015	Rapid	BnASSYST-077	Duell
BnASSYST-016	Boston	BnASSYST-078	Express 617
BnASSYST-017	Escort	BnASSYST-079	Jessica
BnASSYST-018	Montego	BnASSYST-080	Orlando
BnASSYST-019	Ontario	BnASSYST-081	Pollen

#BnASSYST	AKZESSION	#BnASSYST	AKZESSION
NIEDRIGER ERUCASÄURE- UND GLUCOSINOLATGEHALT (00)			
BnASSYST-020	Pacific	BnASSYST-082	Prince
BnASSYST-021	Savannah	BnASSYST-083	Wotan
BnASSYST-022	Missouri	BnASSYST-084	NK Nemax
BnASSYST-023	Manitoba	BnASSYST-085	NK Passion
BnASSYST-024	Ladoga	BnASSYST-086	Lilian
BnASSYST-025	Atlantic	BnASSYST-087	Barrel
BnASSYST-026	Cooper	BnASSYST-088	KW1519
BnASSYST-027	Licapo	BnASSYST-089	Amber x Commanche DH Line
BnASSYST-028	Capitol	BnASSYST-093	Canberra x Courage DH Line
BnASSYST-029	Idol	BnASSYST-097	Madrigal x Recital DH Line
BnASSYST-031	Bristol	BnASSYST-099	Tapidor DH
BnASSYST-032	Lirajet	BnASSYST-102	Lesira
BnASSYST-033	Lisabeth	BnASSYST-105	Licrown x Express DH Line
BnASSYST-034	Lipid	BnASSYST-106	Shannon x Winner DH Line
BnASSYST-036	Lisek	BnASSYST-113	Samourai
BnASSYST-037	Contact	BnASSYST-120	Darmor
BnASSYST-038	Lion	BnASSYST-123	Falcon
BnASSYST-039	Oase	BnASSYST-124	Mohican
BnASSYST-040	Apex	BnASSYST-125	Flip
BnASSYST-041	Recital	BnASSYST-126	Zenith
BnASSYST-042	Magnum	BnASSYST-127	Phil
BnASSYST-043	Madrigal	BnASSYST-128	Leopard
BnASSYST-044	Laser	BnASSYST-136	Ceres
BnASSYST-045	Fortis	BnASSYST-151	Librador
BnASSYST-046	Smart	BnASSYST-152	Libritta
BnASSYST-047	Roxet	BnASSYST-153	Liglory
BnASSYST-048	NK Bravour	BnASSYST-154	Liporta
BnASSYST-049	NK Fair	BnASSYST-155	Lirafit
BnASSYST-050	Aviso	BnASSYST-181	1012-98
BnASSYST-051	Sansibar	BnASSYST-182	25629-3
BnASSYST-052	SW Gospel	BnASSYST-187	Winfred
BnASSYST-053	Verona	BnASSYST-194	English Giant
BnASSYST-054	Tenor	BnASSYST-196	Michinaku natane
BnASSYST-056	Musette	BnASSYST-207	Chembere Dzagumhana
BnASSYST-057	Kvintett	BnASSYST-214	PI271452
BnASSYST-058	Falstaff	BnASSYST-216	E94197
BnASSYST-059	SW Sinatra	BnASSYST-403	Fortin Family
BnASSYST-060	Viking	BnASSYST-406	Lord Derby
BnASSYST-061	Aragon	BnASSYST-410	Hugenot
BnASSYST-062	Aurum	BnASSYST-417	Aberdeenshire Prize
#BnASSYST	AKZESSION	#BnASSYST	AKZESSION
UNBEKANNTE QUALITÄT			
BnASSYST-191	Binera	BnASSYST-433	Scotia
BnASSYST-218	Groene Groninger Snijmoes	BnASSYST-442	Hollandse Gele Roodkop

Für den Feldversuch zum Einfluss der Stickstoffdüngung auf die Samenproteinqualität wurden von Stahl et al. (2017) 30 verschiedene Elitesorten ausgewählt, welche zwischen den Jahren 1989 und 2014 registriert wurden. Unter den ausgewählten Sorten sind Hybriden und Linien zu finden. Eine Liste aller verwendeten Genotypen ist in Tabelle 4 aufgeführt.

Tabelle 4 Elitesorten, welche im Feldversuch der Stickstoffdüngestufen angebaut wurden, jeweils mit dem Sortennamen und dem Jahr der Sortenzulassung

SORTE	JAHR DER SORTENZULASSUNG
NEUE HYBRIDSORTEN	
Thure (SDH)	2014
Marathon	2013
Mercedes	2013
Avatar	2011
DK Exstorm	2011
Inspiration	2011
Genie	2011
Mascara	2011
Troy (SDH)	2011
Artoga	2010
Sherpa	2010
Compass	2009
NK Linus	2009
Visby	2007
ALTE HYBRIDSORTEN	
Exocet	2005
Taurus	2004
Baldur	2002
Elektra	2002
Ryder	2000
Artus	1997
NEUE LINIENSORTEN	
Patron	2012
Trinity	2012
Adriana	2007
Lorenz	2005
Oase	2004
ALTE LINIENSORTEN	
Pacific	2003
Californium	2002
Aviso	2000
Express	1993
Lirajet	1989

2.1.1 Saatgutproduktion für das Winterrapsdiversitätsset BnASSYST

Die 226 ausgewählten Wintertyp-Akzessionen aus dem BnASSYST-Diversitätsset wurden auf der Lehr- und Forschungsstation der Justus-Liebig- Universität, Gießen in Rauschholzhausen im Ebsdorfergrund (50°45'36,8"N/8°52'49,1"E), angebaut. Die Aussaat fand in randomisierten, nicht replizierten 4,5 m² Parzellen statt. Alle Parzellen wurden über die Vegetationsperiode mit 120kg Stickstoff unter Berücksichtigung von N_{min} gedüngt. Die Gesamtmenge wurde auf zwei Gaben verteilt und zu Vegetationsbeginn Anfang März und kurz vor Blühbeginn Anfang April gegeben. Der Pflanzenschutz wurde mit Molluskuiziden, Herbiziden und Insektiziden nach guter landwirtschaftlicher Praxis durchgeführt. Eine Fungizidbehandlung erfolgte nicht, da im gleichen Set Bonituren hinsichtlich des Phomabefalls erfolgten. Die Saatgutproduktion wurde in den Saisons 2016-17 und 2017-18 durchgeführt. Um die Selbstbestäubung sicherzustellen und Fremdbestäubung auszuschließen, wurden Blütenstände von 5–7 repräsentativen Pflanzen pro Genotyp oder aus der Mitte jeder Parzelle/Genotyp mit einem pollen- und insektenfesten Selbstbestäubungsbeutel abgedeckt, bevor sich die Blüten öffneten.

2.1.2 Saatgutproduktion zur Proteinqualität unter verschiedenen Stickstoffdüngestufen in ausgewählten Winterrapselitesorten der letzten 25 Jahre

Die Daten stammen aus einem Versuch, welcher in Stahl et al. (2017) beschrieben ist. Um die Kohärenz dieser Arbeit zu wahren, werden die Details dieser Studie unten beschrieben. Die Cruciferin- bzw. Napingehalte wurden mit Hilfe der SDS-PAGE Analyse von der Autorin ermittelt. Die Daten zu Ertrag, Ölqualität, Glucosinolat-, Erucasäure- und Proteingehalt wurden freundlicherweise von Stahl et al. (2017) zur Verfügung gestellt. Das Saatgut der Winterrapselitesorten wurde an drei Standorten in Deutschland (Asendorf, Moosburg, Rauschholzhausen) für jeweils zwei Jahre angebaut (2014/2015 und 2015/2016). An jedem Standort wurde jeder Genotyp unter hoher und niedriger Stickstoffdüngung mit drei Replikationsparzellen angebaut. Das Experiment wurde als Split-Block-Design mit Plots aufgebaut. Die für die Analyse verwendeten Samen wurden nur in der Mitte jeder Parzelle geerntet, um unvoreingenommene Ergebnisse zu gewährleisten. Vorkeimversuche zeigten die optimale Aussaatintensität von 50 Pflanzen pro Quadratmeter, welche in allen Jahren konsequent eingehalten wurden. Alle Parzellen wurden gegen Schädlinge und Krankheiten behandelt, um eine Intensivkultur zu simulieren und sicherzustellen, dass die einzige Variation die unterschiedliche Stickstoffdüngung war. Die Gesamtstickstoffdüngung war in den beiden Jahren gleich, lediglich der Zeitpunkt der Düngung änderte sich geringfügig. In beiden Jahren wurde die Erststickstoffdüngung um den bereits nach dem Winter im Boden vorhandenen mineralischen Stickstoffgehalt reduziert. Ziel war es, mit der hohen Stickstoffdüngung eine intensive Pflanzenproduktionsumgebung zu simulieren. Im ersten Jahr wurden zu Beginn der Vegetationsperiode nach dem Winter 120 kg N ha⁻¹ ausgebracht. Eine zweite Gabe von 100 kg N ha⁻¹ erfolgte während der Elongationsphase der Pflanzen. Das gleiche

Düngeschema wurde im zweiten Jahr angewendet. Bei der stickstoffarmen Düngung ging es darum, das Verhalten der Sorten unter reduziertem Stickstoff zu untersuchen. Im ersten Versuchsjahr wurden die Pflanzen in der niedrigen Stickstoffdüngungsstufe im Frühjahr mit 120 kg N ha^{-1} versorgt. Für die Elongationsphase der Pflanzen wurde kein weiterer Stickstoff gegeben. Im zweiten Jahr wurden die 120 kg N ha^{-1} auf zwei Gaben aufgeteilt: 65 kg N ha^{-1} zu Beginn der Vegetationsperiode und 55 kg N ha^{-1} zu Beginn des Elongationsstadiums des Rapses. Alle anderen Düngegaben waren bei den beiden Stickstoffdüngestufen gleich.

2.2 Datenerhebung

2.2.1 Datenerhebung im Winterrapsdiversitätsset BnASSYST

Nach der Ernte der Einzelpflanzen wurden geramschte Samenliquote von allen verfügbaren Selbstungen pro Genotyp hergestellt. Die gepoolten Proben wurden mit NIRS (Unity SpectraStar 2500, Brookfield, USA) gemessen, um ihren Protein-, Öl-, Glucosinolat- und Erucasäuregehalt zu schätzen (Tkachuk 1981). Die genutzte NIRS-Kalibrierung wurde von der VDLUFA (VDLUFA Qualitätssicherung NIRS) bezogen und nutzt den Wellenlängenbereich von 1300-2398 nm. Von jeder Probe wurden gleiche Mengen mit einem Messlöffel in die NIRS-Makroküvetten (10 ml und ca. 5g Samen) gefüllt. Weiterhin wurden die Proben auf ihre Aminosäurezusammensetzung mit Aminosäureanalyse und die Proteinfraktionen Cruciferin und Napin mit SDS-PAGE analysiert.

2.2.1.1 Aminosäureanalyse

2.2.1.1.1 Probenvorbereitung für die Aminosäureanalyse

Die gepoolten Proben wurden mit einer Labormühle (Ika Analysenmühle A11, IKA-Werke, Staufen, Deutschland) auf eine mittlere Korngröße von 0,5 mm fein vermahlen und anschließend mit Petrolether entfettet, bei 70°C für mindestens 12 Stunden getrocknet. Während des Abkühlvorgangs wurden die Proben in einem Exsikkator gelagert, um ein Wiederbefeuchten durch die Luftfeuchtigkeit zu verhindern, bevor die Proben in 125-ml-Purex-Flaschen eingewogen wurden. Die Aminosäureextraktion wurde nach der offiziellen Methode der Europäischen Kommission für die Aminosäureanalyse in Futtermitteln (Kommission der Europäischen Gemeinschaften) durchgeführt. Die folgende Bestimmung der einzelnen Aminosäuren (außer Tryptophan) erfolgte nach Kommission der Europäischen Gemeinschaften. Für die Aminosäureanalyse müssen die Aminosäuren von den Proteinen, in welchen sie gebunden sind, freigesetzt werden. Dieser Prozess geschieht durch die Hydrolyse, welche unter Kochen in halbkonzentrierter Salzsäure stattfindet. Während der Hydrolyse werden Tryptophan, Cystein und Methionin zerstört oder teilweise abgebaut. Um die Cystein- und Methioningehalte trotzdem ermitteln zu können, werden die Proben vor der Hydrolyse bei 0°C mit Perameisensäure zu Methioninsulfon und Cysteinsäure oxidiert. In diesem Oxidationsprozesse werden die Aminosäuren Tyrosin und Histidin zerstört. Für die Aminosäureanalyse in dieser Arbeit wurden nur oxidierte und anschließend hydrolysierte Aminosäureaufschlüsse verwendet, da Vorversuche mit

dem verwendeten Material zufriedenstellende Ergebnisse hinsichtlich der Tyrosin- und Histidingehalte zeigten. Tryptophan wurde nicht gemessen, da es sowohl bei Oxidation als auch Hydrolyse zerstört wird. Die Einwaage wurde für jede Probe einzeln berechnet, um einen Stickstoffgehalt jeder Probe von etwa 10 mg zu gewährleisten, um sicherzustellen, dass die Peaks in der Chromatographie eine geeignete Größe zeigen. Die Aminosäureextraktion wurde in zwei Schritten durchgeführt:

(1) die Oxidation, um Methionin und Cystein als ihre Oxidate zu erhalten, um ihre Zersetzung während der sauren Hydrolyse zu verhindern. Die Oxidation wurde mit 2,5 ml frisch hergestellter Oxidationslösung (5 ml Wasserstoffperoxid (30 %), 45 ml Ameisensäurelösung, 250 mg Phenol) von jeder Probe durchgeführt. Die Ameisensäurelösung (88,9 g Ameisensäure (98 %), 11,1 g deionisiertes Wasser, 0,473 g Phenol), welche Bestandteil der Oxidationslösung ist, wurde vorab hergestellt. Die Oxidation wurde für 23 Stunden bei 0°C auf Eis in einer Kühlkammer (4°C) durchgeführt und mit 0,45 g Natriumdisulfat je Probe beendet.

(2) Für die sauren Hydrolysen wurden 25 mL Hydrolysemischung (492 mL Salzsäure (37%), 1 g Phenol und Wasser auf 1 L aufgefüllt) auf die Proben aufgetragen und für 24 Stunden in einen Trockenschrank bei 110°C belassen. Nach der Hydrolyse wurden die Flaschen mit der Probenflüssigkeit abgekühlt und mit Hilfe von 20 mL Citratpuffer (19,61 g Tri-Natriumcitrat-Dihydrat, 5 mL Thiodiglykol, 1 g Phenol, 16,5 mL Salzsäure (37%ig); pH = 2,2) quantitativ in ein Becherglas überführt und mit Wasser auf ein Volumen von 1 L gebracht. Danach wurde jeder Probe 20 mL Natronlauge (7,5 M) zugesetzt, bevor der pH-Wert auf 2,2 eingestellt wurde. Die Aufschlüsse wurden quantitativ in Messkolben überführt und mit 0,5 mL des internen Standards Norleucin (40 mM) versetzt, bevor das Volumen mit Citratpuffer bis zur 100 mL Eichmarke aufgefüllt wurde. Anschließend wurden Proben filtriert und der pH-Wert ein zweites Mal auf 2,2 eingestellt. Bis zur eigentlichen chromatographischen Analyse der Aminosäuren wurden die Proben bei -20°C eingefroren und aufbewahrt. Vor der Analyse der Proben im Aminosäureanalysator (Eppendorf Biotronic 3000, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) wurden sie mit einem 0,45-µm-Spritzenfilter filtriert.

2.2.1.1.2 Aminosäurenanalyse im Aminosäureanalysator

Mit einer PEEK-Säule und Ninhydrin-Reagenz, das eine Nachsäulenderivatisierung ermöglichte, wurden die Proben photometrisch vermessen. Um eine korrekte Messung der Aminosäuremuster sicherzustellen, war jede 10. analysierte Probe ein Standard (A2908, Sigma Aldrich Chemie GmbH, Schnelldorf, Deutschland).

2.2.1.2 Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis – SDS-PAGE

SDS-Page wurde verwendet, um die Cruciferin- und Napin-Gehalte in den Proben des Stickstoffdüngungsversuchs zu analysieren. Im Wesentlichen wurde die Probenvorbereitung und SDS-PAGE nach der Studie von Schatzki et al. (2014) mit einigen Änderungen durchgeführt. Zur Vorbereitung der Analyse wurden die Wiederholungen für die biologischen Wiederholungen eines

Genotyps, des gleichen Standortes, Jahres und des Genotypes gepooled. 2 g jeden Aliquots wurden mit einer elektronischen Kaffeemühle (KRUPS Typ 203B, KRUPS GmbH, Solingen, Deutschland) gemahlen. Zwischen den Proben wurde die Mühle mit Druckluft und Ethanol (96 %) gereinigt. Anschließend wurde von jeder Probe 500 mg mit Petrolether entfettet und 24 Stunden bei 40°C getrocknet. Vor der Herstellung des Proteinkonzentrats wurden die Proben erneut mindestens 12 Stunden lang bei 75°C getrocknet, um sicherzustellen, dass diese eine Feuchte von 0 % besitzen. 100 mg entfettete und getrocknete Probe wurden in 1,5-mL Röhrchen eingewogen und mit 1 mL 1 M Natriumchloridlösung versetzt. Anschließend erfolgte die Inkubation der Proben für 3 Minuten bei 1000 U/min und 30°C in einem Thermomixer (Eppendorf Thermomixer comfort 1,5 mL, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland). Zwei Minuten in einem Ultraschallbad (Bandelin Sonorex Super RK 514BH, BANDELIN electronic GmbH & Co. KG, Berlin, Deutschland) bei 30°C halfen dabei, das Protein aus dem Schrot in die Lösung freizusetzen. Um das Schrot von dem Protein zu trennen, wurde die Mischung bei 4°C und 14.000 G zweimal für zehn Minuten zentrifugiert (Heraeus, Biofuge primo R, Heraeus, Hanau, Deutschland). Nach dem ersten Zentrifugieren wurden 500 µL Überstand vorsichtig in ein neues 1,5-mL-Röhrchen überführt. Beim zweiten Mal wurden 400 µL in ein neues 1,5-mL-Röhrchen überführt. Die erhaltene Proteinlösung wurde bei -20°C gelagert. Für die SDS-PAGE Analyse wurden alle Proben im Verhältnis 1:1 mit Laemmli Sample Buffer (4.05 mL deionisiertes Wasser, 1.25 mL 1M Tris HCL, pH 6.8, 2.0 mL Glycerol, 2.0 mL 20 % (w/v) SDS, 0,2 mL 0,5 % (w/v) Bromphenolblau, 5 % (v/w) β-Mercaptoethanol) in einem neuen 500-µL-Röhrchen vermischt. Anschließend wurden alle Proben im Thermomixer (Eppendorf Thermomixer comfort 1,5 mL, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) bei 95°C für 4 Minuten bei 1.000 U/min gekocht. Danach wurden die Proben bei -20°C eingefroren, um chemische Veränderungen der Probe zu verhindern bis das jeweilige Gel beladen wurde. Nach dem Auftauen wurden die Proben vor dem Beladen des Gels bei 20.800 G für 5 Minuten zentrifugiert. Die ersten drei Geltaschen wurden mit dem molekularen Gewichtsmarker, Cruciferin- ($4\mu\text{g}\ \mu\text{L}^{-1}$) und Napin- ($1\ \mu\text{g}\ \mu\text{L}^{-1}$) Standards gefüllt. Die Standards wurden mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) (20 mM) hergestellt. Vor der Gelbeladung wurden sie ebenfalls in Verhältnis 1:1 mit Laemmli-Probenpuffer gemischt. Die Standards wurden von der antikoerper-online GmbH Aachen als gereinigtes Raps-Cruciferin und Napin-Pulver zu je 1 g bezogen. Für die SDS-PAGE wurde das von Mini-PROTEAN Tetra Cell System (Bio-Rad, Kalifornien, USA) und vorgefertigte TGX-SDS-Page-Gele mit 4-15 % Gradient (Bio-Rad, Kalifornien, USA) verwendet. Innerhalb eines Laufs wurden vier Gele in die Gelkassette eingebaut, die mit einem Laemmli-Puffersystem gefüllt war (30,3 g Tris-Base, 144,0 g Glycin, 10,0 g SDS, mit deionisiertem Wasser auf 1 L Volumen bringen; 1:10 verdünnt für Laufpuffer). Jedes Gel enthielt 15 Geltaschen, die mit dem Molekulargewichtsmarker (SDS Page Standard Low Range, Bio-Rad), den Cruciferin- und Napin-Standards und vier Proben in drei technischen Wiederholungen gefüllt waren. Die Elektrophorese wurde 140 Minuten lang bei 60 V durchgeführt.

Anschließend wurden die Gele 30 Minuten lang in einem Coomassie-Blau-Färbelösungsbad gefärbt (0,04 % Coomassie-Blau R250, 40 % (v/v) Ethanol (96 %), 10 % (v/v) Essigsäure). Vor dem 40-minütigen Entfärben (20 % (v/v) Ethanol, 10 % (v/v) Essigsäure) wurden die Gele zweimal in entionisiertem Wasser gewaschen. Anschließend wurden die Gele noch einmal in deionisiertem Wasser gewaschen und über Nacht in eine verdünnte Entfärbungslösung (1:1 mit deionisiertem Wasser) gegeben, um überschüssige Färbung der Gele zu entfernen. Um die Gele mit Software auszuwerten, wurden sie mit dem DryEase® Mini-Gel-Trocknungssystem (Life Technologies, Kalifornien) getrocknet. Nach dem Entfärben über Nacht wurden die Gele dreimal auf einem Rotationsschüttler (Heidolph Instruments UNIMAX 2010, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland) bei 80 U/min mit entionisiertem Wasser für jeweils zwei Minuten gewaschen. Anschließend wurden die Gele weitere 15 Minuten auf dem Rotationsschüttler in der Trocknungslösung (30 % (v/v) Methanol, 5 % (v/v) Glycin, 65 % (v/v) deionisiertes Wasser) geschwenkt. Um eine gleichmäßige Trocknung zu erreichen, wurden die Gele zwischen mit Trocknungslösung getränkten Cellophan Folien in einen Rahmen geklemmt und für etwa 5–6 Stunden in eine horizontale Position gebracht. Trockengele wurden gescannt (800 ppi, HP Scanjet 200, HP Deutschland GmbH, Böblingen, Deutschland) und mit der Software „Gel Analyser“ (von Istvan Lazar und Dr. Istvan Lazar) analysiert. Für die weitere Datenanalyse wurde das Rohvolumen verwendet, welches unter Verwendung der definierten Konzentrationen und des Rohvolumens der Standards Cruciferin und Napin in $[\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}]$ umgerechnet wurde. Alle Werte wurden um einen gemeinsamen Faktor korrigiert, welcher aus den Gelstandards abgeleitet wurde.

2.2.2 Datenerhebung zur Proteinqualität unter verschiedenen Stickstoffdüngestufen in ausgewählten Winterrapselitesorten der letzten 25 Jahren

Der Samenproteingehalt, Ölgehalt und Glucosinolatgehalt wurde mittels NIRS (Unity SpectraStar 2500, Brookfield, USA) und einer geeigneten Kalibrierung für Raps (VDLUFA, Qualitätssicherung NIRS) gemessen. Die Proteinqualität, Cruciferin- bzw. Napingehalte wurden durch Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) gemessen. Eine detaillierte Beschreibung der SDS-PAGE ist in Abschnitt 2.2.1.2 zu finden.

2.3 Datenauswertung und Datenanalyse

2.3.1 Erstellung der NIRS-Kalibration für die Aminosäuregruppen essentielle-, semi-essentielle und nicht-essentielle Aminosäuren

Für die NIRS-Kalibrierung wurden ausgewählte Genotypen (n=92) aus den BnASSYST Genotypen aufgrund ihrer breiten phänotypischen Streuung ausgewählt und im Spektrum zwischen 680–1900 nm analysiert. Die Kalibrierung wurde unter Verwendung des Verfahrens der modifizierten partiellen Regression der kleinsten Quadrate (MPLS) erstellt, welches die spektralen und die phänotypischen Daten aus der Aminosäureanalyse verknüpft. Die Kalibrierungsgleichung wurde mit transformierten optischen Rohdaten unter Verwendung der Standardnormalvariate (SNV) erstellt. Zusätzlich wurden

verschiedene Ableitungen und Glättungsschritte, wie von Barnes et al. (1989) vorgeschlagen, angewendet. Verschiedene mathematische Behandlungen, wie sie von Shen, J. S., M. O. Westerhaus (1996) beschrieben wurden, halfen, die Kalibrierung zu verbessern: derivate order = 2, segment of derivatives (gap) = 4, first smooth = 4, second smooth = 2. Chemische (T) und spektrale (H) Ausreißer wurden mittels Kreuzvalidierung und Hauptkomponentenanalyse (PCA) bestimmt. Die chemischen Ausreißer (T), also Proben mit großen Residuen und einem T-Wert $> 2,5$, zeigen vergleichsweise eine höhere Differenz zwischen dem Referenzwert und den Spektraldaten als andere Beziehungen in der Grundgesamtheit. Spektrale Ausreißer (H) wurden mit Hilfe einer PCA-Berechnung identifiziert und mit einem H-Wert von > 3 der Mahalanobis-Distanz definiert. Diese Ausreißer wurden aus dem Kalibrierungsprozess ausgeschlossen. Die Qualität der Kalibrierung wurde anhand des Variationskoeffizienten (R^2) überprüft. Darüber hinaus wurde die RPD (Bestimmtheitskoeffizient) verwendet, die dem Verhältnis der Standardabweichung (SD) von Validierungsproben zum Standardfehler der Vorhersage (SECV) entspricht. Um den Kalibrierfehler mit der Referenzmethode vergleichbar zu machen, wurde das Verhältnis des Standardvorhersagefehlers (SEP) und dem Standardfehler des Labors (SEL) berechnet. Aus mehr als 200 Aminosäureproben wurden $N=93$ Proben für die NIRS-Kalibrierung ausgewählt, welche einen reduzierten Variationskoeffizienten aufwiesen. Eine Datei mit den Spektraldaten aller 93 Proben wurde mit der NIRS-Software WinISI II v.1.5 (Infrasoft International, LLC, Port Matilda, PA) erstellt. Zusätzlich wurden die phänotypischen Daten für jede Probe manuell eingegeben. In einem vorherigen Versuch, alle phänotypischen Daten zu verwenden, wurde eine Kalibrierung mit einzelnen Aminosäuren erstellt. Die Validierung dieser Kalibrierung zeigte aufgrund der hohen Variabilität einzelner Aminosäuregehalte zwischen den gemessenen Genotypen und geringen Gehalten an tatsächlichen Aminosäuren keine ausreichend hohen Werte. Dies führte zur Entscheidung, nur die ausgewählte Anzahl von Genotypen zu verwenden. Außerdem wurde beschlossen, die Kalibrierung für Aminosäuregruppen anstatt für einzelne Aminosäuren zu erstellen. Auf diese Weise wird der Fehler durch die niedrigen Gehalte im Zusammenhang mit dem Hintergrundrauschen der Messungen der einzelnen Aminosäuren reduziert. Diese definierten Gruppen sind essentielle Aminosäuren, semi-essentielle Aminosäuren und nicht-essentielle Aminosäuren. Zur Bildung der Gruppenwerte wurden die jeweiligen Aminosäuren summiert. Eine Übersicht, welche Aminosäure in welche Gruppe eingeordnet wurde, findet sich in Tabelle 5. Obwohl Taurin keine Aminosäure, sondern eine Schwefelsäure ist, wurde es in die Gruppe der semi-essentielle Aminosäuren aufgenommen, da mehrere medizinische Artikel seine Bedeutung für den menschlichen Organismus dokumentierten (Ripps and Shen 2012; Schaffer et al. 2014).

Tabelle 5 Einordnung der Aminosäuren in die Gruppen essentielle, semi-essentielle und nicht-essentielle Aminosäuren

EAA	SEA	NEA
Methionin	Cystin	Asparaginsäure
Threonin	Taurin	Serin
Valin	Prolin	Glutamin
Isoleucin	Glycin	Alanin
Leucin	Tyrosin	
Phenylalanin	Arginin	
Histidin		
Lysin		

2.3.2 Datenanalyse der Aminosäurenanalyse

2.3.2.1 Deskriptive Statistik und Heritabilität

Für die Datenanalyse wurde R (Version 3.5.1) verwendet, um die adjustierten Mittelwerte, ANOVA, Scatterplots, Boxplots und Heritabilität sowie die deskriptive Statistik zu berechnen. In Microsoft Office Excel 2010 wurde Students-t-Test durchgeführt sowie die Berechnung des Pearsons Korrelationskoeffizienten für die Streudiagramme. Für die ANOVA wurde eine einseitige Varianzanalyse berechnet, wobei der Genotyp als fester Faktor und das Jahr und die Wiederholungen als variable Faktoren definiert wurden. Die verwendete Formel für die Heritabilität ist die Heritabilität im weiteren Sinne, welche definiert ist als

$$H^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_p^2} \quad \text{mit der phänotypischen Varianz definiert als}$$

$$\sigma_p^2 = \sigma_g^2 + \frac{\sigma_{ge}^2}{m} + \frac{\sigma^2}{rm^2}$$

H^2 steht für die Heritabilität, σ_g^2 ist die genotypische Varianz und σ_p^2 die phenotypische Varianz. σ_{ge}^2 misst die Varianz der Genotyp-Umwelt-Interaktion, σ^2 ist die Varianz des Restfehlers, m steht für die Anzahl der Versuche oder wie in dem Fall dieser Studie für die verschiedenen Umwelten, r für die Wiederholungen eines jedes Versuches (Falconer and Mackay 1996; Piepho and Möhring 2007).

2.3.2.2 SNP Genotypisierung der ERANET BnASSYST Winterrapsakzessionen

Die SNP Genotypisierungsdaten des ERANET BnASSYST Sets wurden mit Hilfe des *Brassica* 60K Illumina SNP Array erhoben. Dabei wurden die Analysen nach Mason et al. (2017) und Clarke et al. (2016) in der Professur für Pflanzenzüchtung durchgeführt und der Autorin für die Assoziationsstudie zur Verfügung gestellt.

2.3.2.3 Assoziationsstudie

Die genomweite Assoziationsanalyse (GWAS) sowie die Suche nach Haplotypblöcken wurde mit R (Version 3.3.3) durchgeführt. Für die GWAS wurden die R Pakete GenABEL (Aulchenko et al. 2007) und SelectionTools (<http://population-genetics.uni-giessen.de/~software/>) verwendet. Für die Berechnung der GWAS wurde eine Hauptkomponentenanalyse (5 Hauptkomponenten) mit einer Kinship Matrix kombiniert (PK-Modell). Dieser Ansatz ermöglichte es, die sehr unterschiedliche Populationsstruktur innerhalb des Diversitätssets zu korrigieren und falsch-positive Ergebnisse zu vermeiden. Versuchsweise wurde auch ein gemischt-lineares Modell verwendet. Der Lambda-Wert im gemischt-linearen Modell war vergleichsweise höher als im PK-Modell, womit die Entscheidung für das PK-Modell ausfiel. Die Berechnung der GWAS wurden mit SNP-Markern und in 212 Akzessionen des Winterrapsdiversitätssets durchgeführt, welche mit dem 60 K Infinium Illumina SNP-Chip für *Brassica napus* genotypisiert wurden. Die minor allele frequency wurde auf 5 % oder höher festgelegt. Außerdem wurde die Rate fehlender Daten auf 10 % oder weniger eingestellt. Nach dem Filtern blieben 192 Akzessionen und 25.326 Marker übrig, um die GWAS durchzuführen. Für alle Merkmale lag die false discovery rate mit der berechneten Bonferroni-Anpassung bei 5,79. Dies bedeutet, dass signifikante SNP-Marker bei einem $-\log_{10}$ (p-Wert) von über 5,79 liegen müssen. Bei vielen Veröffentlichungen (Schaffasz et al. 2019; Akram et al. 2021) werden Marker ab einem Wert $3 < -\log_{10}$ (p-Wert) berücksichtigt. Aus diesem Grund wurde dies hier ebenfalls getan.

Um einen ausreichend großen Datensatz für die GWAS- und Haploblock-Schätzung zu erhalten, wurde die etablierte NIRS-Kalibrierung verwendet, um die Aminosäuregehalte (EAA, SEA, NEA) aus den gemessenen Spektraldaten der verbleibenden ERANET BnASSYST-Genotypen zu schätzen, die nicht an der Kalibrierung beteiligt waren. Die technischen Details der NIRS-Kalibration für die Schätzung der Aminosäuregruppen Gehalte sind unter 2.1.3.3 beschrieben.

2.3.2.4 Haplotyp-Blöcke

Die Haplotyp-Blöcke in der vorliegenden Studie sind definiert als SNP-Blöcke, welche aus mindestens zwei SNPs bestehen und ein Gametenphasenungleichgewicht (LD) von $>0,8$ aufweisen. Dabei sind die SNPs weiterhin Marker, welche in der GWAS >3 ($-\log_{10}$ (p-Wert)) aufwiesen.

2.3.2.5 Kandidatengene

Die Suche nach den Kandidatengenem erfolgte 4 Mbp um den gefundenen SNP-Marker bzw. den Haploblock aus der Assoziationsstudie. In dem festgelegten Intervall wurden in Gen Annotationen nach Genen, welche mit dem jeweiligen Merkmal zusammenhängen gesucht. Die Genannotationen sind ein institutsinternes Dokument, bei welchem auf dem *Brassica napus* Referenzgenom *Damor-bzh* 4.1 (Chalhoub et al. 2014) Genannotationen und GO-Terms mit Hilfe von Blast2GO verankert wurden (*pers. Kommunikation* von Brigit Samans). Die GO-Term Analyse wurde von Brigit Samans und Kidist Kibret durchgeführt. Um das ausgewählte Gen als Kandidatengen aufzunehmen wurde das

Gametenphasenungleichgewicht (LD) zwischen dem Gen (mit Hilfe eines Proxy Markers in bzw. Nahe des Gens) und dem SNP Markes aus der Assoziationsstudie bestimmt. Liegt dieser bei $LD < 0.3$, wurde das ausgewählte Gen als potentielles Kandidatengen aufgenommen.

2.3.3 Datenauswertung zur Proteinqualität unter verschiedenen Stickstoffdüngestufen in ausgewählten Winterrapselitesorten der letzten 25 Jahren

Die statistische Auswertung und die Varianzanalyse erfolgte in R (Version 3.5.1) mit psych (Revelle 2022), lmerTest (Kuznetsova et al. 2017), lme4 (Bates et al. 2015), lsmeans (Lenth 2016) und multcomp (Hothorn et al. 2008). Die Punktwolken, Häufigkeitsverteilungen und die Boxplots wurden mit dem Paket ggplot2 (Wickham 2016) in R erstellt. Die Korrelationsmatrix mit den Paketen agricolae (Mendiburu 2010) und hmsic (Harrell Jr., F., and Dupont, Ch. 2019). Der Student's T-Test wurde in Microsoft Excel 2019 errechnet.

3. Ergebnisse

3.1 Die Proteinqualität und ihre Genetik im Winterrapsdiversitätsset ERANET BnASSYST

Die Proteinqualität wurde mit Hilfe von SDS-PAGE für die Proteinfractionen und Aminosäureanalyse mit Oxidation und Säurehydrolyse für die Aminosäuren bestimmt. Der erste Teil der Ergebnisse zeigt die Ergebnisse der Proteinfractionen Cruciferin, Napin und des Cruciferin:Napin-Verhältnisses. Der zweite Teil zeigt die Ergebnisse der chemischen Referenzanalyse von Aminosäuren. Diese werden im Abschnitt der deskriptiven Statistik gezeigt, da sie zur Erstellung und Etablierung der NIRS-Kalibrierung verwendet wurden. Anschließend wurde die NIRS-Kalibrierung verwendet, um die verbleibenden Daten von essentiellen Aminosäuren (EAA), semi-essentiellen Aminosäuren (SEA) und nicht-essentiellen Aminosäuren (NEA) für die Jahre 2017 und 2018 zu schätzen. Im Folgenden wurden diese geschätzten Daten verwendet, um eine genomweite Assoziationsstudie zu berechnen und so Wissen über die relevanten genetischen Regionen für die EAA, SEA und NEA in Raps zu generieren.

3.1.1 Proteinfractionen Cruciferin, Napin und das Cruciferin:Napin Verhältnis im Winterraps Diversitätsset

Das durchschnittliche Cruciferin:Napin-Verhältnis von 1,5 zeigt, dass die durchschnittliche Verteilung von Cruciferin und Napin 3:1 beträgt. Das Maximum liegt bei 3,8, das Minimum bei 0,36. Ähnlich wie beim Cruciferingehalt ist der Wert für die Heritabilität des Napingehalts und des Cruciferin:Napin-Verhältnisses sehr gering (Napin: 0,01; Cruciferin:Napin: 0,02). Die deskriptive Statistik, für die Merkmale Cruciferin, Napin und CNR sind in Tabelle 6 dargestellt. Die Histogramme in Abbildung 5 zeigen die Verteilung der Proteinfractionen und des Cruciferin:Napin-Verhältnisses innerhalb des Winterraps Diversitätssets. Der Student's t-Test zeigte hochsignifikante Unterschiede der Mittelwerte für den Cruciferin- und den Napin-Gehalt. Es wurde eine schwache Korrelation ($r = 0,296$) zwischen dem Cruciferin- und dem Napin-Gehalt gemessen (Abbildung 6). Während der Analyse fielen 33 Akzessionen auf, welche absolut einen höheren Napin- als Cruciferin-Gehalt aufweisen. Ein genauerer Blick auf ihre Ölqualität zeigt, dass 10 von ihnen eine 00-Qualität, 17 eine ++-Qualität und 7 eine 0+-Qualität zeigen (Tabelle 7). Damit zeigt sich, dass das verwendete Winterraps Diversitätsset hohe phänotypische Variabilität mit signifikanten Unterschieden innerhalb des Napin-Gehalts aufweist. Es konnten ebenfalls Genotypen mit einem höheren Gehalt an Napin als Cruciferin in der 00-Qualitätsgruppe ausgemacht werden. Aufgrund der extrem niedrigen Werte für die Heritabilität, wird von einem großen Umwelteinfluss auf die Merkmalsausprägung ausgegangen.

Tabelle 6 Deskriptive Statistik für die Merkmale Cruciferin, Napin und Cruciferin:Napin Verhältnis mit Ergebnissen der Varianzanalyse (Genotyp) und die Heritabilität (H^2); $N=218$, Daten aus zwei Jahren (2017, 2018) und einem Ort (Rauschholzhausen); Signifikanz: ***=0, **=0,001, *=0,01, .=0,05

Merkmal	N	Min	Max	Mittel	CoV	Genotyp	H^2
Cruciferin [$\mu\text{g}/\mu\text{L}$]	218	0,606	4,373	1,844	0,344	-	0,00
Napin [$\mu\text{g}/\mu\text{L}$]	218	0,281	2,324	1,339	0,304	**	0,01
Cruciferin:Napin	218	0,257	3,829	1,502	0,392	.	0,02

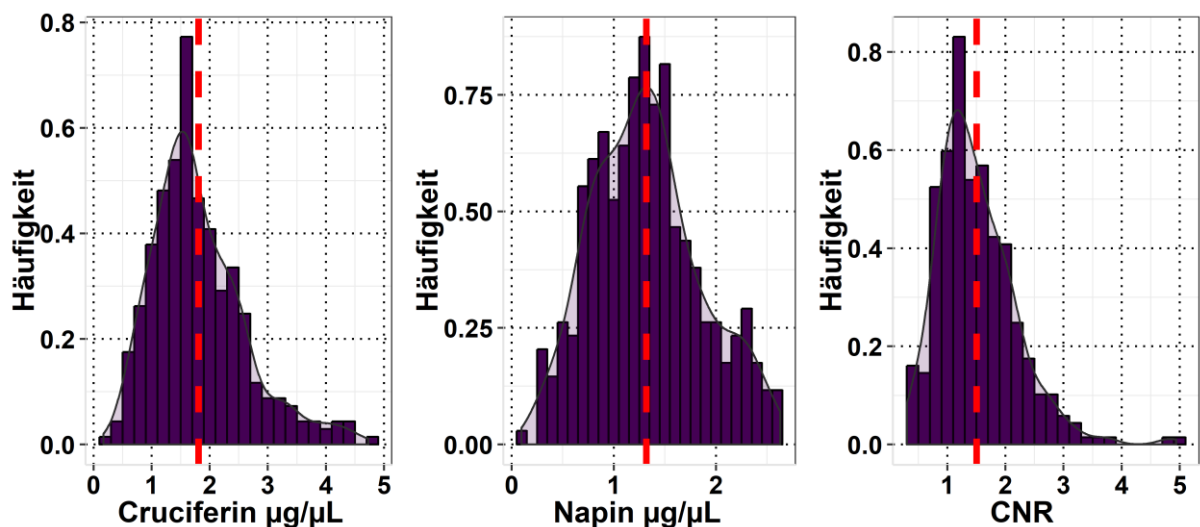


Abbildung 5 Histogramme für die Merkmale Cruciferin, Napin und CNR, berechnet aus dem Winterraps Diversitätsset ERANET BnASSYST für die Jahre 2017 und 2018, auf dem Standort Rauschholzhausen; $N=218$

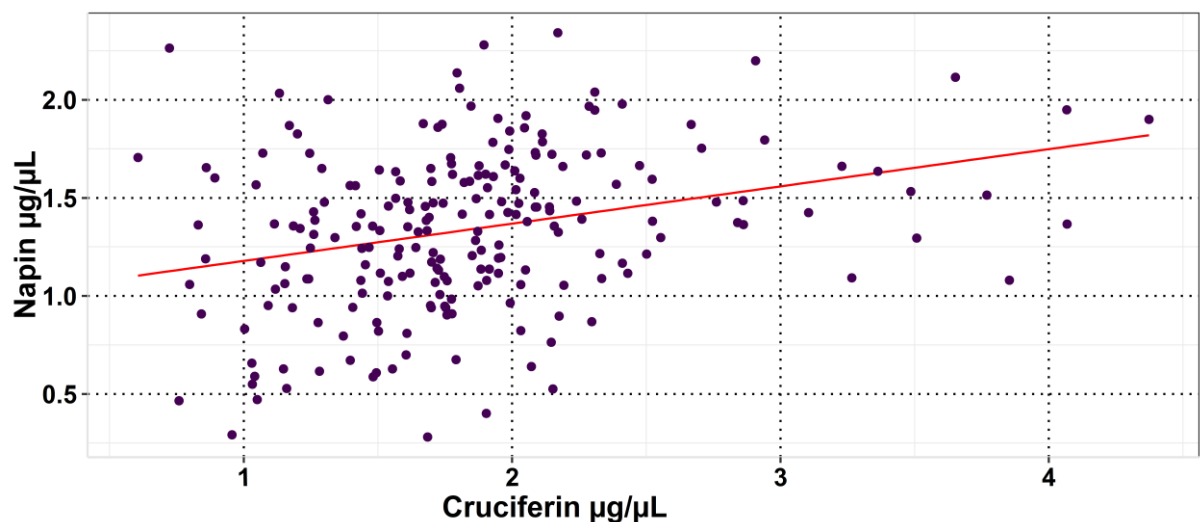


Abbildung 6 Streudiagramm für die Merkmale Cruciferin und Napin [$\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$] aus dem Winterrapsdiversitätsset ERANET BnASSYST aus zwei Jahren (2017, 2018) und einem Standort (Rauschholzhausen), $N=218$; Pearsons Korrelationskoeffizient $r=0,296$

Tabelle 7 Winterraps Akzessionen aus dem ERANET BnASSYST Diversitätsset, welche ein Cruciferin:Napin-Verhältnis <1 aufweisen und ihre Qualität (00= niedriger Erucasäure- und Glucosinolatgehalt, 0+=niedriger Erucasäure- und hoher Glucosinolatgehalt, ++= hoher Erucasäure und Glucosinolatgehalt); N=33

# BnASSYST	AKZESSION	CRUCIFERIN:NAPIN
GERINGER ERUCASÄURE UND GLUCOSINOLATGEHALT (00)		
BnASSYST-001	Alesi	0.75
BnASSYST-014	Rodeo	0.78
BnASSYST-028	Capitol	0.42
BnASSYST-036	Lisek	0.90
BnASSYST-085	NK Passion	0.94
BnASSYST-097	Madrigal x Recital DH Line	0.77
BnASSYST-154	Liporta	0.81
BnASSYST-155	Lirafit	0.90
BnASSYST-181	1012-98	0.95
BnASSYST-113	Samourai	0.96
GERINGER ERUCASÄURE- UND HOHER GLUCOSINOLATGEHALT (0+)		
BnASSYST-101	Eurol	0.90
BnASSYST-132	Anja	0.58
BnASSYST-140	Doral	0.79
BnASSYST-156	Lirakotta	0.60
BnASSYST-217	Evvin	0.90
BnASSYST-414	Sensation NZ	0.98
BnASSYST-195	Liragrün	0.53
HOHER ERUCASÄURE UND GLUCOSINOLATGEHALT (++)		
BnASSYST-200	Samo	0.96
BnASSYST-419	Angus	0.43
BnASSYST-426	Drummonds Purple Top	0.99
BnASSYST-430	Parkside	0.65
BnASSYST-437	Tipperary (Magnificent)	0.74
BnASSYST-447	Rotabaggeue	0.49
BnASSYST-096	Hansen x Gaspard DH Line	0.98
BnASSYST-108	Lembkes Malchower (Lenora)	0.67
BnASSYST-112	Mansholt	0.36
BnASSYST-190	Aphid Resistant Rape	0.97
BnASSYST-198	Palu	0.75
BnASSYST-413	Pike	0.76
BnASSYST-421	Bangholm PT	0.88
BnASSYST-178	Vinnickij 15/59	0.99
BnASSYST-186	Moana, Moana Rape	0.89
BnASSYST-213	Abukuma Natane	0.86
BnASSYST-450	Dalo Trifolium	0.77

3.1.2 Aminosäuremuster und Aminosäuregehalte im Winterraps Diversitätsset

Die deskriptive Statistik der Referenzanalytik der Aminosäuren und die Summen der EAA, NEA und SEA sind in Tabelle 8 dargestellt. Aufgrund der kostenintensiven Analyse der Aminosäuren wurde die nasschemische Analyse auf 187 Akzessionen aus dem Winterrapsdiversitätsset beschränkt. Die ANOVA zeigte, dass alle gemessenen Aminosäuren signifikante Unterschiede zwischen den Genotypen innerhalb des Diversitätspanels aufweisen. Die Heritabilität für die meisten Aminosäuren ist extrem gering, mit Ausnahme von Cystein ($h^2 = 0,35$) und Histidin ($h^2 = 0,25$). Die höchsten absolut gemessenen Aminosäurewerte wurden bei Glutaminsäure festgestellt. Der niedrigste Aminosäuregehalt wurde für Cystein gemessen. Die schwefelhaltigen Aminosäuren Cystein und Methionin weisen Gehalte zwischen 4,51-15,35 g kg⁻¹ eRS (Cys) und 5,27- 9,60 g kg⁻¹ eRS (Met) auf. Für Lysin, eine semi-essentielle Aminosäure im Samen, wurden Werte zwischen 16,06 und 25,74 g kg⁻¹ eRS gemessen. Bei den Aminosäuregruppen zeigen die EAA die höchsten Werte für das Minimum (94,07 g kg⁻¹ eRS), das Maximum (160,41 g kg⁻¹ eRS) und den Mittelwert (123,12 g kg⁻¹ eRS). Gefolgt vom Gehalt an NEA (Minimum: 84,55 g kg⁻¹ eRS, maximal 150,72 g kg⁻¹ eRS, Mittelwert 118,07 g kg⁻¹ eRS). Die SEA ist die Gruppe mit dem niedrigsten Aminosäuregehalt innerhalb der gemessenen Akzessionen (mindestens 60,7 g kg⁻¹ eRS, maximal 105,59 g kg⁻¹ eRS, Mittelwert 82,55 g kg⁻¹ eRS). Die Häufigkeitsverteilungen in Abbildung 10 zeigen die Verteilung der Gehalte der Aminosäuregruppen EAA, SEA und NEA. Wie bereits erwähnt, ist der durchschnittliche Anteil der EAA und der NEA innerhalb der gemessenen Genotypen höher als der der SEA. Glutaminsäure ist die am häufigsten vorkommende Aminosäure in den analysierten Akzessionen. Dies ist der Grund für die ähnlichen Mengen an NEA im Vergleich zu EAA, obwohl die EAA acht Aminosäuren und die NEA vier Aminosäuren umfassen. Der niedrigste Aminosäuregehalt wurde für die schwefelhaltigen Aminosäuren Cystein und Methionin sowie für Taurin, eine Sulfonsäure, gemessen. Die Verteilung der einzelnen Aminosäuren und der Aminosäuregruppen sind in den folgenden Histogrammen dargestellt (Abbildungen 7-9). In der Gruppe der essentiellen Aminosäuren liegt das höchste Mittel bei 24,77 g kg⁻¹eRS (Leucin) und das geringste bei 7,32 g kg⁻¹eRS (Methionin). Bei den semi-essentiellen Aminosäuren wurden die höchsten mittleren Werte bei Prolin (22,91 g kg⁻¹eRS) und die niedrigsten bei Taurin (2,13 g kg⁻¹eRS) ermittelt. Bei den nichtessentiellen Aminosäuren zeigt Glutaminsäure die höchsten mittleren Werte (63,37 g kg⁻¹eRS), womit Glutaminsäure die Spitzenposition einnimmt. Die niedrigsten Aminosäuregehalte in der Gruppe der nicht-essentiellen Aminosäuren zeigt Alanin (13,2 g kg⁻¹eRS). Über allen Gruppen hinweg zeigt Taurin die niedrigsten Gehalte. Gemein haben alle der hier gezeigten Aminosäuren, dass sie variable Gehalte zeigen. Dies deutet auf eine hohe genetische Diversität innerhalb des Winterrapsdiversitätssets hin. Diese genetische Vielfalt ist Grundlage für die Verbesserung der Proteinqualität im weiteren Züchtungsprozess.

Für den Züchtungsprozess sind die Korrelationen zwischen EAA, SEA und NEA von großem Interesse (Abbildung 11). Erfreulicherweise zeigen die Daten hier eine starke positive Korrelation. Die Beziehung zwischen NEA und EAA zeigt einen r-Wert von 0,94, für SEA und NEA ist $r = 0,93$ und die Korrelation zwischen EAA und SEA beträgt $r = 0,9$. Die starke positive Korrelation zwischen EAA, SEA und NEA bietet die Möglichkeit, sich auf die Züchtung für eine Aminosäuregruppe zu konzentrieren, ohne das Risiko einzugehen, eine andere Aminosäuregruppe zu reduzieren. Die einzelnen Aminosäuren zeigen negative Korrelationen zwischen Cystein und Taurin ($r = -0,05$), Serin und Histidin ($r = -0,24$) und Taurin und Threonin ($r = -0,04$). Diese Befunde bedeuten eine Reduktion einer Aminosäure, während die negativ korrelierte Aminosäure in der entsprechenden Menge zunimmt. Aufgrund der kleinen r-Werte zwischen Cystein und Taurin sowie Taurin und Threonin sind diese negativen Korrelationen vernachlässigbar. Die Korrelation zwischen Serin und Histidin hat einen höheren Wert und daher einen stärkeren Effekt. Da Cystein jedoch nicht zur EAA zählt, sind die negativen Auswirkungen gering. Die verbleibenden signifikanten ($p = 0,01$) Korrelationen sind positiv. Um den Nährwert des Rapsproteins steigern zu können, sind die essentiellen Aminosäuren von großer Bedeutung. Es konnte gezeigt werden, dass Valin, Isoleucin, Leucin, Phenylalanin, Methionin, Threonin und Lysin stark positiv korreliert sind (Abbildung 11). Die unbedeutenden Ausnahmen sind Methionin und Valin, Threonin und Valin, Threonin und Isoleucin sowie Threonin und Histidin. Weiterhin wurden zehn 00-Qualitätsakzessionen, welche ein Cruciferin:Napin-Verhältnis unter eins aufweisen, im Hinblick auf ihre Aminosäurezusammensetzung untersucht (siehe Tabelle 9). Ein Cruciferin:Napin-Verhältnis unter eins ist günstig, weil Napin eine höhere ernährungsphysiologische Qualität aufweist als Cruciferin. Fünf dieser Genotypen wurden in der Referenzanalytik auf ihre Aminosäurezusammensetzung untersucht (Tabelle 9). Bezüglich ihrer Proteinqualität konnten wir ähnliche Ergebnisse feststellen: Die EAA-, SEA- und NEA-Gehalte der vier Genotypen (Lirafit, Liporta, Samourai, 1012-98) unterscheiden sich nicht signifikant. Innerhalb der einzelnen Aminosäuren konnten signifikante Unterschiede für die EAA Leucin und Histidin identifiziert werden. Für Leucin weist der Genotyp „Samourai“ einen höheren Gehalt auf als die Sorte „Lirafit“. Ebenso wurde die Differenz für Histidin zwischen dem Genotyp mit dem höchsten Histidingehalt „1012-98“ und den beiden Genotypen mit dem niedrigsten Histidingehalt „Lirafit“ und „Liporta“ gemessen. Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass die vier identifizierten Genotypen „Samourai“, „Liporta“, „Lirafit“ und „1012-89“ in Bezug auf die Aminosäurequalität eine äquivalent gute Wahl sind, es sei denn, es wird besonderen Wert auf Leucin- oder den Histidin Gehalt gelegt. Die Akzession „Lisek“ weist reduzierte Aminosäuregehalte für EAA, SEA und NEA sowie die einzelnen Aminosäuren außer Taurin, Prolin und Cystein auf. Der Gesamtöl- und Proteingehalt ist vergleichbar mit den anderen Genotypen. Aus diesem Grund sind die Genotypen „Samourai“, „Liporta“, „Lirafit“ und „1012-89“ dem Genotyp „Lisek“ hinsichtlich der Proteinqualität und -quantität vorzuziehen.

Tabelle 8 Deskriptive Statistik für die Aminosäuren Referenzanalytik in g kg⁻¹eRS; angegeben sind jeweils das Mittel, Minimum, Maximum, der kleinste signifikante Unterschied, Variationskoeffizient, Varianzanalyse des Genotyps (Genotyp) und die Heritabilität (H²); N=178; Daten stammen aus zwei Jahren (2017, 2018) und einem Standort (Rauischholzhausen)

Aminosäure [g/kg] eRS]	N	Min	Max	Mittel	LSD	CoV	Genotyp	H²
Cystein	187	4,51	15,35	7,90	1,28	0,19	***	0,35
Taurin	187	0,66	7,25	2,13	0,63	0,41	***	0,00
Asparaginsäure	187	16,82	34,68	26,32	4,24	0,11	***	0,00
Methionin	187	5,27	9,60	7,32	1,16	0,11	***	0,08
Threonin	187	10,13	19,23	13,67	2,17	0,13	***	0,00
Serin	187	7,97	19,48	13,20	2,13	0,17	***	0,09
Glutaminsäure	187	43,37	80,53	63,37	9,39	0,11	***	0,08
Prolin	187	16,01	33,05	22,91	3,84	0,13	***	0,04
Glycin	187	13,41	26,58	17,93	2,49	0,10	***	0,05
Alanin	187	11,38	22,56	15,15	2,30	0,11	***	0,01
Valin	187	14,31	26,73	19,40	3,46	0,12	***	0,00
Isoleucin	187	9,97	17,53	13,00	2,11	0,11	***	0,00
Leucin	187	19,03	33,45	24,77	3,29	0,1	***	0,06
Tyrosin	187	6,84	14,36	9,79	1,68	0,13	***	0,04
Phenylalanin	187	9,77	19,50	14,09	2,52	0,12	***	0,06
Histidin	187	6,03	14,24	9,68	1,46	0,14	***	0,25
Lysin	187	16,06	25,74	21,25	2,59	0,09	***	0,08
Arginin	187	15,82	29,72	21,87	3,24	0,12	***	0,09
EAA	187	94,07	160,41	123,12	15,41	0,09	***	0,06
SEA	187	60,70	105,59	82,55	9,91	0,10	***	0,08
NEA	187	84,55	150,72	118,07	15,77	0,10	***	0,04

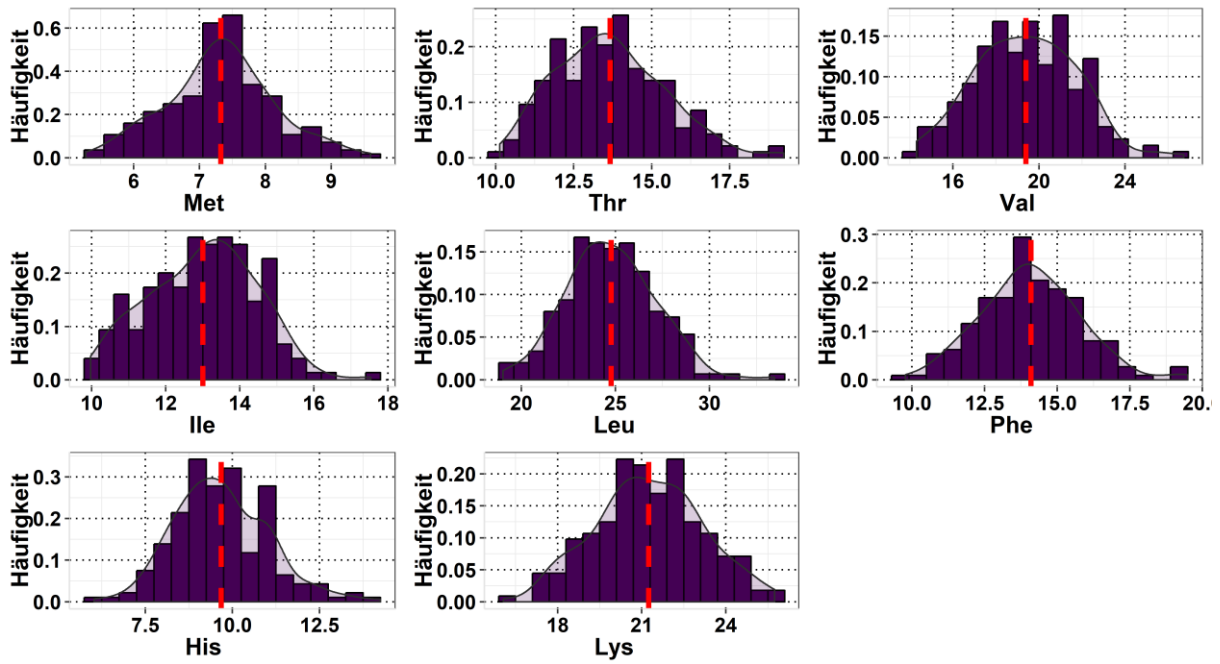


Abbildung 7 Häufigkeitsverteilung der essentiellen Aminosäuren aus der Referenzanalytik, die rote Linie markiert das Mittel, N=187; Daten aus zwei Jahren (2016, 2017) und einem Standort (Rauschholzhausen)

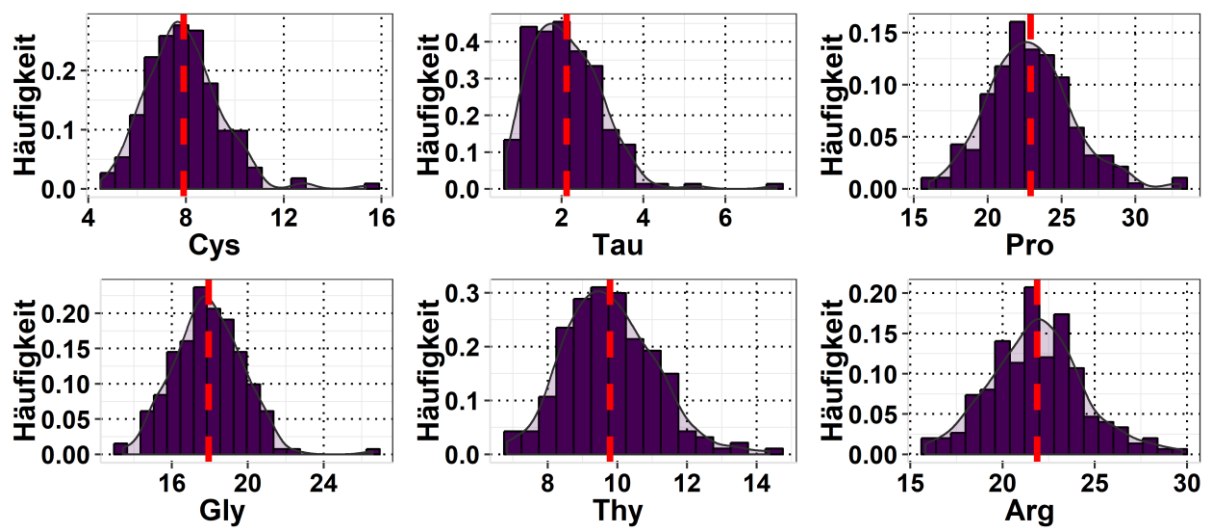


Abbildung 8 Häufigkeitsverteilung der semi-essentiellen Aminosäuren aus der Referenzanalytik, die rote Linie Markiert das Mittel, N=187; Daten aus zwei Jahren (2016, 2017) und einem Standort (Rauschholzhausen)

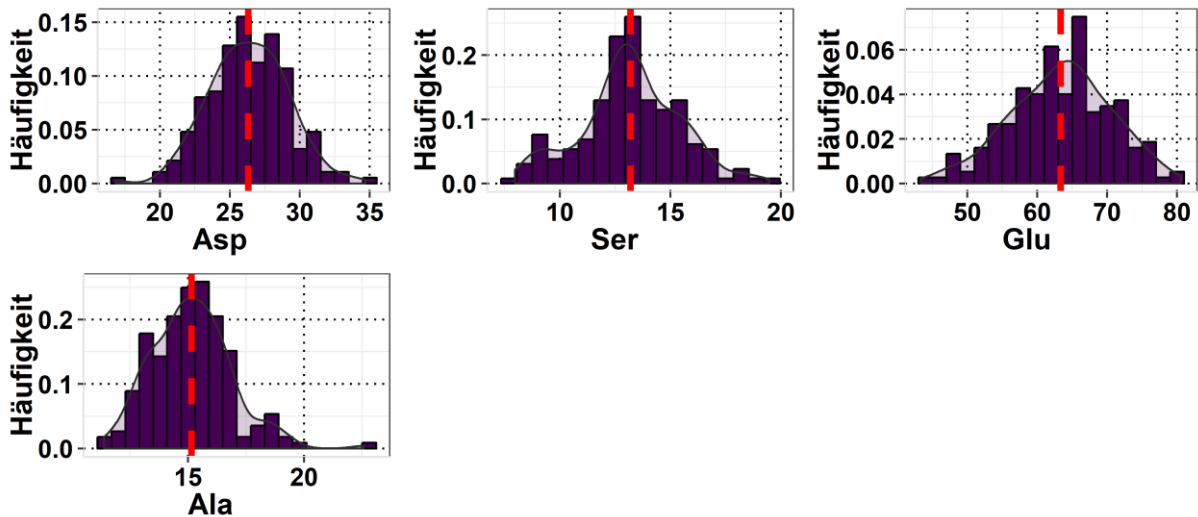


Abbildung 9 Häufigkeitsverteilung der nicht-essentiellen Aminosäuren aus der Referenzanalytik, die rote Linie Markiert das Mittel, N=187; Daten aus zwei Jahren (2016, 2017) und einem Standort (Rauschholzhausen)

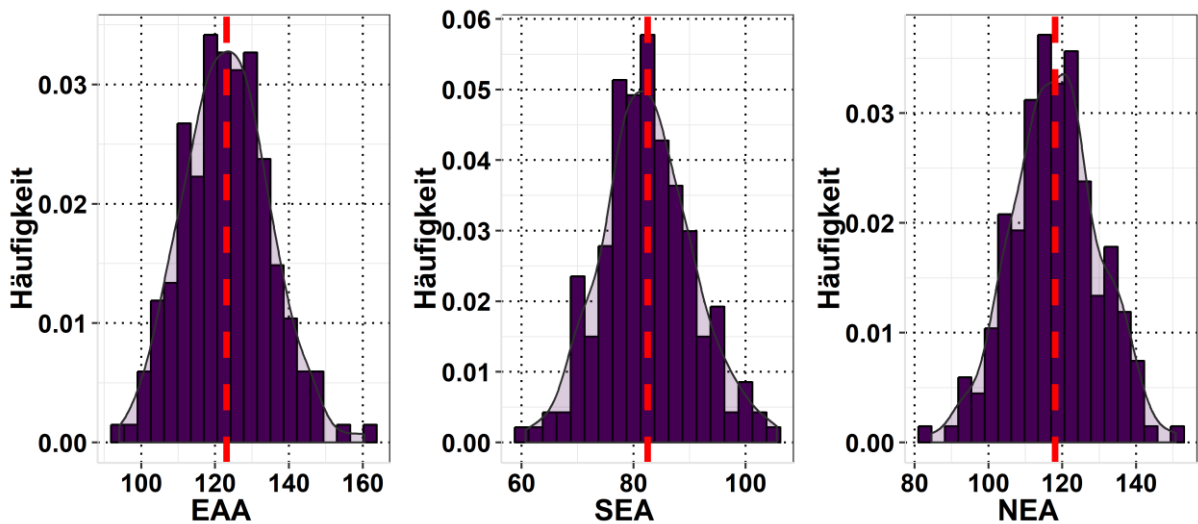


Abbildung 10 Häufigkeitsverteilung der Aminosäuregruppen EAA, SEA und NEA aus der Referenzanalytik, die rote Linie Markiert das Mittel, N=187; Daten aus zwei Jahren (2016, 2017) und einem Standort (Rauschholzhausen)

Tabelle 9 Aminosäuregehalt, Aminosäuregruppen Gehalt, Proteingehalt [%], CNR, Ölgehalt [%], Glucosinolatgehalt [$\mu\text{mol GSL g Rapssaat}^{-1}$], Erucasäuregehalt der Genotypen aus dem Winterrapsdiversitätsset ERANET BnASSYT welche einen CNR Gehalt <1 und eine 00-Ölqualität aufweisen; N=187; Daten aus zwei Jahren (2017, 2018) und einem Standort (Rauischholzhausen)

Genotyp	Met	Thr	Val	Ile	Leu	Phe	His	Lys	Cys
Lisek	5,90	10,80	16,02	10,51	19,49	10,78	7,63	17,57	6,61
Samourai	7,46	13,87	21,69	13,64	24,92	13,59	9,26	22,38	7,44
Liporta	7,07	14,00	19,07	11,88	22,03	12,16	8,64	19,96	6,52
Lirafit	7,26	13,85	18,37	11,75	21,45	11,92	8,51	19,80	6,44
1012-98	7,19	13,57	19,84	13,19	24,38	15,42	10,52	22,10	5,66
Genotyp	Tau	Pro	Gly	Thy	Arg	Asp	Ser	Glu	Ala
Lisek	3,45	16,48	14,96	9,27	16,92	21,89	8,50	49,91	11,38
Samourai	2,60	23,42	17,58	10,33	20,08	24,9	12,90	62,51	16,67
Liporta	3,49	19,42	16,64	9,47	18,88	23,26	12,37	56,53	13,41
Lirafit	3,31	18,97	16,90	9,52	18,81	22,65	12,52	55,96	13,38
1012-98	1,30	22,90	18,59	11,27	21,91	26,93	13,27	62,78	14,99
Genotyp	EAA	SEA	NEA	Protein	CNR	Öl	GSL	Erucasäure	
Lisek	98,61	67,72	91,72	21,45	0,90	41,26	14,95	0	
Samourai	126,72	81,37	117,02	22,35	0,96	44,81	20,75	4,00	
Liporta	114,73	74,44	105,62	21,08	0,81	44,95	18,45	4,14	
Lirafit	112,84	73,99	104,55	23,15	0,90	41,51	35,80	0,95	
1012-98	126,13	81,67	118,02	22,96	0,95	42,28	31,95	7,08	

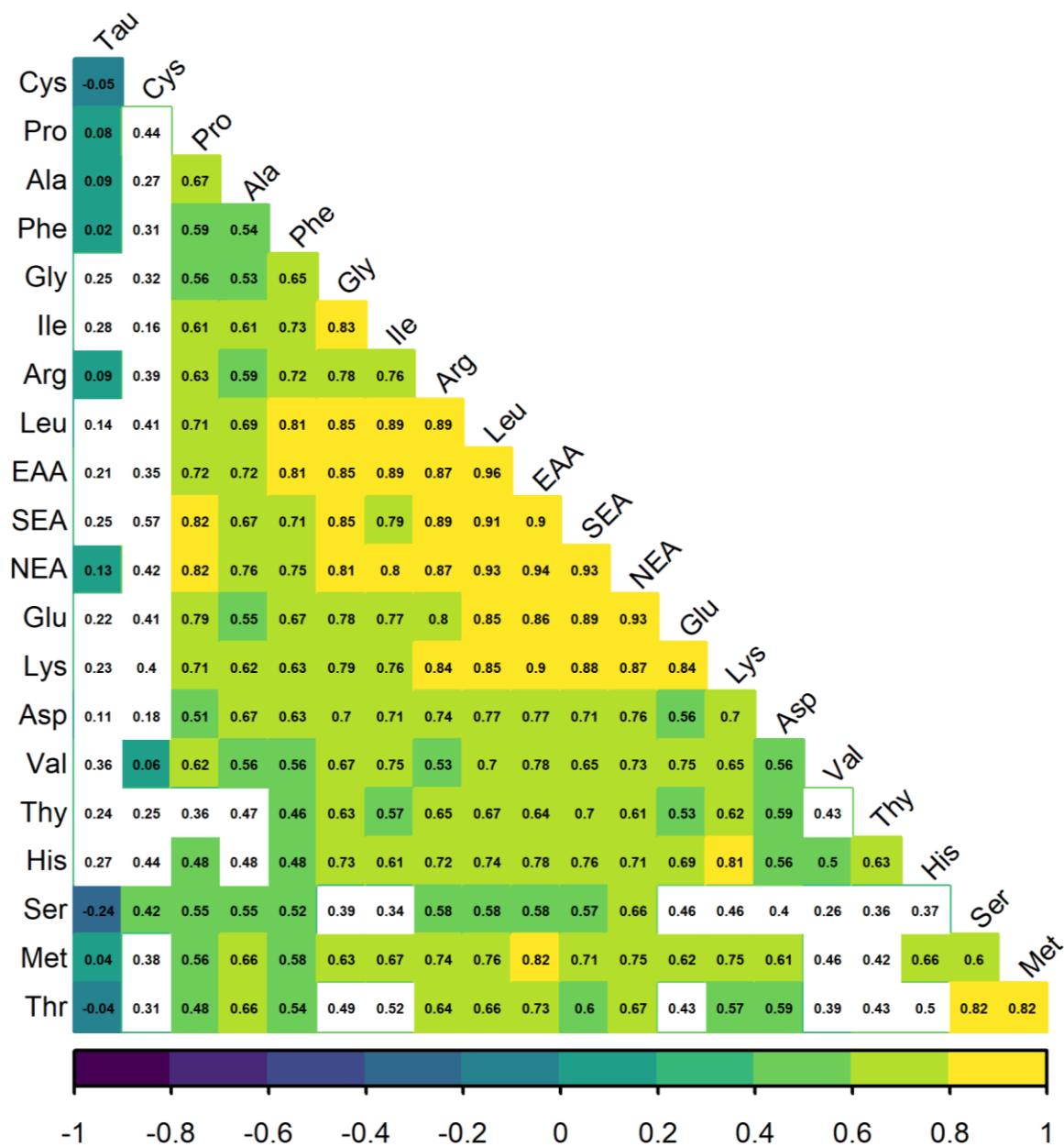


Abbildung 11 Matrix mit Pearson's Korrelation Koeffizienten für die nasschemisch gemessenen Aminosäuregehalte, farblich unterlegte Werte sind signifikant ($p < 0,01$), Daten aus dem Winterrapsdiversitätsset ERANET BnASSYST, (2017, 2018), ein Standort (Rauschholzhausen), N=187

3.1.3 Erstellung einer NIRS-Kalibration für essentielle, semi-essentielle und nicht-essentielle Aminosäuregruppen

Die NIRS-Kalibration wurde unter Verwendung der spektralen und analytischen Daten von 92 Samenproben aus dem Winterrapsdiversitätsset entwickelt. Da die Zuverlässigkeit der NIRS-Kalibration durch die geringen Mengen an Aminosäuren eingeschränkt ist, wurde die Kalibration für die Summe der essentiellen, semi-essentiellen und nicht-essentiellen Aminosäuren entwickelt. Der durch die Referenzanalytik verursachte Fehler wäre zu groß, es sei denn, die Anzahl der analysierten Genotypen würde drastisch auf etwa 600 bis 700 erhöht. Für alle drei Aminosäuregruppen wurden Signale im Spektralbereich von 680–1900 nm gemessen. Die für die Entwicklung der EAA verwendeten Genotypen (N = 92) zeigten einen Bereich von 91,06 bis 161,90 g EAA pro kg eRS mit einem Mittelwert von 124,36 g EAA pro kg eRS und einer Standardabweichung von 14,23. Die Bewertung der Kalibration ergab (Tabelle 10) einen Standardfehler der Kalibrierung (SEC) von 9,35, ein Bestimmtheitsmaß (R^2) von 0,57, einen Standardfehler der Kreuzvalidierung (SECV) von 10,54 und ein Bestimmtheitsmaß in der Kreuzvalidierung von 0,45. Die tatsächliche Korrelation der geschätzten zu den referenzanalytischen Werten der EAA ist in Abbildung 12 (oben) dargestellt. Der Wert $R^2 = 0,57$ bedeutet, dass die durch die NIRS-Kalibrierung geschätzten EAA-Werte zu 57 % genau sind. Es zeigt, dass die entwickelte Kalibrierung verwendet werden kann, um eine Vorhersage des EAA-Gehalts einer Samenprobe zu erhalten. Die Vorhersage kann unterscheiden, ob die Samenprobe einen hohen oder niedrigen EAA-Gehalt hat. Im mittleren Bereich sind die Messungen von zwei Samenproben möglicherweise nicht genau genug, um eine gültige Bewertung des EAA-Gehalts zu geben. Im Vergleich zu den anderen Aminosäuregruppen zeigt die EAA-Kalibrierung den niedrigsten R^2 -Wert (R^2 SEA=0,69, R^2 NEA=0,72). Da die Korrelation eine starke Beziehung zwischen EAA, SEA und NEA zeigt, könnte die NIRS-Schätzung anderer Aminosäuregruppen verwendet werden, um ein genaueres Verständnis der Unterschiede zwischen Genotypen zu erlangen. Die Validierungskorrelation der SEA ist in Abbildung 12 (unten, grün) dargestellt. Die errechnete Statistik für die SEA-Werte ergab eine Variationsbreite zwischen 57,04 und 111,04 g SEA pro kg eRS, im Durchschnitt weisen die Genotypen einen Gehalt von 118,07 g SEA pro kg eRS auf und einer Abweichung von 11,34 g SEA pro kg eRS vom Mittelwert. Für die Bewertung der Kalibrierung wurden SEC (6,28), R^2 (0,69), SECV (7,01) und R_{cv}^2 (0,62) berechnet (Tabelle 10). Für die NEA zeigten die Genotypen einen Bereich von 81,72–163,68 g NEA pro kg eRS, einen Mittelwert von 118,57 g NEA kg^{-1} eRS und eine Standardabweichung von 17,15 (Tabelle 10). Die Kalibriergleichung ergab einen SEC von 9,13, einen R^2 von 0,72, einen SECV von 10,29 und einen R_{cv}^2 von 0,64. Mit diesen Werten ist die Kalibriergleichung des NEA im Vergleich zu den anderen Aminosäuregruppenkalibrierungen am genauesten. Um die Genauigkeit der Kalibrierung zu bewerten, wurde eine Korrelation mit Genotypen berechnet, welche weder bei der Entwicklung der Kalibrierung noch bei der Kreuzvalidierung der Kalibrierung verwendet wurden. Diese Validierungskorrelation ist in

Abbildung 12 (unten) dargestellt. Dabei ist die Korrelation zwischen den analysierten Werten aus der Aminosäureanalyse und den geschätzten Werten aus der NIRS-Kalibrierung geringer als die der Kalibrierung und ihrer Validierungen: EAA: $r = 0,22$, SEA $r = 0,45$, NEA $r = 0,45$.

Tabelle 10 Daten zur NIRS Kalibration der Aminosäuregruppen (EAA, SEA, NEA), N=92 aus der Referenzanalytik der Aminosäuren

Merkmal	N	Variationsbreite	Mittel	SD	Math. Bearbeitung	SEC	R ²	F	SECV	Rcv ²	SD/SECV
EAA	92	91,06-161,90	124,36	14,23	2-4-4-2 SNV und detrend	9,35	0,57	8,92	10,54	0,45	1,3
SEA	92	57,04-111,04	82,07	11,34	2-4-4-2 SNV und detrend	6,28	0,69	16,90	7,01	0,62	2,1
NEA	92	81,72-162,68	118,57	17,15	2-4-4-2 SNV und detrend	9,13	0,72	11,04	10,29	0,64	1,7

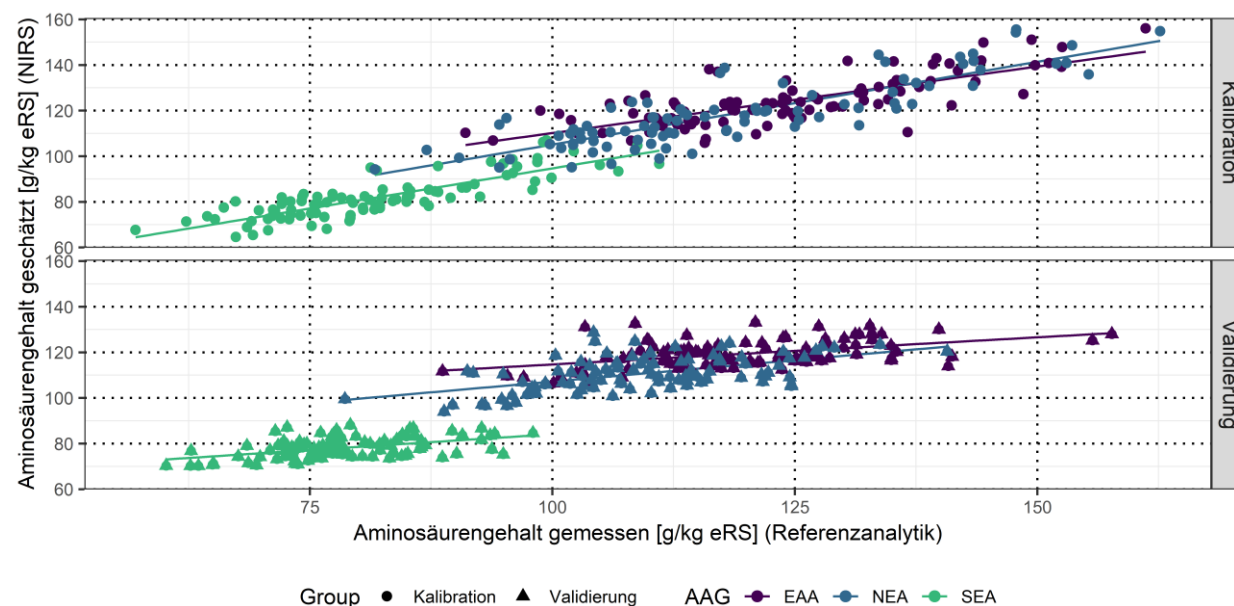


Abbildung 12 Korrelation des geschätzten Aminosäuregehaltes (NIRS) mit dem gemessenen Aminosäuregehalt aus der Referenzanalytik; die obere Grafik zeigt die Korrelation der Kalibration (N=92), die untere Grafik zeigt Korrelation der Validierung (alle in der Validierung genutzten Werte wurden nicht in der Kalibriererstellung genutzt) (N=95)

3.1.4 GWAS und Haplotypen Analyse für die essentiellen, semi-essentiellen und nicht essentiellen Aminosäuren (EAA, SEA, NEA) und die Proteinfractionen (Cruciferin, Napin) im Winterraps Diversitätsset

3.1.4.1 Deskriptive Statistik der phänotypischen Daten der GWAS aus den geschätzten Werten der essentiellen, semi-essentiellen und nicht-essentiellen Aminosäuren

Die Menge der essentiellen Aminosäuren zeigt eine Verteilung von 106,8 bis 136,3 g kg⁻¹eRS. Der durchschnittliche EAA-Gehalt wurde auf 120,06 g kg⁻¹eRS geschätzt. In der Gruppe der SEA liegt der mittlere Gehalt bei 74,75 g kg⁻¹eRS, das Minimum bei 65,35 g kg⁻¹eRS und das Maximum bei 86,6 g kg⁻¹eRS. Hier zeigt sich, dass die SEA im Mittel die niedrigsten in g kg⁻¹eRS aufzeigen. In der deskriptiven Statistik weisen die NEAs mit einem Minimum von 96,4 und einem Maximum von 135,58 g kg⁻¹eRS die größte Variationsbreite auf. Der Mittelwert der NEA liegt bei 113,16 g kg⁻¹eRS. In der Varianzanalyse zeigen alle drei Aminosäuregruppen hochsignifikante Unterschiede zwischen den Genotypen auf. Der Wert für den geringsten signifikanten Unterschied (LSD) der EAA liegt bei 11,17 g kg⁻¹eRS, für die SEA bei 9,1 g kg⁻¹eRS und für die NEA bei 14,31 g kg⁻¹eRS. Die Heritabilität hat für die EAA einen Wert von H²=0,4, für die SEA H²=0,26 und für die NEA bei H²=0,4. Die deskriptiven Statistiken für die geschätzten Aminosäuregruppen sind in Tabelle 11 dargestellt. Des Weiteren wurden die Korrelationen zwischen geschätztem Aminosäuregehalt und anderen Qualitätsmerkmalen wie Proteingehalt, Ölgehalt, Cruciferin-Gehalt, Napin-Gehalt, Cruciferin:Napin-Verhältnis und Glucosinolat-Gehalt errechnet (Abbildung 13). Es wurden starke positive Korrelationen zwischen Proteingehalt und den Gehalten an EAA, SEA und NEA sowie den Aminosäuregruppen untereinander festgestellt. Zwischen Napin- und dem Glucosinolatgehalt wurde eine mittlere positive Korrelation (r = 0,6) festgestellt. Ein in der Literatur bekanntes Phänomen ist die negative Korrelation zwischen Öl- und Proteingehalt in Raps (Kutcher et al. 2005; Funk and Mohr 2010; Yahbi et al. 2022), die hier bestätigt wird.

Tabelle 11 Deskriptive Statistik für die geschätzten Werte (NIRS) der Aminosäuregruppen, inklusive des Variationskoeffizienten, des geringsten signifikanten Unterschied (LSD), der Varianzanalyse des Genotyps (Genotyp) und der Heritabilität (H²). Daten sind adjustierte Mittelwerte aus zwei Jahren (2017, 2018) und einem Ort (Rauischholzhausen). Signifikanz: ***=0,001, **=0,01, *=0,05

Merkmal [g/kg eRS]	N	Min	Max	Mittel	CoV	LSD	Genotyp	H ²
EASe	212	106,80	136,30	120,03	0,05	11,17	***	0,42
SASe	212	65,35	86,60	74,75	0,06	9,10	***	0,26
NESe	212	96,40	135,58	113,16	0,07	14,31	***	0,41

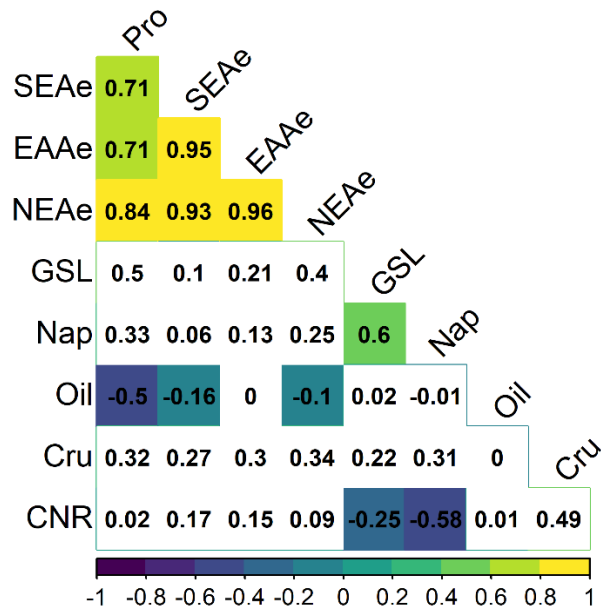


Abbildung 13 Matrix des Pearsons's Korrelations Koeffizienten für die geschätzten (NIRS) Aminosäuregruppen (EAAe, SEAE, NEAE), dem Öl- (Oil), Protein (Pro)-, Glucosinolat (GSL)-, Cruciferin (Cru)- und dem Napingehalt (Nap), sowie dem Cruciferin:Napin Verhältnis (CNR); farblich hinterlegte Werte sind signifikant ($p < 0,01$)

3.1.4.2 GWAS Ergebnisse für die Proteinfractionen Cruciferin und Napin sowie das Cruciferin:Napin Verhältnis

Die phänotypischen Daten für die Proteinfractionen Cruciferin, Napin und das Cruciferin:Napin-Verhältnis wurden durch SDS-PAGE ermittelt. Die identifizierten SNP-Marker mit einem GWAS-Score über einem $-\log_{10}(p\text{-Wert})$ von 3 sind in Tabelle 12 aufgelistet. Für den Cruciferin-Gehalt wurde ein SNP-Marker (Bn-A04-p18639840) auf Chromosom A4 (Abbildung 14) gefunden, welcher einen $-\log_{10}(p\text{-Wert})$ von 3,2 besitzt und sich an Position von 22,8 Mbp befindet. Für den Marker Bn-A04-p18639840 konnte allerdings kein gekoppeltes Gen identifiziert werden. Der Napingehalt zeigt vier Peaks, die sich auf den Chromosomen A5, A9, C2 und Chromosom U befinden (Abbildung 15, Tabelle 12). In der GWAS für das Merkmal Napin wurde der SNP Marker Bn-A05-p2300076 auf Chr. A05 an der Position 2.643.730 im *B.napus* Referenzgenom v8 befindet, identifiziert, welches mit dem Gen BnaA05p02750D über ein LD ($r^2=0.25$) verlinkt ist. Dieses Gen ist an der Cystein Biosynthese beteiligt. Für das Cruciferin:Napin-Verhältnis zeigte die GWAS keine SNP-Marker über einem $-\log_{10}(p\text{-Wert})$ von drei. Aus diesem Grund wurde das Merkmal bei der Haploblocksuche ausgeschlossen. Für das Merkmal Napin wurde ein assoziierter Haploblock gefunden. Er besteht aus zwei SNPs (Bn-A09-p160775, Bn-A09-p100643, LD: $r^2 > 0,8$), die auf Chromosom A9 an Position 851.527 bp (Referenzgenom *B.napus* *Damor-bzh* (Chalhoub et al. 2014)) gefunden wurden (Abbildung 16). Im Haploblock Bn-A09-p160775, Bn-A09-p100643 werden im Winterraps Diversitätsset vier Haplotypen exprimiert: AC, CA, CC, AA. Haplotyp 3 zeigt im Mittel signifikant (Student's t-Test $p > 0,05$) höhere Napinwerte als Haplotyp 1 (AC) und Haplotyp 2 (CA). Abgesehen von Haplotyp 3 (CC)

gegenüber Haplotyp 4 (AA) zeigte der Student-t-Test signifikante unterschiedliche Mittelwerte zwischen allen anderen Haplotypen mit einem Konfidenzintervall von mindestens 0,95. Im Hinblick auf einen erhöhten Napingehalt wäre die Selektion auf Haplotyp 3 (CC) und Haplotyp 4 (AA) auf Chromosom 9 eine äquivalent gute Wahl.

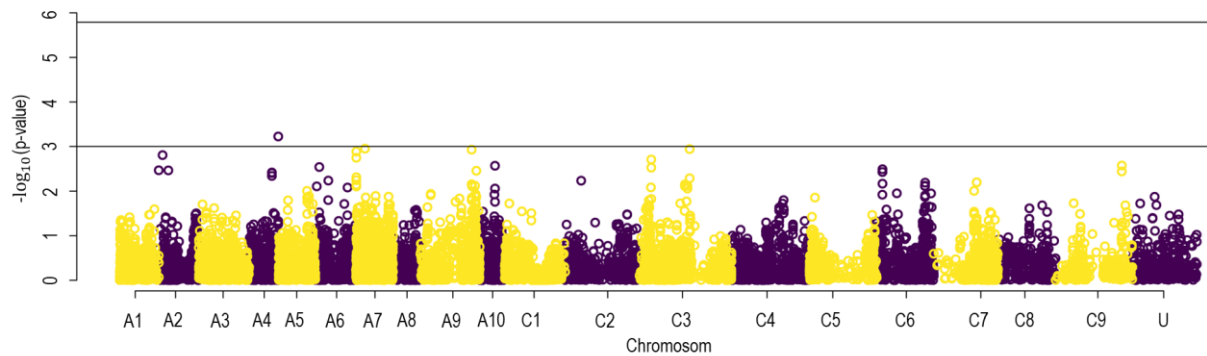


Abbildung 14 Manhattanplot für das Merkmal Cruciferin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$

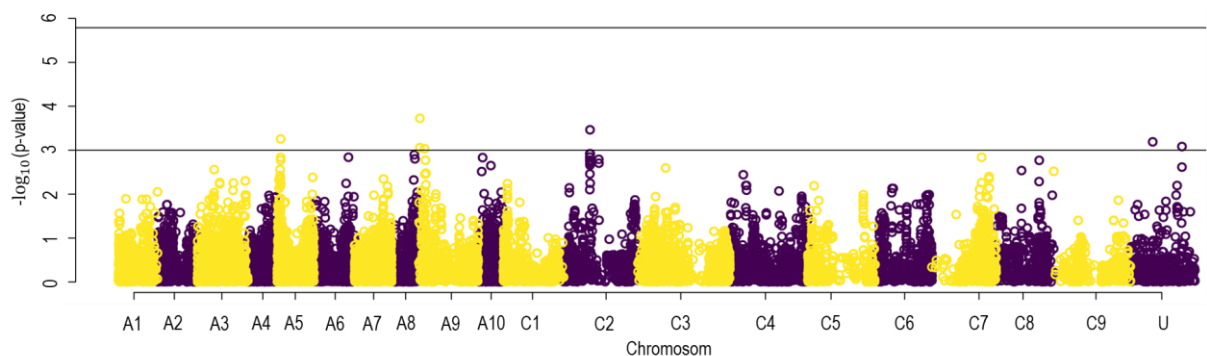


Abbildung 15 Manhattanplot für das Merkmal Napin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$

Tabelle 12 SNPs aus der Assoziationsstudie mit $3 < -\log_{10}(\text{p-Wert})$ für die Merkmale Cruciferin und Napin

SNP	Chromosom	Position	$-\log_{10}(\text{p-Wert})$	Merkmal
Bn-A04-p18639840	chrA04	22827426	3,223	Cruciferin
Bn-A05-p2300076	chrA05	2643730	3,257	Napin
Bn-A09-p160775	chrA09	851527	3,727	Napin
Bn-scaff_18702_1-p384439	chrC02	21133842	3,464	Napin
Bn-A10-p382954	chrU	18139004	3,189	Napin

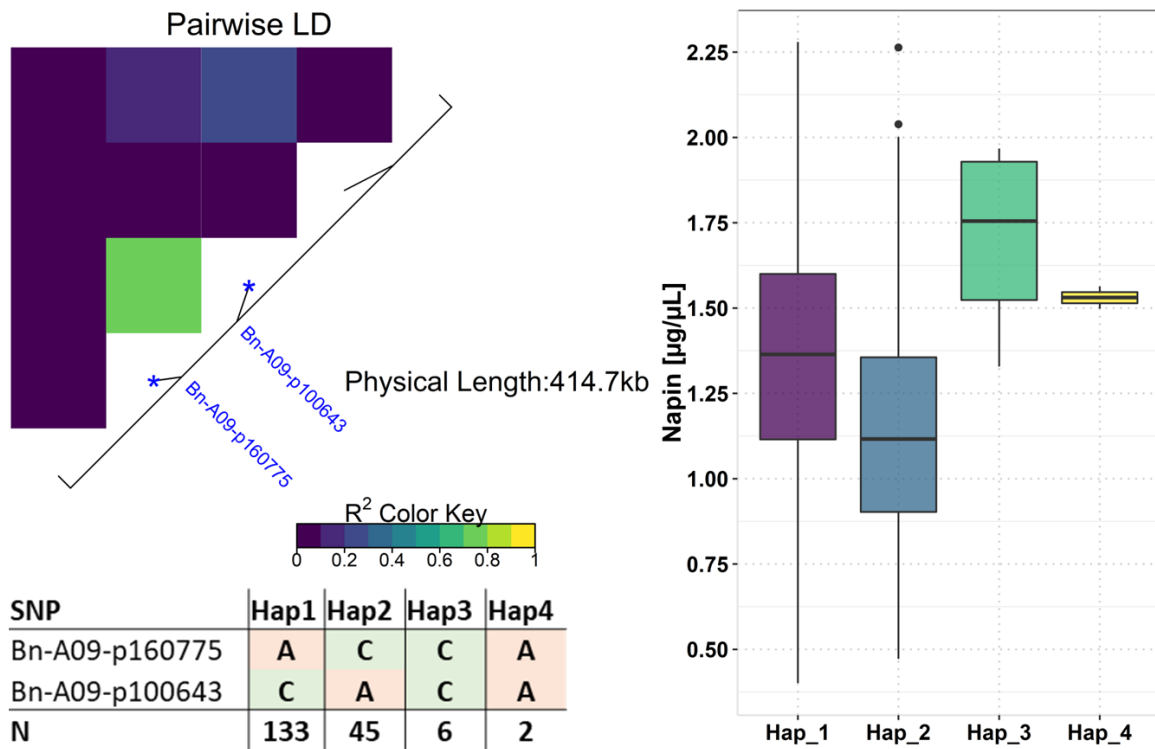


Abbildung 16 Haplotyp Block auf Chromosom A09 bei 0,8 Mbp für das Merkmal Napin mit vier Haplotypen, signifikante ($p < 0,01$) Unterschiede (Student's t-Test) wurden zwischen den Haplotypen Hap_1 und Hap_2, Hap_2 und Hap_3 und Hap_2 und Hap_4 gemessen

3.1.4.3 GWAS Ergebnisse für die einzelnen Aminosäuren

Bei der Assoziationsstudie wurden für die Aminosäuren Alanin, Arginin, Glutaminsäure, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Prolin, Serin, Taurin und Threonin SNP Marker mit einem $-\log_{10}(P\text{-Wert})$ über 3 gefunden. Aufgrund des großen Umfangs ist diese Tabelle im Anhang zu finden. Bei der anschließenden Suche nach mit den SNPs oder Haploblöcken assoziierten potentiellen Kandidatengenen, konnte bei den Aminosäuren Alanin, Arginin, Methionin, Glutaminsäure, Isoleucin, Leucin, Prolin, Serin und Threonin, Kandidatengene für die assoziierten SNP-Marker und Haplotyp Blöcke gefunden werden. Eine Auflistung hiervon ist Anhang zu finden. Für Alanin konnten relevante Regionen auf den Chromosomen A02, A01 und A03 identifiziert werden (Abbildung 17). Davon liegt ein Haploblock auf Chromosom A2 bestehend aus den 2 SNPS (Bn-A02-p10623838, Bn-A02-p10624373), welche im Bereich 9.753.221 bis 9.753.756 Bp liegen und über einem LD $>0,9$ verlinkt sind (Abbildung 19). Das assoziierte Gen (BnaA02g16070D) liegt zwischen 6.072.555 und 6.074.069 Bp und ist über einen LD von 0,9 mit dem Haploblock verbunden. Das Gen (BnaA02g16070D) ist unter anderem in den Aminosäurenimport involviert (GO Terms) und codiert das Protein „atpase e1-e2 type family protein haloacid dehalogenase-like hydrolase family protein“. Der Haploblock zeigt drei Ausprägungen an Haplotypen: AG (N=163), GA (N=45) und GG (N=1). Der Student's t-Test ermittelte signifikante Unterschiede ($p>0,01$) zwischen dem Alaningehalt für die Haplotypen AG und GA. Weiterhin konnten drei weitere Kandidatengene gefunden werden, wovon zwei auf Chromosom A03 und eines auf Chromosom A01 liegen. Das Gen BnaA01g24280D liegt zwischen 16.680.481 und 16.682.913 Bp auf Chromosom A01 und codiert das Protein „pyruvate kinase isozyme chloroplastic-like“. Dieses Protein ist in den Pyruvatstoffwechsel involviert, welches Edukt für die Synthese von Alanin ist. Der SNP-Marker (Bn-scaff_23407_1-p23075), welcher mit dem Gen assoziiert (LD $>0,4$), liegt auf Chromosom A01 bei 16.866.700 Bp. Das Kandidatengen BnaA03g54560D (Chr. A03, Pos: 29.297.586-29.299.368 Bp), welches ebenfalls im Pyruvatstoffwechsel eine Rolle spielt und das Protein „pyruvate dehydrogenase e1 alpha subunit“ codiert, konnte durch den SNP Marker Bn-A03-p26931199 auf Chromosom A03 Position 29.338.372 Bp (LD $>0,4$) identifiziert werden. Mit dem gleichen Marker (Bn-A03-p26931199) assoziiert ist das Gen BnaA03g54610D, welches die „Aspartate aminotransferase“ codiert (LD=0,4).

Für die SEA Arginin konnten insgesamt vier Kandidatengene gefunden werden, welche sich auf den Chromosomen A07 und A03 befinden (Abbildung 18). Alle Kandidatengene für Arginin wurden über die Assoziation mit zwei Haploblöcken identifiziert. Ein Haploblock auf Chromosom A07 umfasst zwei SNPs (Bn-A07-p3957667, Bn-A07-p3960247), welche bei 7.350.902 bzw. 7.353.482 Bp liegen und einen LD $>0,9$ zueinander aufweisen (Abbildung 20). Die gefunden Haplotypen sind GA (N=139) und AG (N=71). Der Student's t-Test zeigt signifikante ($p<0,01$) Unterschiede zwischen den beiden Haplotypen. Die beiden Kandidatengene BnaA07g05760D (Chr. A07, Pos. 6.072.555-6.074.069) und

BnaA07g05810D (Chr. A07, Pos. 6.142.199-6.145.626) hier codieren die Proteine „ammonium transporter“ und „dihydroxy-acid dehydratase-like“. Ein weiterer Haploblock welcher bei Arginin identifiziert werden konnte, befindet sich auf Chromosom C03 und ist aus drei SNP-Markern zusammengesetzt (Bn-scaff_19740_1-p112656, Bn-scaff_19740_1-p109782, Bn-scaff_19740_1-p105519; LD>0,9), welche sich an den Positionen 54.404.716, 54.407.609 und 54.411.853 Bp befinden (Abbildung 21). Die hierfür gefundenen Haplotypen sind CTG (N=138) und TCF (N=25) mit signifikanten Unterschieden im Arginingehalt zwischen den Haplotypen ($p < 0,01$). Für diesen Haploblock wurden ebenfalls zwei Kandidatengene gebunden, wobei das Gen BnaC03g65140D auf Position 54.701.295-54.704.884 Bp das Protein „gamma-glutamylcysteine synthetase“ codiert und das Gen BnaC03g65810D (Position 55.572.015-55.574.078 Bp), welches das Protein „arginine decarboxylase“ codiert. Der gemessene LD zwischen dem Gen und dem Haploblock liegt bei LD =0,5 für das Gen BnaC03g65140D und bei LD=0,4 für das Gen BnaC03g65810D.

Für die NEA Glutaminsäure wurde ein relevanter SNP-Marker (Bn-A02-p9608730) auf Chromosom A02 gefunden (Pos. 8.556.596 Bp), welcher mit dem Gen BnaA02g15650D (Pos. 9.110.227) assoziiert (LD= 0,5) ist und das Protein „histidinol-phosphate aminotransferase“ codiert (Abbildung 22).

In der Assoziationsstudie von Isoleucin (Abbildung 23), welches zu den EAA zählt, wurde ein Zusammenhang zwischen dem Marker Bn-A06-p20320209 auf Chromosom A05 (Pos. 9.267.343 Bp) und dem Gen BnaA05g15970D (Pos. 10.516.865-10.523.185 Bp) festgestellt (LD=0,7). Das codierte Protein „precursor monofunctional aspartokinase“ ist unter anderem in der Biosynthese von zellulären Aminosäuren beteiligt.

Für die EAA Leucin wurden zwei Kandidatengene auf den Chromosomen A01 und A05 identifiziert (Abbildung 24). Der SNP auf Chromosom A01 (Bn-scaff_23407_1-p23075) liegt bei Position 16.866.700 Bp und ist mit dem Gen BnaA01g24280D (Pos. 16.680.481-16.682.913 Bp) über einen LD=0,4 assoziiert. Das Gen codiert das Protein „pyruvate kinase isozyme chloroplastic-like“. Auf Chromosom A05 liegt das Gen BnaA05g07770D (Pos. 4.212.771-4.215.933 Bp), welches mit dem Marker Bn-A05-p4679663 (Pos. 4.763.365 Bp) über einen LD von 0,3 verlinkt ist. Das Gen codiert das Protein „enolase“.

Für die EAA Lysin wurden zwar potentielle SNPs in der GWAS identifiziert (Abbildung 25), allerdings ist aufgrund des geringen LD zwischen des GWAS SNP und der Kandidatengene von keiner Relevanz dieser, für den Lysingehalt, auszugehen.

Methionin ist eine EAA, für welche sieben Kandidatengene identifiziert werden konnten. Diese sind auf den Chromosomen A05, A10 und C03 zu finden (Abbildung 26). Der haplotyp Block auf Chromosom A05 besteht aus zwei Markern (Bn-A06-p20320209, Bn-A06-p20320258, Pos. 9.267.343 und

9.267.194 Bp) und nimmt die Haplotypen TA (N=71) und GG (N=85) an (Abbildung 27). Dabei sind die Unterschiede im Methioningehalt der zwei Haplotypen nur geringfügig ($p=0,05$) signifikant. Für den Haploblock auf Chromosom A05 konnten drei Kandidatengene identifiziert werden. Das Gen BnaA05g12580D (Pos. 7.269.319-7.269.960 Bp) ist über einen $LD>0,2$ mit dem Haploblock assoziiert und codiert das Protein „cdpk-related protein kinase“. Ein weiteres Gen BnaA05g13800D (Pos. 8.393.482-8.393.661 Bp), welches mit einem $LD>0,3$ mit dem Haploblock verlinkt ist, codiert das Protein „arabinogalactan protein 12“, welches in der Biosynthese der zellulären modifizierten Aminosäuren involviert ist. Das Gen BnaA05g15190D (Pos. 9.623.698-9.624.318 Bp) codiert das Protein „stress responsive alpha-beta barrel domain protein“, welches unter anderem im Biosyntheseprozess von Methionin beteiligt ist. Der LD zwischen dem Gen (BnaA05g15190D) und dem Haploblock (Bn-A06-p20320209, Bn-A06-p20320258) liegt bei $LD>0,3$. Der Haploblock auf Chromosom C03 besteht aus ebenfalls zwei SNPs (Bn-scaff_15758_3-p727398, Bn-scaff_21330_1-p326557, Pos. 47.582.960 und 48.037.233 Bp) und zeigt zwei Haplotypen (CC, N=153; TT, N=16), welche sich signifikant ($p=0,01$) in Bezug auf den Methioningehalt unterscheiden (Abbildung 28). Die assoziierten Gene sind BnaC03g59130D (Pos. 48.420.720-48.423.223 Bp; $LD>0,3$), welches das Protein „pyruvate dehydrogenase e1 beta subunit“ codiert und in den Biosyntheseprozess von cellulären Aminosäuren eingebunden ist und das Gen BnaC03g60190D (Pos. 49.364.391-49.366.201 Bp, $LD>0,3$) welches über das Protein „5-methylthioadenosine s-adenosylhomocysteine nucleosidase 1-like“ direkt in die Biosynthese von Methionin eingebunden ist. Zwei weitere Kandidatengen wurden für den SNP Bn-A10-p10562649 (Pos. 13.817.568 Bp) gefunden. Zum einen BnaA10g18790D (Pos. 13.515.877-13.519.894 Bp, $LD=0,3$), welches das Protein „cystathionine gamma-synthase“ codiert. Dieses Enzym ist unter anderem an der Biosynthese von Methionin beteiligt. Zum anderen das Gen BnaA10g19170D, ebenfalls auf Chromosom 10 gelegen (Pos. 13.722.070- 13.724.194 Bp, $LD=0,5$), welches an der Formylmethionin deformylase Aktivität über das Protein „peptide deformylase 1b“ beteiligt ist.

Prolin (eine NEA) hat Kandidatengene auf den Kopplungsgruppen Chromosom A02, A05 und C06 (Abbildung 29). Ebenfalls auf Chromosom C06 konnte ein Haploblock bestehend aus zwei SNP (Bn-scaff_25094_1-p497096, Pos. 2.427.078 Bp, Bn-scaff_25094_1-p413818 Pos. 2.332.883 Bp) identifiziert werden (Abbildung 30). Der Haploblock zeigt zwei Haplotypen: CC (N=137) und TT (N=25) und Student's t-Test gibt signifikante Unterschiede ($p=0,01$) zwischen den beiden Haplotypen in Bezug auf den Prolingehalt an. Das Kandidatengen für den Haploblock BnaC06g01890D (Pos. 2.653.361-2.658.996 Bp, $LD=0,9$) codiert das Protein „hydroxyproline-rich glyco protein“. Ein weiteres Kandidatengen wurde auf Chromosom A02 mit Hilfe des SNP-Markers BnaA02g14880D (Pos. 9.532.385 Bp, $LD>0,3$) gefunden. Es ist an Position 8.531.926-8.534.875 Bp und codiert das Protein „proline-rich receptor-like protein kinase perk13-like“. Auf Chromosom A05 gibt es drei Kandidatengene um den Marker Bn-A05-p15460677 (Pos. 15.614.923). Sie codieren die Proteine

„protein transparent testa 12-like“ (Gen: BnaA05g19560D, Pos. 14.923.082-14.929.060 Bp, LD=0,3), „glutamine synthetase“ (Gen: BnaA05g22420D, Pos. 17.097.715-17.099.931 Bp, LD=0,4) und „transcription factor bhlh147“ (Gen: BnaA05g22920D, Pos. 17.407.515-17.408.512 Bp, LD=0,3).

Für die NEA Serin wurden drei Kandidatengene auf den Chromosomen A03 und C06 identifiziert (Abbildung 31). Dabei sind zwei Gene durch die Assoziation mit dem Haploblock Bn-scaff_16485_1-p119862, Bn-scaff_16485_1-p127229, Bn-scaff_16485_1-p127229 (LD>0,95, Pos. 4.014.952, 4.022.418, 4.021.614 Bp) gefunden worden (Abbildung 32). Der Haploblock zeigt drei verschiedene Haplotypen: ACT (N=154), GTC (N=12) und ACC (N=1). Die Haplotypen ACT und GTC unterscheiden sich nach Student's t-Test signifikant ($p=0,01$) im Seringehalt. Die beiden Kandidatengene BnaC06g03540D (Pos. 4.163.520-4.172.968, LD>0,9) und BnaC06g03570D (Pos. 4.238.437-4.243.673, LD>0,9) codieren die Proteine „prolyl oligopeptidase family protein“ bzw. „protease 2-like“. Das Kandidatengen BnaA03g02040D (Pos. 943.476-945.639 Bp, LD=0,5) für den Seringehalt auf Chromosom A03 ist mit dem SNP Bn-A03-p565187 (Pos. 450.044 Bp) assoziiert und codiert das Protein „glutamate dehydrogenase 2“.

Für die Schwefelsäure Taurin wurde ein Kandidaten SNP auf Chromosom C05 identifiziert (Abbildung 33), allerdings kein assoziiertes Kandidatengen.

Für die EAA Threonin wurde das Kandidatengen (BnaA02g16170D, Pos: 9.614-123-9.616.200) in der Kopplungsgruppe A02 mit Hilfe des SNPs Bn-A02-p9608730 (Pos. 8.556.596 Bp, LD=0,4) identifiziert (Abbildung 34). Es codiert die „threonine synthase“.

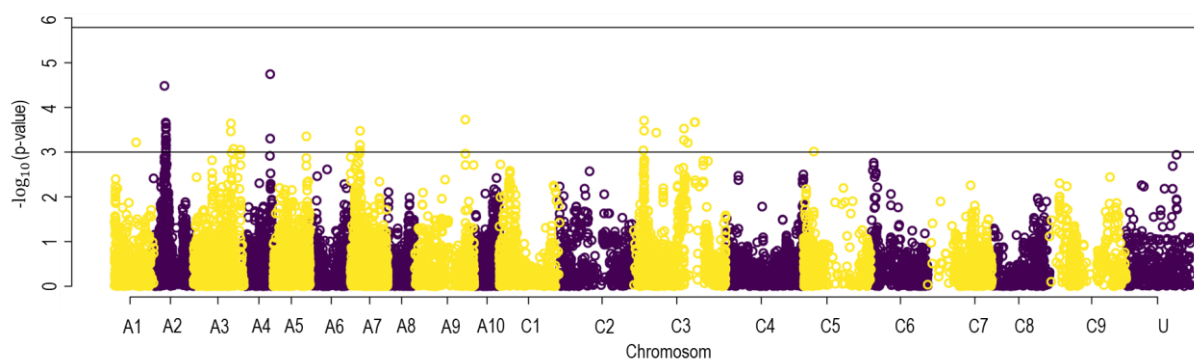


Abbildung 17 Manhattanplot für das Merkmal Alanin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(p\text{-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(p\text{-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(p\text{-Wert})$

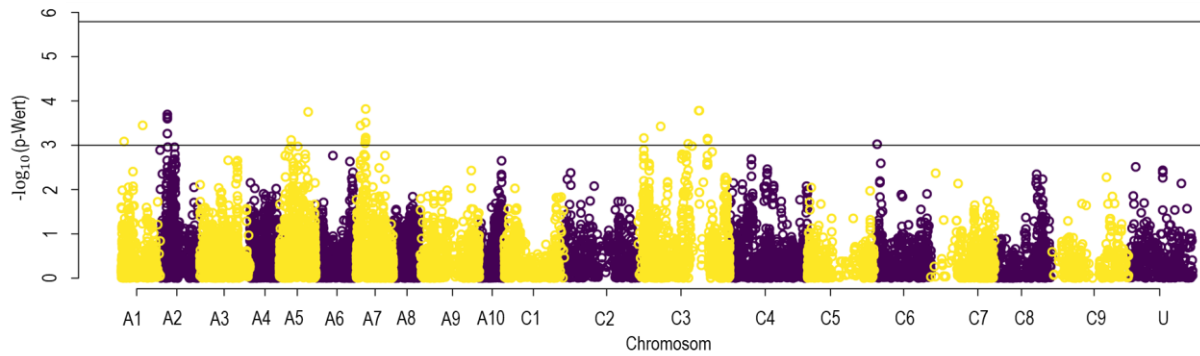


Abbildung 18 Manhattanplot für das Merkmal Arginin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse, der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-Wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$

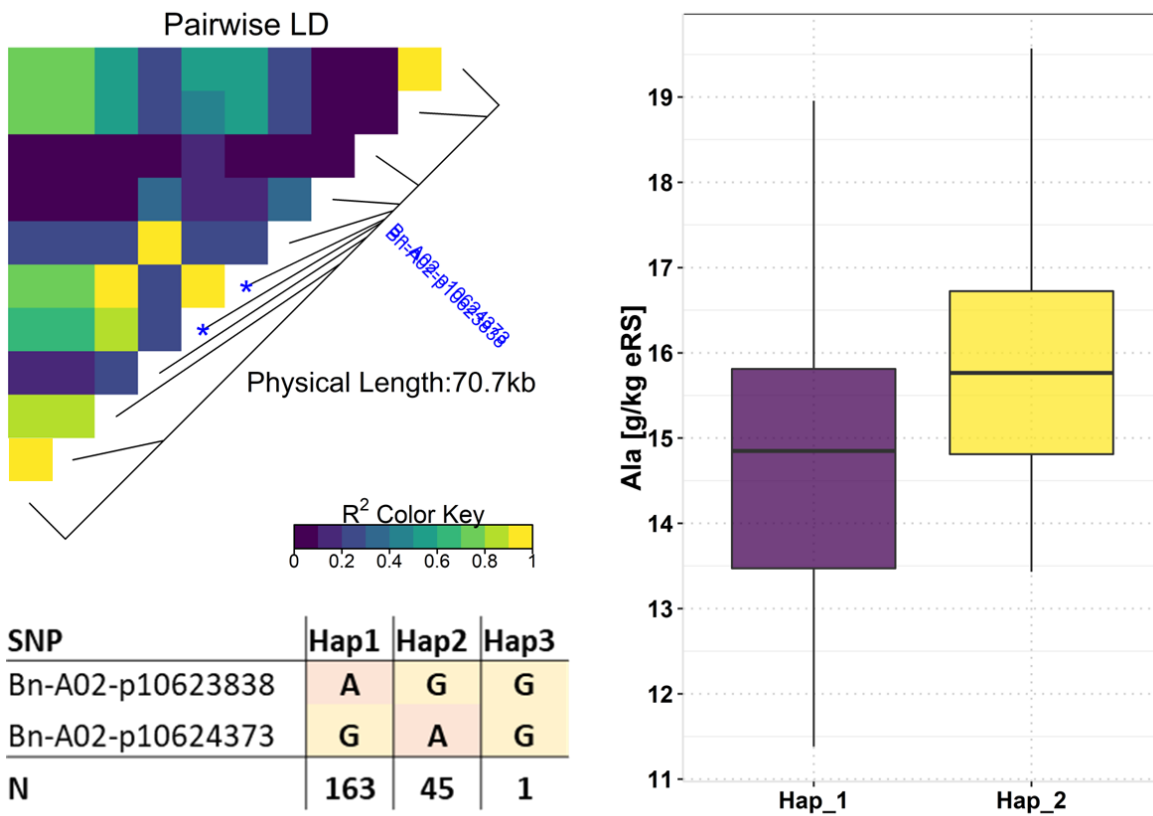


Abbildung 19 Haploblock für Alanin auf Chromosom A02

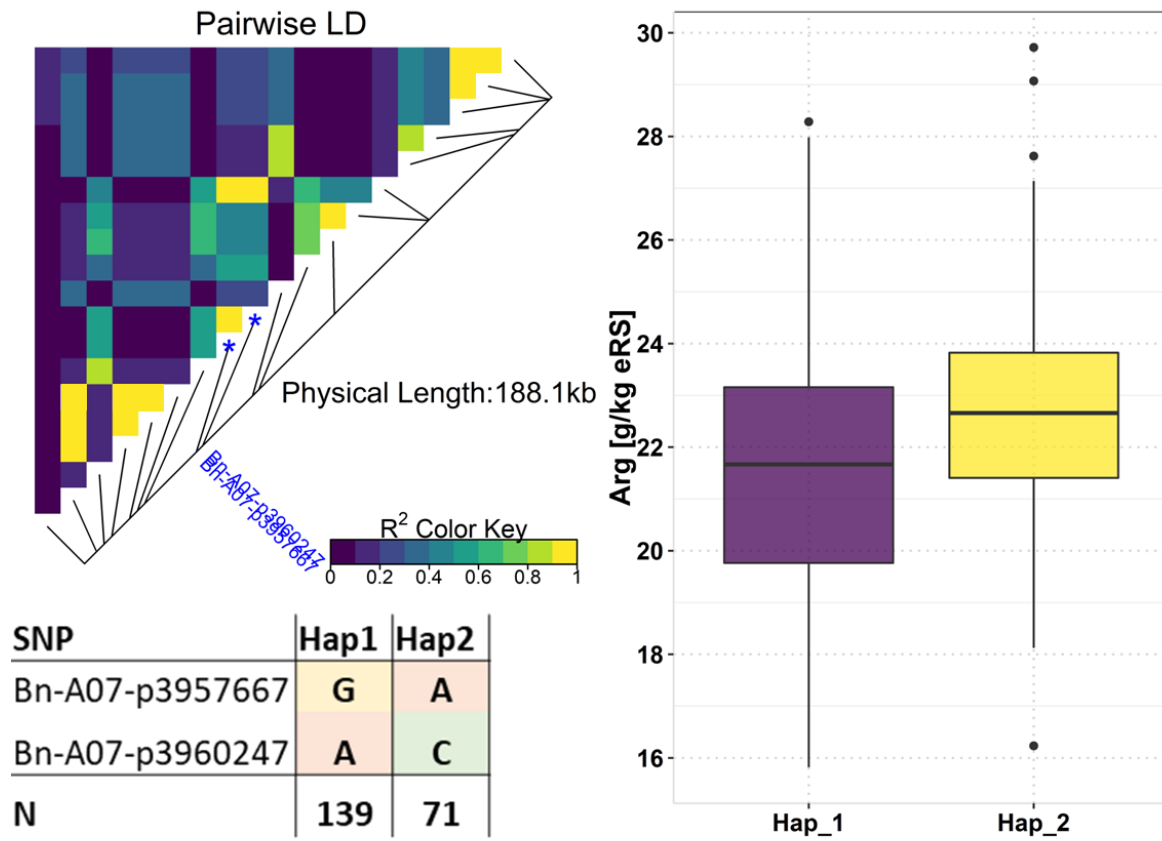


Abbildung 20 Haploblock Arginin Chromosom A07

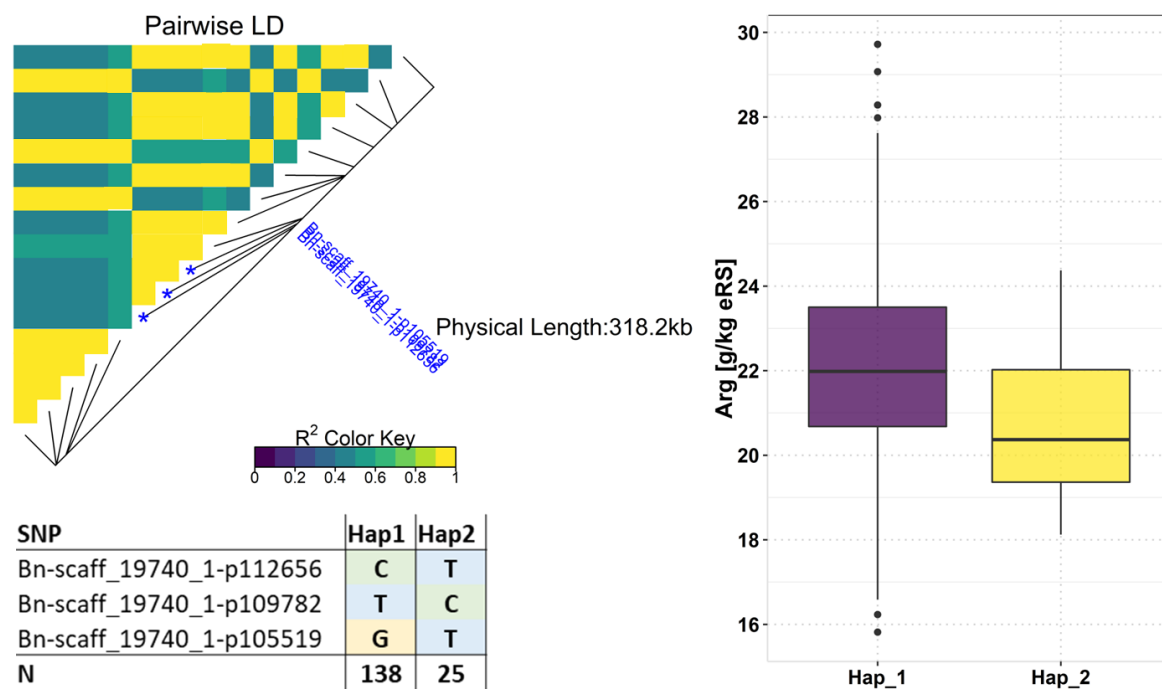


Abbildung 21 Haploblock Arginin auf Chromosom C03

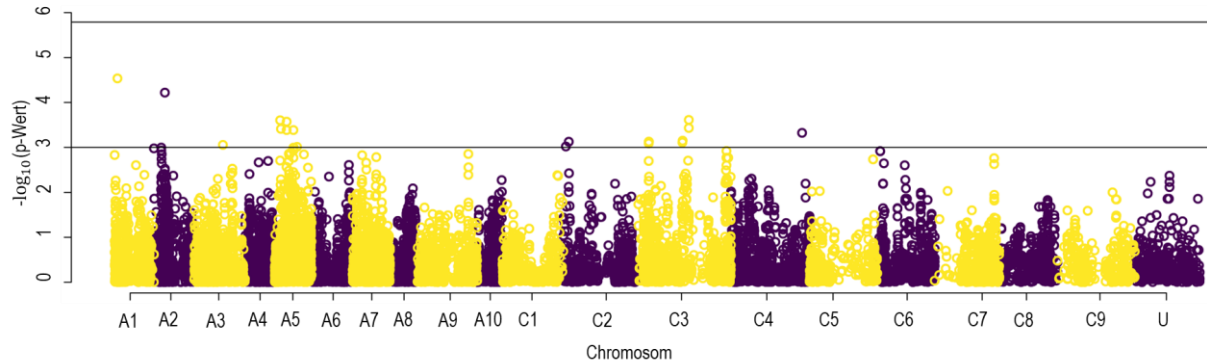


Abbildung 22 Manhattanplot für das Merkmal Glutaminsäure, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$

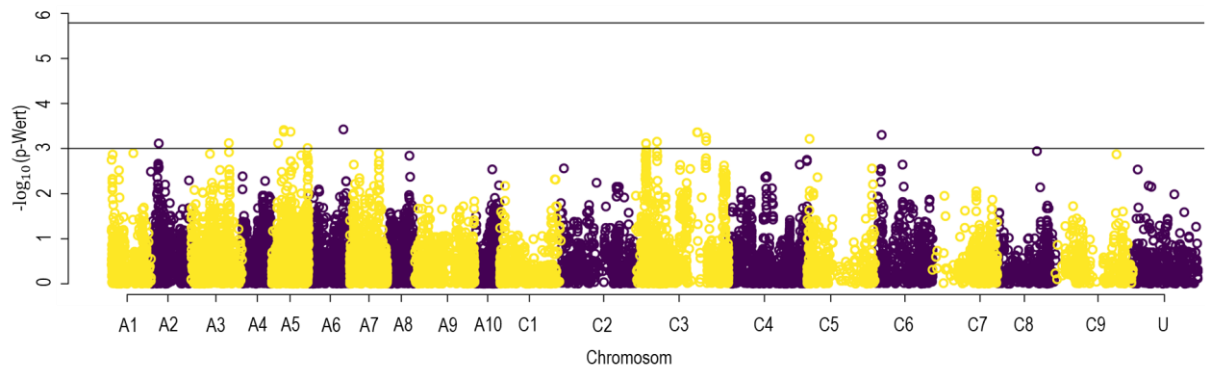


Abbildung 23 Manhattanplot für das Merkmal Isoleucin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$

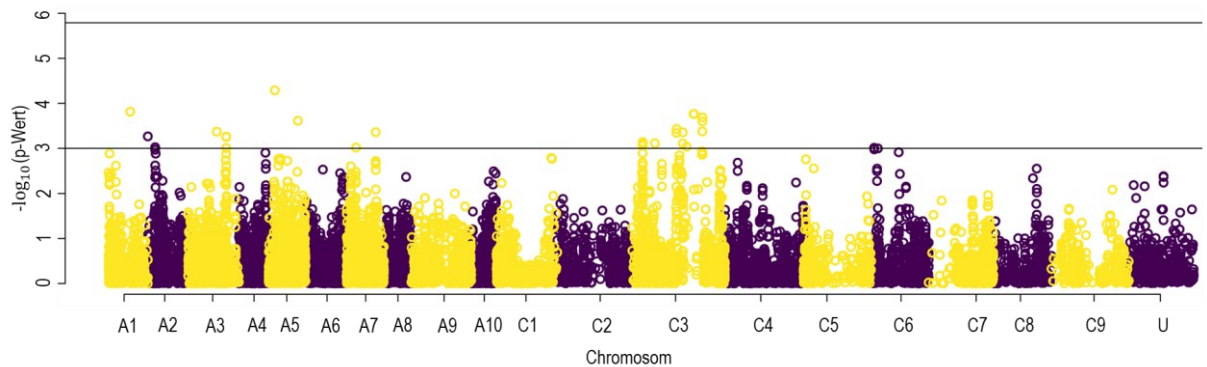


Abbildung 24 Manhattanplot für das Merkmal Leucin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$

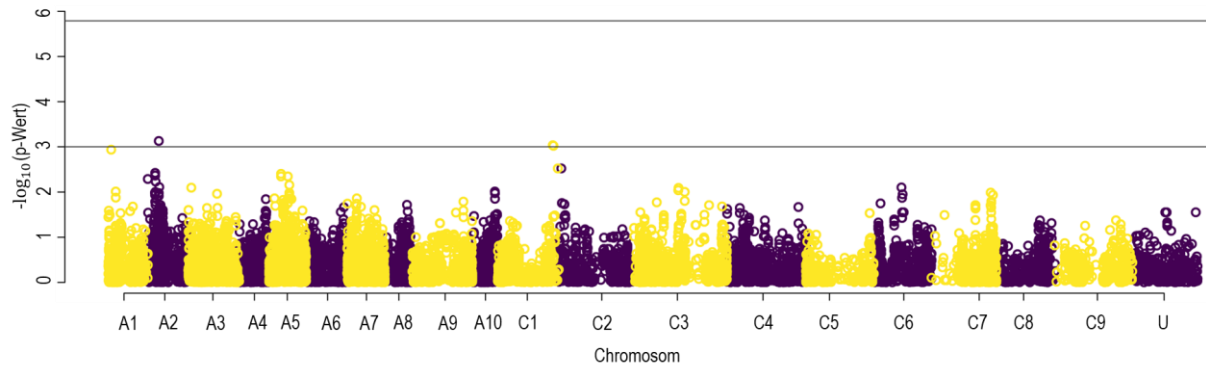


Abbildung 25 Manhattanplot für das Merkmal Lysin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$

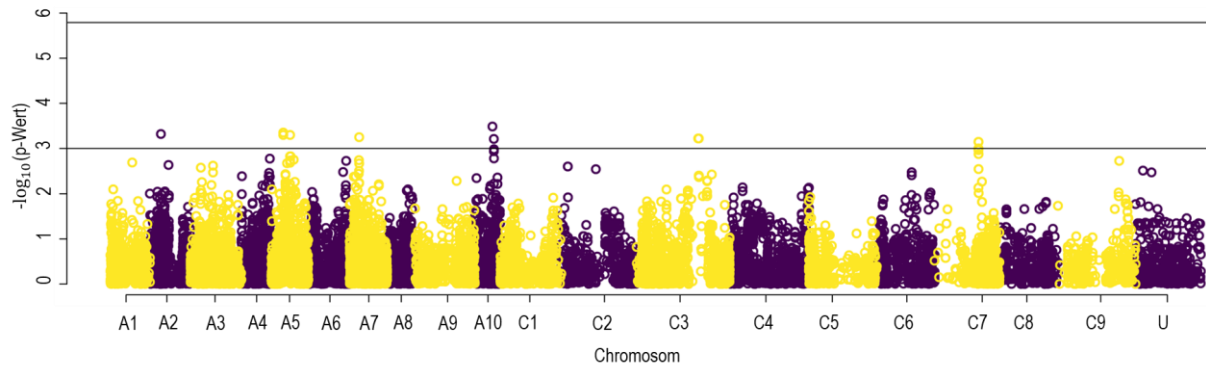


Abbildung 26 Manhattanplot für das Merkmal Methionin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$

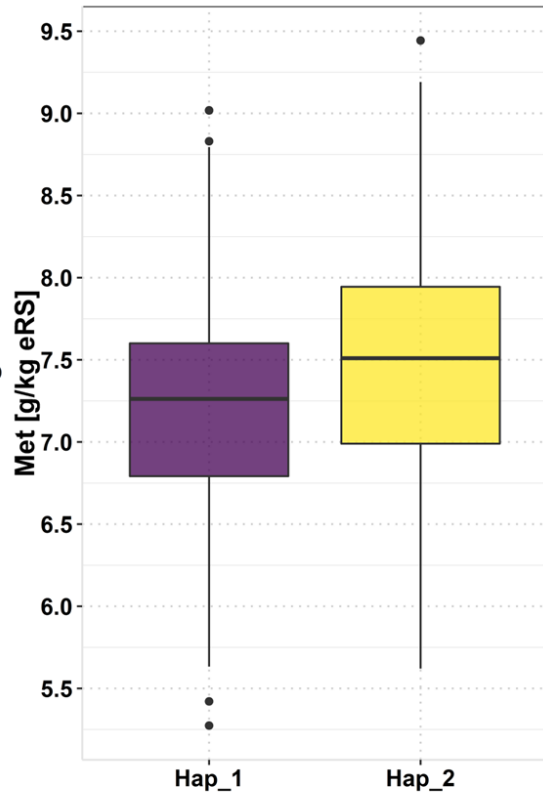
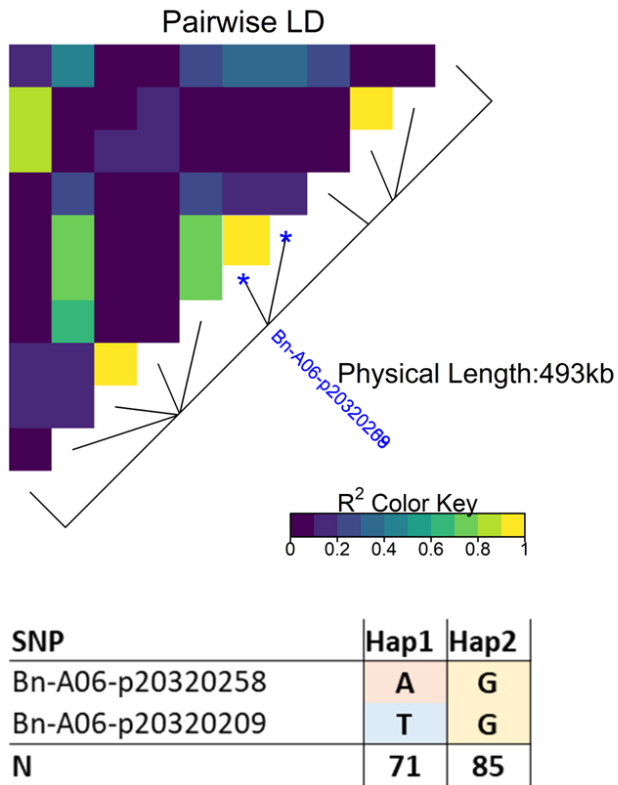


Abbildung 27 Haploblock auf Chromosom A05 für Methionin

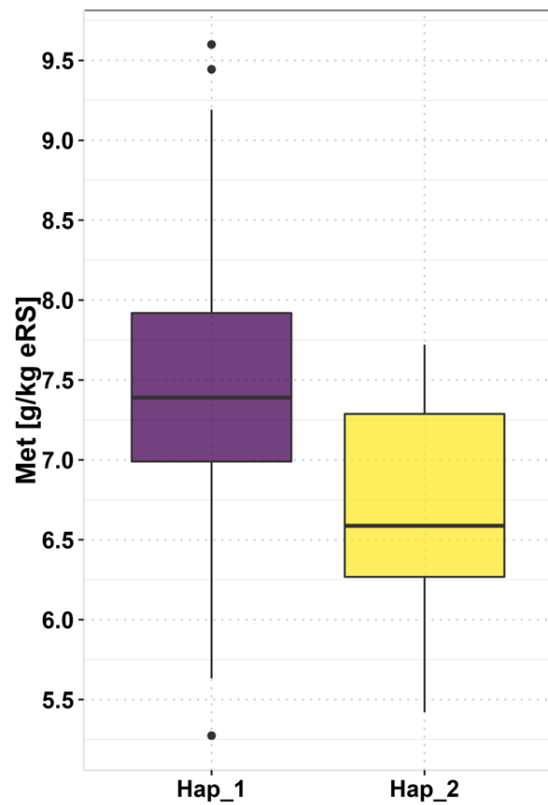
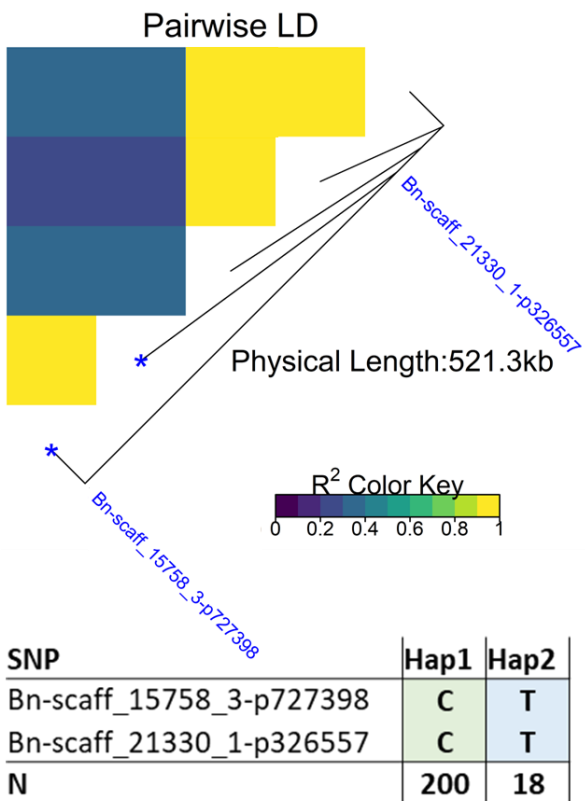


Abbildung 28 Haploblock auf Chromosom C03 für Methionin

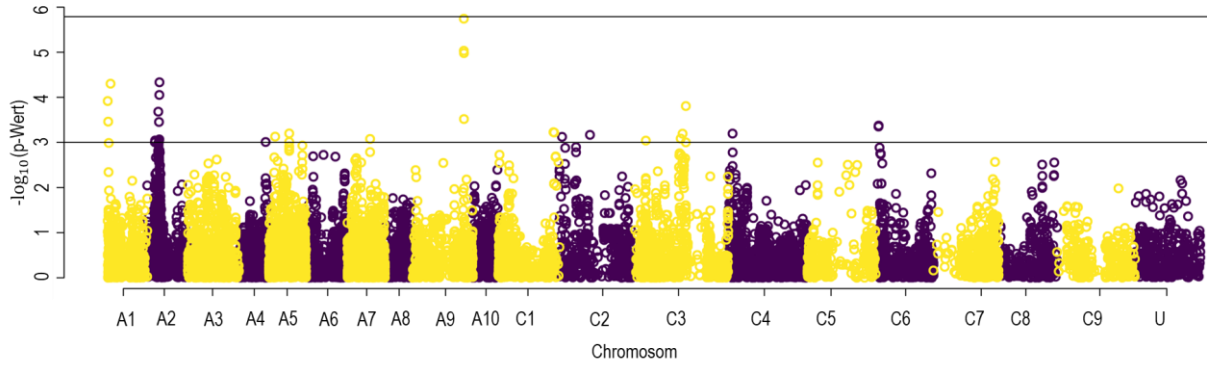


Abbildung 29 Manhattanplot für das Merkmal Prolin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-Wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$

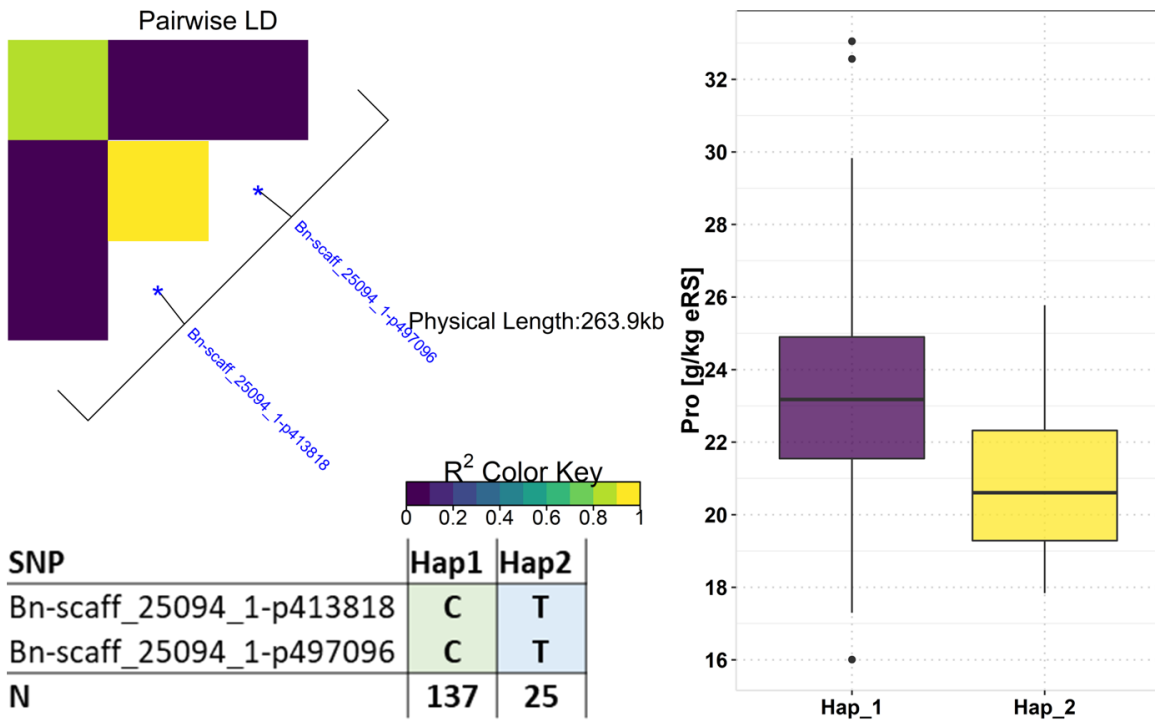


Abbildung 30 Haploblock für Prolin auf Chromosom C06

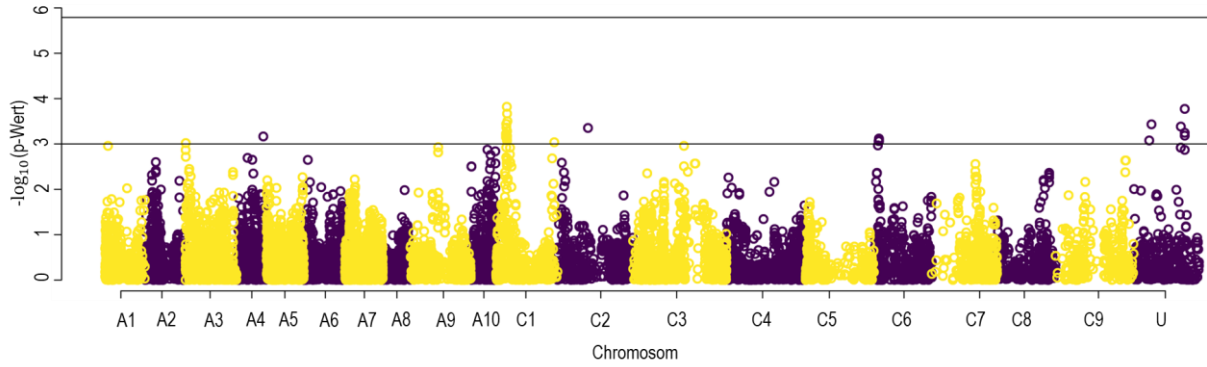


Abbildung 31 Manhattanplot für das Merkmal Serin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-Wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$

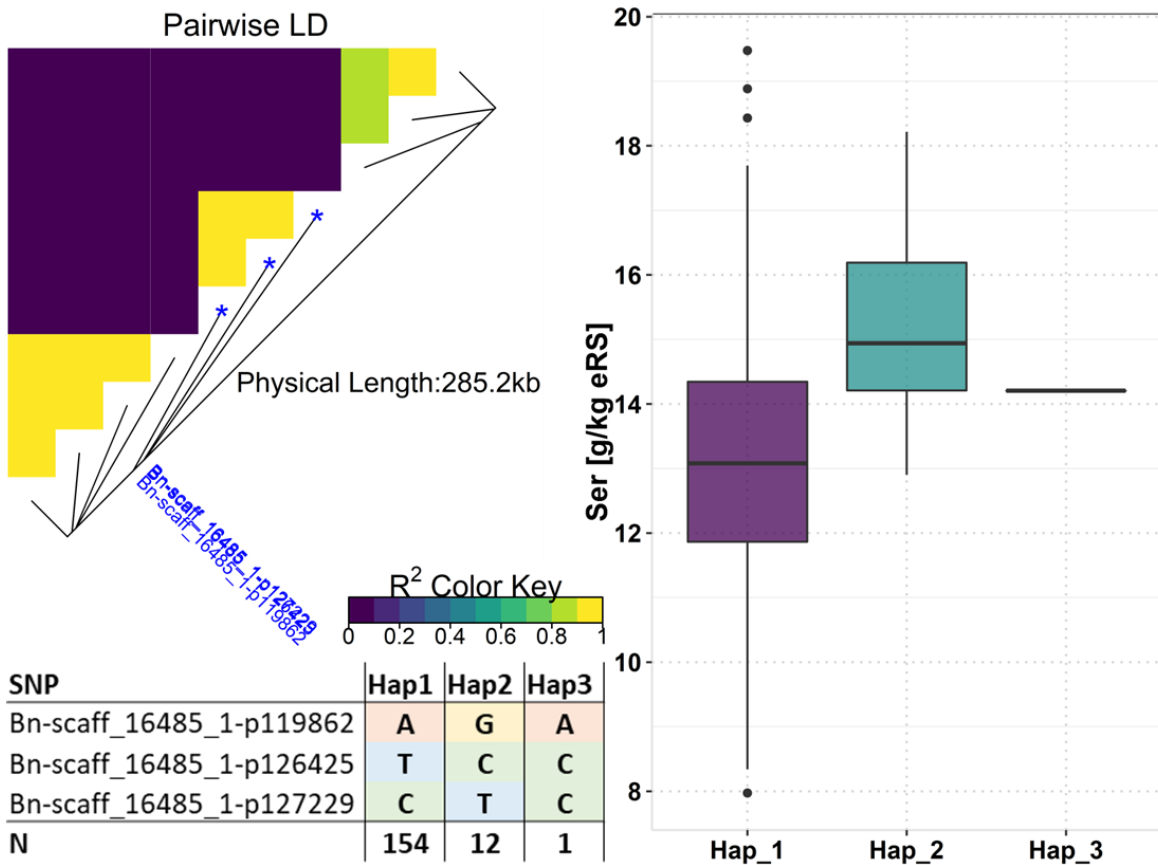


Abbildung 32 Haploblock für Serin auf Chromosom C06

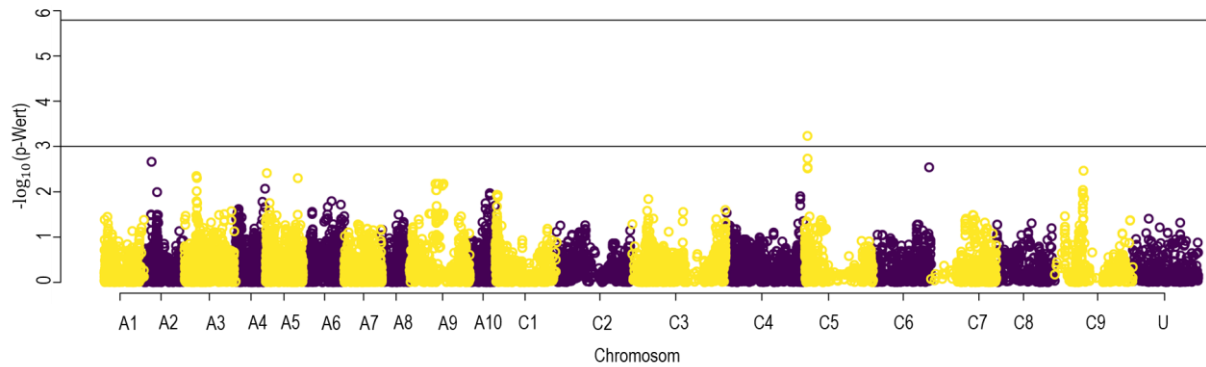


Abbildung 33 Manhattanplot für das Merkmal Taurin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$

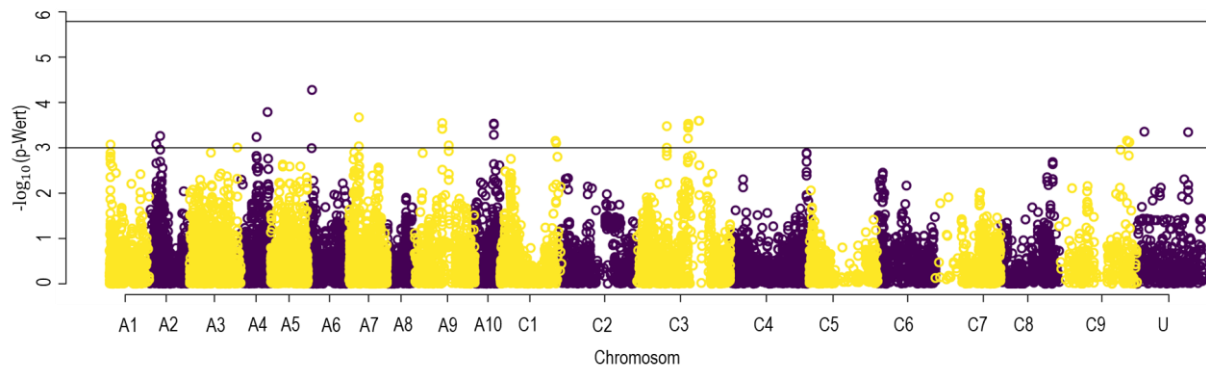


Abbildung 34 Manhattanplot für das Merkmal Threonin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$

3.1.4.4 GWAS Ergebnisse für die Merkmale der essentiellen, semi-essentiellen und nicht-essentiellen Aminosäuregruppen

Für die EAA zeigte die GWAS einen SNP ($-\log_{10}(\text{p-Wert})$) über 3 für die Chromosomen A2, A8 und C2 (Abbildung 35). Im Falle eines hohen LD-Zerfalls in den genannten Regionen wurden Marker, welche ein hohes Gemetenphasenungleichgewicht aufwiesen, auf ihre Haplotypen untersucht. Die am höchsten bewerteten SNP-Marker der jeweiligen Chromosomenregionen sind Bn-A08-p16894122 (Chr A08, Pos. 16739622), Bn-A02-p8190375 (Chr. A02, Pos. 6.747.328) und Bn-scaff_17109_1-p513156 (Chr. C02, Pos. 53,355,699). Die potentiellen Kandidatengene sind BnaA02g13500D und BnaA02g14110D (Tabelle 14). Beide Gene befinden sich auf Chromosom A2 bei etwa 7,4 und 7,9 Mbp. Das Gen BnaA02g13500D mit einem LD von 0,44 zwischen dem Kandidatengen und dem SNP-Marker kodiert das Protein „Threonin-Dehydratase-Chloroplasten-like“, welches an der Synthese von Isoleucin und dem Metabolismus von Threonin beteiligt ist. Da Threonin und Isoleucin beide EAA sind, könnte es ein vielversprechendes Kandidatengen sein. Das zweite identifizierte Kandidatengen (BnaA02g14110D) zeigt einen geringfügigen LD von 0,35 zwischen dem Kandidatengen und dem SNP-

Marker der Assoziationsstudie (Tabelle 14). Das Kandidatengen ist am zellulären Abbauprozess von Aminosäuren beteiligt. Für die EAA wurden zwei Haploblöcke identifiziert, einer auf Chromosom A2 (Abbildung 36), welcher auch für die NEA identifiziert wurde (Abbildung 40), und einer auf Chromosom C2. Der identifizierte Haploblock auf A2 mit zwei Markern (Bn-A02-p8190375, Bn-A02-p8191099), die bei etwa 6,7 Mbp lokalisiert sind, ist in Abbildung 37 gezeigt. Die Marker auf dem Haplotyp Block befinden sich in einem starken Gametenphasenungleichgewicht LD ($> 0,8$). Der Haploblock wird in drei Haplotypen exprimiert: GC, AA, GA. Die ersten beiden Haplotypen zeigen signifikant unterschiedliche Mittelwerte ($p < 0,01$). Der dritte Haplotyp tritt nur einmal auf und zeigt die höchsten EAA-Gehalte. Ein weiterer Haploblock, bestehend aus fünf SNP-Markern, wurde bei Chromosom C2 bei etwa 53,3 Mbp identifiziert. In dem untersuchten Winterraps Diversitätsset konnten zwei Haplotypen im Haploblock gefunden werden: TGGTT (N=100) und GATGC (N=74). Die Mittelwerte beider Haplotypen unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$). Haplotyp 2 zeigt im Mittel einen höheren EAA-Gehalt (Abbildung 37).

Bei den SEA konnte kein SNP Marker über $-\log_{10}(\text{p-Wert}) < 3$ identifiziert werden, wie in Abbildung 38 zu sehen ist.

Für die NEA zeigte die Assoziationsstudie SNP-Maker $-\log_{10}(\text{p-Wert}) < 3$ auf den Chromosomen A2, A8 und A5 (Abbildung 39). Die jeweiligen SNPs sind Bn-A02-p8190375 (Chr. A02, 6.747.328 Bp), Bn-A08-p16894122 (Chr. A08, 16.739.622 Bp) und Bn-A05-p20359553 (Chr. A05, Pos.23.548.937 Bp). Anscheinend teilen sich EAA und NEA die gleichen Peak-SNPs auf den Chromosomen A2 und A8. In Bezug auf die Kandidatengene wurden zwei potenzielle Gene identifiziert, die mit dem SNP assoziiert sind: BnaA02g14110D (Chr. A02, Pos.7.927.952-7.937.557 Bp), welches auch mit den EAA assoziiert ist, und BnaA08g22970D (Chr. A08 Pos. 16.516.197-16.520.512 Bp, LD=0,31) ist das zweite mögliche Kandidatengen. Das Gen kodiert das Protein „d-3-Phosphoglycerat chloroplastic-like“, welches an der Biosynthese von L-Serin, einer nicht-essentiellen Aminosäure, beteiligt ist. Für die NEA wurde der identische Haploblock mit denselben Haplotypen auf Chromosom A2 wie für die EAA (Abbildung 41) gefunden. Auch hier ist Haplotyp 3 nur in einem Genotyp vorhanden und daher nicht bedeutend. Haplotyp 1 steht neben einem höheren EAA-Gehalt auch für einen durchschnittlich höheren NEA-Gehalt.

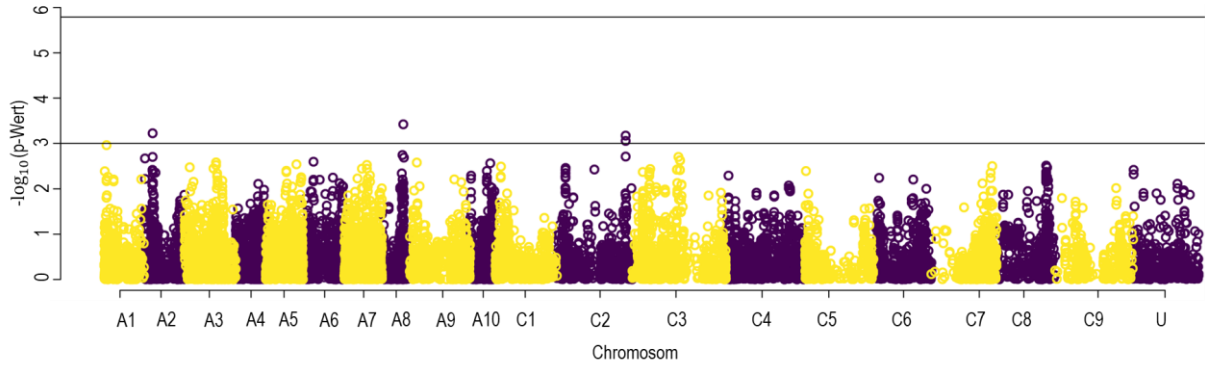


Abbildung 35 Manhattanplot für das Merkmal EAA, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$

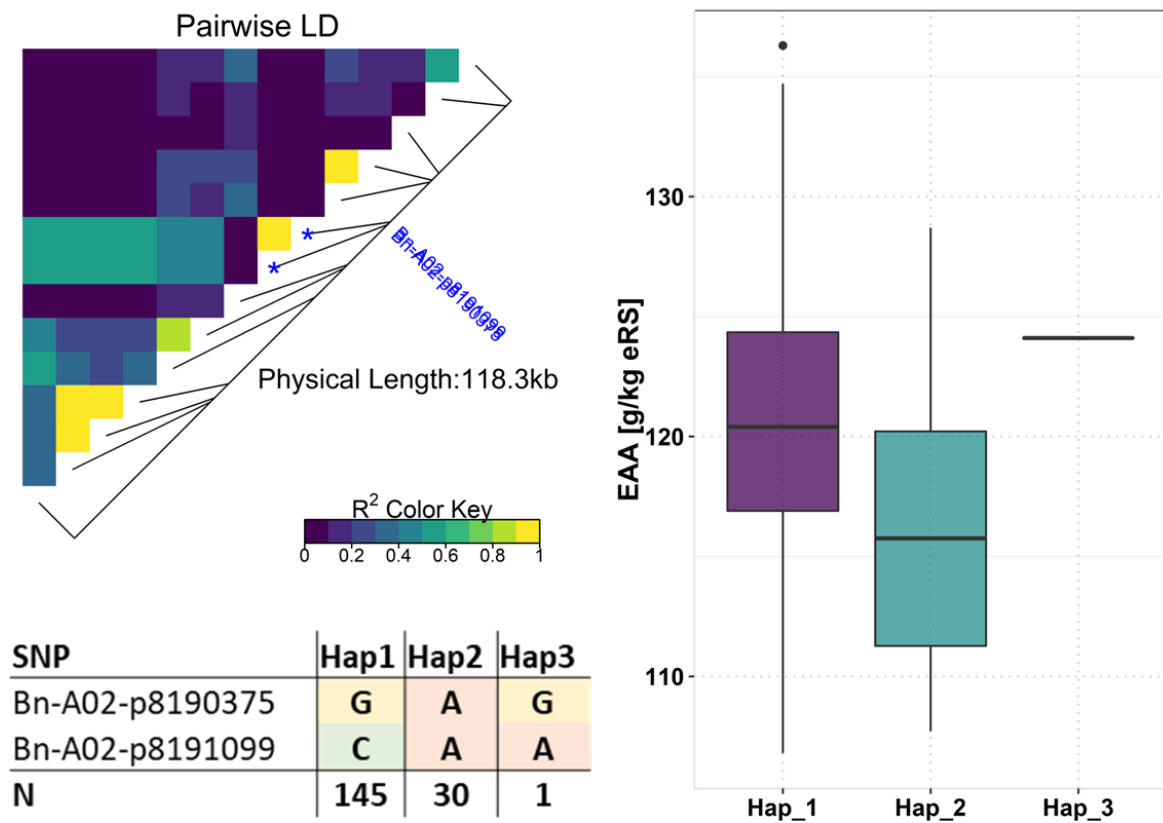


Abbildung 36 Haploblock für EAA auf Chromosom A02

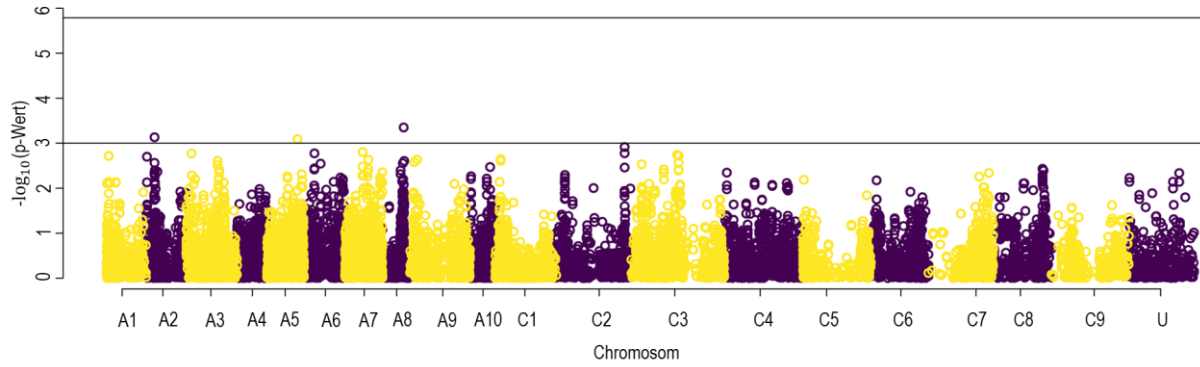


Abbildung 39 Manhattanplot für das Merkmal NEA, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 - \log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 - \log_{10}(\text{p-Wert})$

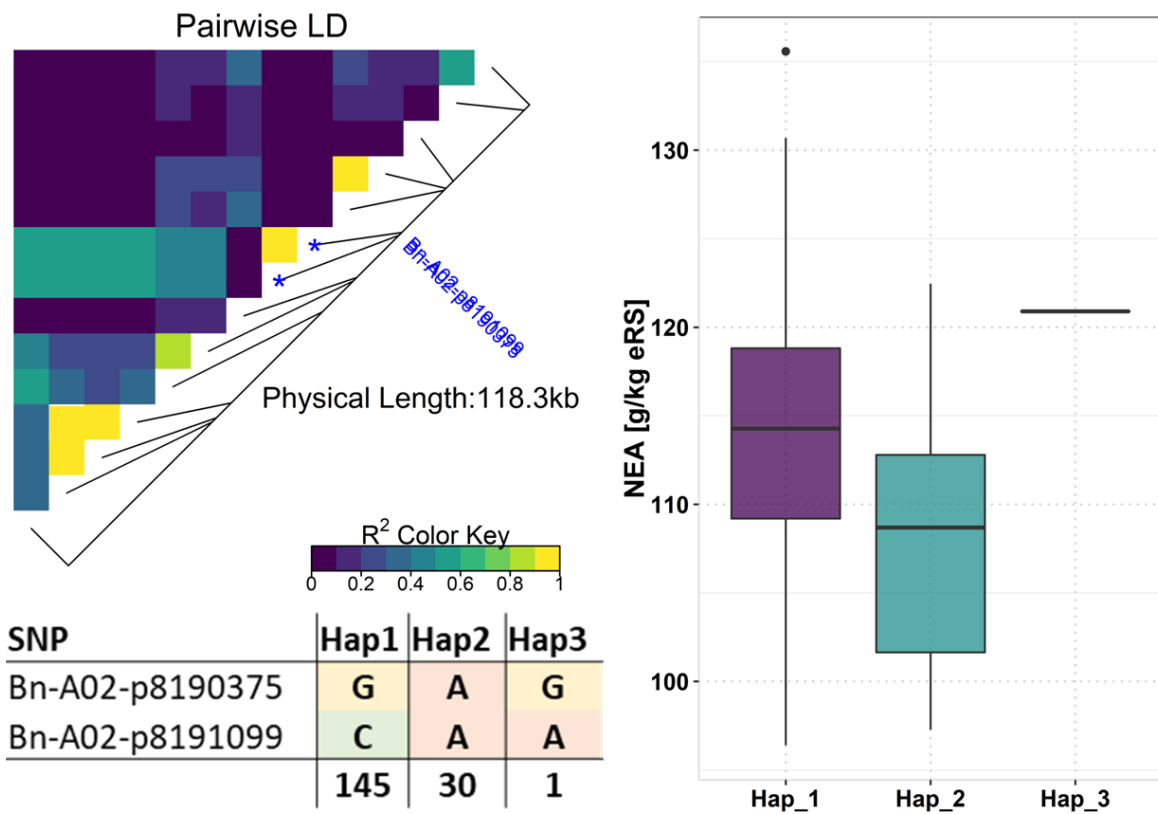


Abbildung 40 Haploblock für NEA auf Chromosom A02

Tabelle 13 Alle SNPs über einem Wert von 3 ($-\log_{10}(\text{p-Wert})$) für die Merkmale EAA und NEA

SNP	Chromosom	Position	$-\log_{10}(\text{p-Wert})$	Merkmal
Bn-A08-p16894122	chrA08	16.739.622	3,421	EAA
Bn-A02-p8190375	chrA02	6.747.328	3,225	EAA
Bn-scaff_17109_1-p513156	chrC02	53.355.699	3,171	EAA
Bn-A08-p16894122	chrA08	16.739.622	3,350	NEA
Bn-A02-p8190375	chrA02	6.747.328	3,131	NEA
Bn-A05-p20359553	chrA05	23.548.937	3,090	NEA

Tabelle 14 Beschreibung der SNPs über 3 ($-\log_{10}(\text{P-Wert})$) für das Merkmal EAA und deren assoziierten Gene, beide auf Chr A02 lokalisiert

SNP GWAS	Gen Funktion			
Bn-A02-p8190375	threonine metabolic process; isoleucine biosynthetic process			
SNP Gen	LD	Chr	Merkmal	Codiertes Protein
Bn-A02-p8678600	0,449	chrA02	EAA	threonine dehydratase chloroplastic-like
Position SNP GWAS	Position SNP Gen	Gen Anfang	Gene Ende	Gen Name
6.747.328	7.429.174	7.426.171	7.426.540	BnaA02g13500D
SNP GWAS	Gen Funktion			
Bn-A02-p8190375	cellular amino acid catabolic process			
SNP Gen	LD	Chr	Merkmal	Codiertes Protein
Bn-A02-p8999771	0,354	chrA02	EAA	protein phyllo
Position SNP GWAS	Position SNP Gen	Gen Anfang	Gen Ende	Gen Name
6747328	7.974.223	7.927.952	7.937.557	BnaA02g14110D

Tabelle 15 Beschreibung der SNPs über 3 ($-\log_{10}(\text{P-Wert})$) für das Merkmal NEA und deren assoziierten Gene, lokalisiert auf Chr A02 und A08

SNP GWAS	Gen Funktion			
Bn-A02-p8190375	cellular amino acid catabolic process			
SNP Gen	LD	Chr	Merkmal	Codiertes Protein
Bn-A02-p8999771	0,354	chrA02	NEA	protein phyllo
position SNP GWAS	Position SNP Gen	Gen Anfang	Gen Ende	Gen Name
6.747.328	7.974.223	7.927.952	7.937.557	BnaA02g14110D
SNP GWAS	Gen Funktion			
Bn-A08-p16894122	L-serine biosynthetic process; amino acid binding			
SNP Gen	LD	Chr	Merkmal	Codiertes Protein
Bn-A08-p16704644	0,318	chrA08	NEA	d-3-phosphoglycerate, chloroplastic-like
position SNP GWAS	Position SNP Gen	Gen Anfang	Gen Ende	Gen Name
16.739.622	16.528.107	16.516.197	16.520.512	BnaA08g22970D

3.1.4.5 GWAS Ergebnisse für den Öl- und Proteingehalt

Für den Proteingehalt wurden sieben Regionen mit $-\log_{10}(\text{p-Wert}) > 3$ identifiziert (Abbildung 41, Tabelle 16). Diese Regionen befinden sich auf den Chromosomen A1, A2, A5, A6, C1, C3 und C4. Der am höchsten bewertete SNP-Marker Bn-A06-p5947781 befindet sich auf Chromosom A6 bei etwa 5,9 Mbp. Die Suche nach interessanten Kandidatengen ergab sieben mögliche Kandidaten, die sich auf den Chromosomen C1, C4, A2 und A6 befinden (Tabelle 17). Die LDs für die jeweiligen Kandidatene zwischen dem Gen und dem SNP-Marker variieren zwischen 0,4 und 1. Die Gene sind an der Funktion des zytosolischen Ribosoms, der Reaktion auf fehlgefaltete Proteine, dem Zusammenbau des Proteasom-Kernkomplexes, Chromatinbindung und der Biosyntheseprozess von Methionin, beteiligt. Die Suche nach Haploblöcken ergab einen Haploblock mit drei Haplotypen auf Chromosom C1 mit zwei beteiligten SNP-Markern (Bn-scaff_15838_5-p1215697, Bn-scaff_15838_5-p1221294) (Abbildung 43). Haplotyp 3 (CT) wird einmal im Diversitätssatz gefunden und daher in der statistischen Prüfung nicht berücksichtigt. Haplotyp 1 und Haplotyp 2 zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Um auf einen Haplotyp zu selektieren, der mit einem höheren Proteingehalt assoziiert ist, empfiehlt sich Haplotyp 1 (TT). Der Trait-Ölgehalt zeigte nur einen SNP-Marker ($-\log_{10}(\text{p-Wert})$) über drei: Bn-A10-p2805505 (Abbildung 42, Tabelle 16). Der Marker befindet sich auf Chromosom C5 im Bereich von 1 Mbp. Es wurden zwei Kandidatene in der Region von 2 Mbp um den SNP-Marker herum identifiziert. Die jeweiligen Gene zeigen eine LD von 0,53 zwischen dem Gen und dem SNP-Marker (A10-p2805505) (Tabelle 17). Die beiden Gene codieren für das Protein „3-Ketoacyl-Synthase 1“, das am sehr langen Fettsäurestoffwechsel, der „Fettsäure-Elongase-Aktivität“ und der Fettsäure-Elongation beteiligt ist.

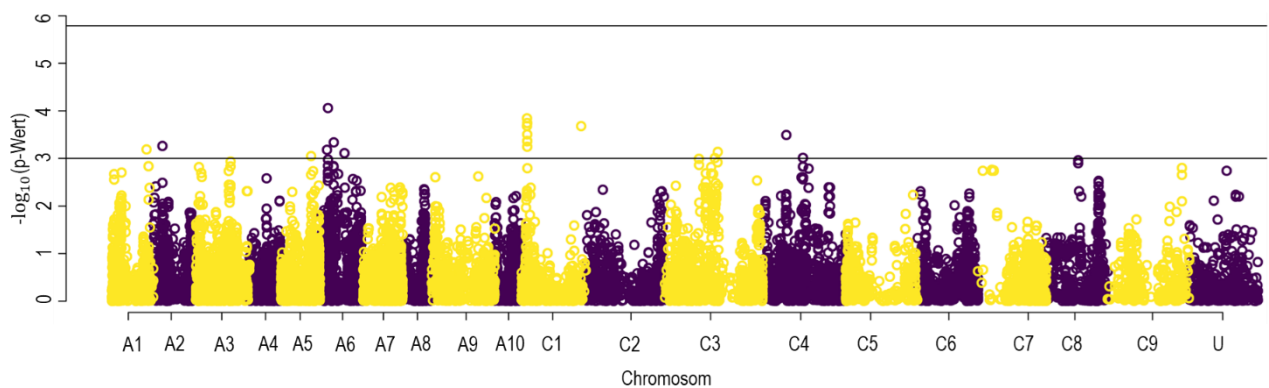


Abbildung 41 Manhattanplot für das Merkmal Proteingehalt, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$

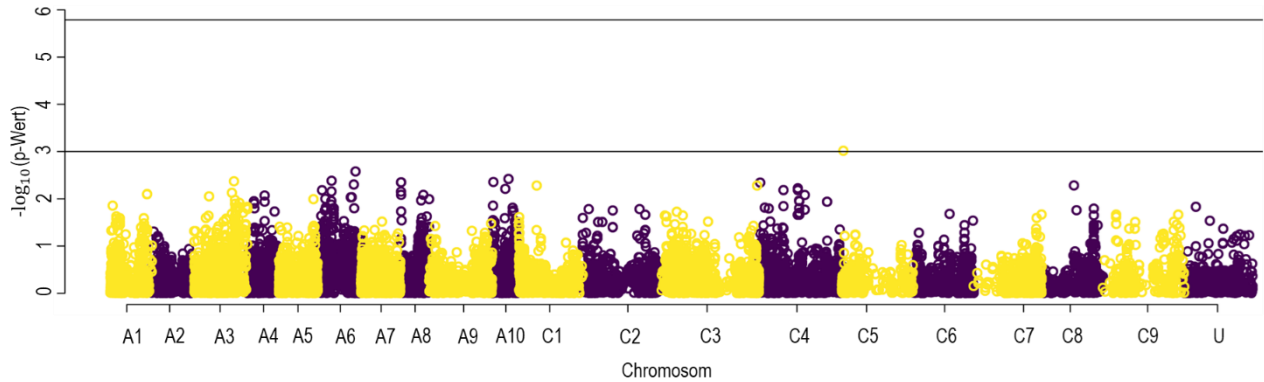


Abbildung 42 Manhattanplot für das Merkmal Ölgehalt, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(\text{p-Wert})$

Tabelle 16 Alle SNPs über einem Wert von 3 ($-\log_{10}(\text{p-Wert})$) für die Merkmale Proteingehalt und Ölgehalt

SNP	Chromosom	Position	$-\log_{10}(\text{p-Wert})$	Merkmal
Bn-A01-p24408637	chrA01	25.462.201	3,187	Protein
Bn-A02-p8190375	chrA02	6.747.328	3,261	Protein
Bn-A05-p18958059	chrA05	22.145.542	3,048	Protein
Bn-A06-p5947781	chrA06	5.976.073	4,059	Protein
Bn-scaff_15838_5-p1215697	chrC01	4.040.739	3,842	Protein
Bn-scaff_18356_1-p292961	chrC03	38.961.805	3,136	Protein
Bn-scaff_27513_1-p8405	chrC04	17.375.180	3,492	Protein
Bn-A10-p2805505	chrC05	1.043.938	3,017	Öl

Tabelle 17 Beschreibung der SNPs über 3 ($-\log_{10}(\text{P-Wert})$) für das Merkmale Protein- und Ölgehalt und deren assoziierten Gene, lokalisiert auf Chr C05 und C01 für den Ölgehalt und auf Chr 04, Chr A02 und A06 für den Proteingehalt

SNP GWAS	Gen Funktion			
Bn-A10-p2805505	very long-chain fatty acid metabolic process; fatty acid elongase activity; fatty acid elongation			
SNP Gene	LD	Chr	Merkmal	Codiertes Protein
Bn-scaff_16414_1-p1636351	0,531	chrC05	Öl	3-ketoacyl-synthase 1
Position SNP GWAS	Position SNP Gen	Gen Anfang	Gen Ende	Gen Name
1.043.938	410.095	404.996	405.679	BnaC05g00770D
SNP GWAS	Gen Funktion			
Bn-A10-p2805505	very long-chain fatty acid metabolic process; fatty acid elongase activity; fatty acid elongation			
SNP Gen	LD	Chr	Merkmal	Codiertes Protein
Bn-scaff_16414_1-p1636351	0,531	chrC05	Öl	3-ketoacyl-synthase 1
Position SNP GWAS	position SNP Gen	Gen Anfang	Gen Ende	Gen Name
1.043.938	410.095	405.733	406.996	BnaC05g00780D
SNP GWAS	Gen Funktion			
Bn-scaff_15838_5-p1215697	cytosolic ribosome			
SNP Gen	LD	Chr	Merkmal	Codiertes Protein
Bn-scaff_15838_5-p1215697	0,911	chrC01	Protein	glycolate oxidase
Position SNP GWAS	position SNP Gen	Gen Anfang	Gen Ende	Gen Name
4040739	4.040.739	4.282.075	4.284.615	BnaC01g08070D
SNP GWAS	Gen Funktion			
Bn-scaff_15838_5-p1215698	cytosolic ribosome			
SNP Gen	LD	Chr	Merkmal	Codiertes Protein
Bn-scaff_15838_5-p1215697	0,911	chrC01	Protein	glycolate oxidase
Position SNP GWAS	Position SNP Gen	Gen Anfang	Gen Ende	Gen Name
4040739	4.040.739	4.284.894	4.287.198	BnaC01g08080D
SNP GWAS	Gen Funktion			
Bn-scaff_27513_1-p8405	response to misfolded protein; proteasome core complex assembly; cytosolic ribosome			
SNP Gen	LD	Chr	Merkmal	Codiertes Protein

Bn-scaff_18717_1-p572052	1,000	chrC04	Protein	20s_proteasome_beta_subunit_g1
Position SNP GWAS	Position SNP Gen	Gen Anfang	Gen Ende	Gen Name
17.375.180	17.283.144	17.267.459	17.269.575	BnaC04g18160D
SNP GWAS	Gen Funktion			
Bn-A02-p8190375	proteasome core complex; cytosolic ribosome;			
SNP Gen	LD	Chr	Merkmal	Codiertes Protein
Bn-A02-p7281627	0,466	chrA02	Protein	20s proteasome subunit pac1
Position SNP GWAS	Position SNP Gen	Gen Anfang	Gen Ende	Gen Name
6.747.328	5.826.780	5.823.217	5.823.726	BnaA02g11180D
SNP GWAS	Gen Funktion			
Bn-A02-p8190375	cytosolic ribosome			
SNP Gen	LD	Chr	Merkmal	Codiertes Protein
Bn-A02-p8313782	0,421	chrA02	Protein	ribulose bisphosphate small subunit
Position SNP GWAS	Position SNP Gen	Gen Anfang	Gen Ende	Gen Name
6.747.328	6.935.807	6.935.323	6.936.505	BnaA02g12840D
SNP GWAS	Gen Funktion			
Bn-A06-p5947781	sequence-specific DNA binding transcription factor activity, cytosolic ribosome; chromatin binding			
SNP Gen	LD	Chr	Merkmal	Codiertes Protein
Bn-A06-p6023926	0,426	chrA06	Protein	protein trf-like 3
Position SNP GWAS	Position SNP Gen	Gen Anfang	Gen Ende	Gen Name
5.976.073	6.056.598	6.090.580	6.093.312	BnaA06g11740D
SNP GWAS	Gen Funktion			
Bn-A06-p5947781	DNA-dependent transcription; methionine biosynthetic process; translation; large ribosomal subunit			
SNP Gen	LD	Chr	Merkmal	Codiertes Protein
Bn-A06-p6091453	0,420	chrA06	Protein	50s ribosomal protein l14-like
Position SNP GWAS	Position SNP Gen	Gen Anfang	Gen Ende	Gen Name
5.976.073	6.124.897	6.115.896	6.117.490	BnaA06g11840D

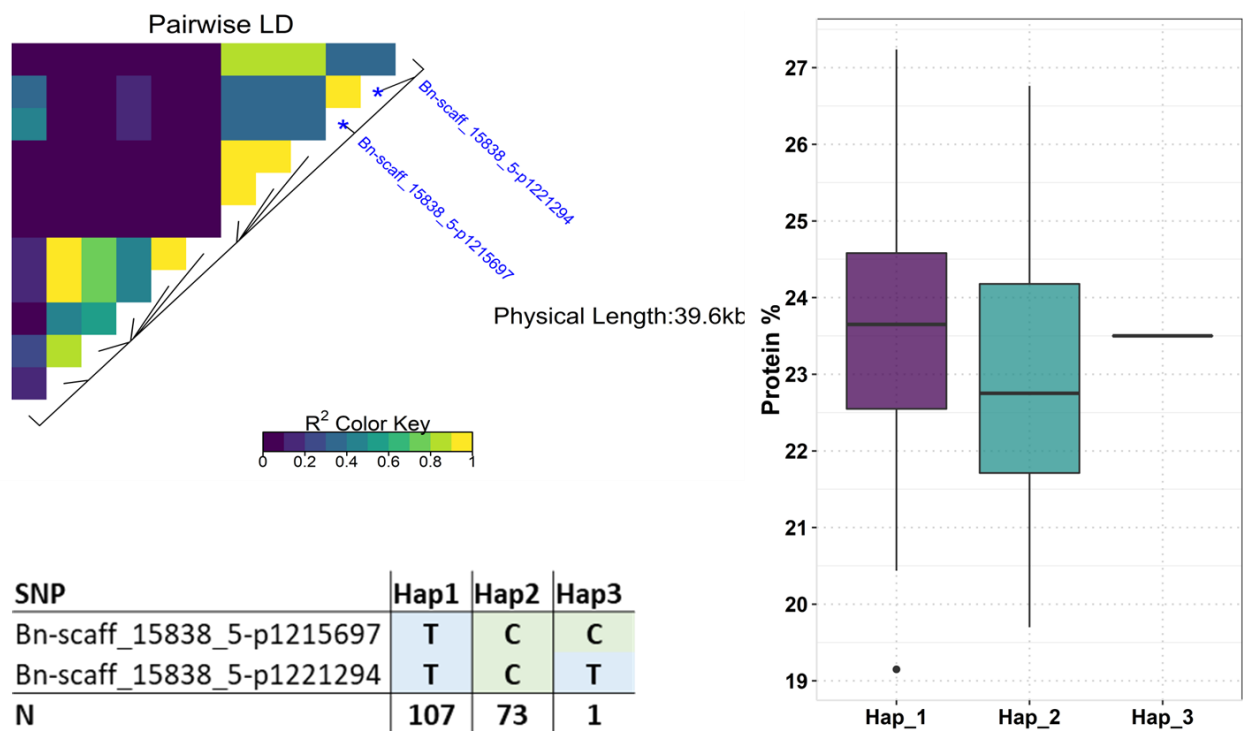


Abbildung 43 Haploblock für den Proteingehalt auf Chromosom C01

3.2 Die Proteinzusammensetzung im Hinblick auf unterschiedliche Stickstoffdüngemengen

Um neben der für die Proteinqualität verantwortlichen Genetik auch den Einfluss der Umweltfaktoren zu berücksichtigen, wurde der Einfluss der Stickstoffdüngung auf die Proteinqualität bei einer kleinen Gruppe von 30 Elitesorten welche in den letzten 25 Jahren ihre Sortenzulassung erhielten, innerhalb von zwei Stickstoffdüngestufen, untersucht. Dazu wurde das Pflanzenmaterial und die Ergebnisse aus Stahl et al. (2017) im Hinblick auf ihre Proteinqualitätseigenschaften analysiert. Stahl et al. (2017) fanden eine Erhöhung des Proteingehalts in der erhöhten Stickstoffdüngung sowie eine erhöhte Flächenproduktivität bei den jüngeren Sorten. Das Pflanzenmaterial wurde nach Sorten mit einem niedrigen Cruciferin:Napin Verhältnis (CNR) gescreent. Ein verringertes CNR würde proportional mehr Napin im Samen bedeuten, welches aufgrund der schwefelhaltigen Aminosäuren der Proteinfraction Cruciferin eine ernährungsphysiologische höhere biologische Wertigkeit besitzt. Generell ist Cruciferin reich an Methionin und Lysin, wohingegen Napin höhere Mengen an Glutamin, Prolin und Cystein aufweist (Bos et al. 2007). Das Histogramm in Abbildung 44 zeigt die Bandbreite des CNRs, welches in den 30 Sorten in den zwei Jahren und an zwei Standorten ermittelt wurde. Das Verhältnis reduzierte sich während der hohen Stickstoffdüngestufe (HN) in Asendorf in beiden Jahren, in Moosburg 2016 und in Rauschholzhausen 2015. Der Mittelwert des Verhältnisses sank in der HN von 1,75 auf 1,68

(siehe Tabelle 18). Dennoch wurde das niedrigste CNR innerhalb der niedrigen Stickstoffdüngestufe (LN) (0,61) gefunden. Für das Merkmal CNR lag die Heritabilität im weiteren Sinne bei 0,65 und die Varianzanalyse zeigte hoch signifikante Unterschiede ($p=0,01$) der CNRs unter den untersuchten Genotypen. Die Stickstoffdüngung hingegen scheint nur einen geringen Einfluss auf das CNR zu haben ($p < 0,1$). In der HN wurde ein starker Zusammenhang ($r^2=0,7$) zwischen dem CNR und dem Cruciferingehalt festgestellt. Das bedeutet, dass bei der höheren Stickstoffdüngung eine Erhöhung des Cruciferins automatisch auch das CNR erhöht. Im LN zeigten sich negative Korrelationen für das CNR mit Napin ($r^2=-0,61$) und dem Proteinertrag ($r^2=-0,3$) (Abbildung 45). Beide Ergebnisse weisen darauf hin, dass ein Anstieg des CNRs zu einer Abnahme der Proteinausbeute und des Napingehalts führen. Die Varianzanalyse für die Sortengruppen (alte und neue Hybride und Linien) zeigt nur geringe signifikante Effekte der Stickstoffdüngung (Tabelle 19). Der Cruciferingehalt zeigt in der HN ein höheres Minimum, Maximum und Mittel. Dies ist zu erwarten, da Stickstoff ein unverzichtbares Element für die Proteinfraction ist und Cruciferin in modernen Elitesorten etwa 60% des Speicherproteins stellt. Die Heritabilität wurde mit $h^2=0,35$ berechnet und die Varianzanalyse zeigt, dass die Genotypen signifikante Unterschiede in ihrem Cruciferingehalt aufweisen und weiterhin auch auf die Stickstoffdüngung unterschiedlich reagieren (Tabelle 18). Die errechneten Korrelationen zeigen, dass der Cruciferingehalt im LN negativ mit dem Proteinertrag ($r^2=-0,2$), dem Samenertrag ($r^2=-0,31$) und dem Sortenzulassungsjahr ($r^2=-0,28$) (Abbildung 45) korreliert ist. Die negative Korrelation mit dem Sortenzulassungsjahr deutet darauf hin, dass die später zugelassenen Sorten bei geringer Stickstoffdüngung einen eher reduzierten Cruciferingehalt aufweisen. Für die praktische Landwirtschaft ist dies positiv zu bewerten, denn sie ist bestrebt die Menge der Stickstoffdüngung bei gleichbleibenden Erträgen zu reduzieren, um überschüssigen Stickstoff in der Umwelt zu vermeiden. Dieser Zusammenhang ist in Abbildung 53 detaillierter dargestellt. Überraschenderweise ist der Napingehalt für die Genotypen in den hier untersuchten Versuchen vollständig umweltabhängig, welches im Umkehrschluss die große Bedeutung der Stickstoffdüngung als Umwelt, beimitst. Bei der Varianzanalyse der Hybrid- gegen die Liniensorten, wurde eine Heritabilität im weiteren Sinne in der LN von $H^2=0,37$ festgestellt (Tabelle 19). Darüber hinaus zeigten sich signifikante Umweltinteraktionen zwischen der Stickstoffdüngung und den Genotypen. Das bedeutet, dass sich die Stickstoffdüngung bei getesteten Genotypen unterschiedlich auf den Napingehalt auswirkte. Die Streudiagramme (Abbildungen 46-48) zeigen Korrelationen zwischen dem Proteingehalt, den Proteinfractionen und dem CNR detaillierter. Bei der HN zeigt sich, dass beide Proteinfractionen höhere Gehalte als in der LH aufweisen, was durch den zusätzlich verfügbaren Stickstoff erklärt werden kann. Das CNR bleibt mit einer leichten Verringerung ähnlich. Dieser Trend ist auch in Abbildung 52 erkennbar. Alle Sortengruppen zeigen eine leichte Reduktion des CNR. Besonders die neuen Linien und Hybriden zeigen ein dichteres Muster: Die meisten Genotypen liegen enger um den Mittelwert gestreut. Diese

Beziehung wird in den Abbildungen 52 bis 54 weiter untersucht, wo die neueren registrierten Sorten (ab 2011) ein reduziertes CNR aufweisen. Die Gehalte an Cruciferin und Napin (dargestellt in Abbildung 53 und 54) bestätigen diesen Befund: Der absolut gemessene Gehalt von Cruciferin zeigt seit 2011 einen Rückgang, während beim Gehalt von Napin ab 2011 ein leichter Aufwärtstrend zu verzeichnen ist.

3.2.1 Haplotypen der Elitesorten für die im Winterrapsdiversitätsset gefundenen Haploblöcke

In der Zusammenstellung der Elitesorten wurden jeweils die gleichen Haplotypen der Haploblöcke gefunden, welche im Winterraps Diversitätsset identifiziert werden konnten. Die Verteilung der Haplotypen ist derjenigen im Winterraps Diversitätsset ebenfalls ähnlich: Hap1 kommt am häufigsten vor, Hap3 und Hap4 sind dagegen in den Elitesorten gar nicht vertreten. Die einzige Ausnahme stellt der Haploblock für Methionin auf Chromosom A5 dar: Hier ist Hap2 in der Häufigkeit Hap1 in allen neuen/alten Linien und Hybriden überlegen. Dieses Ergebnis ist als sehr positiv zu bewerten, da Hap2 in diesem Haploblock im Mittel auch die höchste Merkmalsausprägung und damit die im Mittel höchsten Methioningehalte zeigt. Bei den Haploblöcken für Protein auf Chromosom C1, Prolin auf C6, Arginin und Methionin auf C3 ist jeweils der Haplotyp mit der stärksten Merkmalsausprägung (Hap1) am häufigsten. Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 21 dargestellt.

Tabelle 18 Deskriptive Statistik für die Merkmale Cruciferin, Napin und CNR, unterschieden nach niedriger (N1) und hoher (N2) Stickstoffdüngestufe für das Minimum (Min), Maximum (Max) dem Mittelwert (Mittel) und der Kovarianz (CoV)

Merkmal	N1				N2				Genotyp	Genotyp x N	N	H ²
	Min	Max	Mittel	CoV	Min	Max	Mittel	CoV				
Cruciferin µg/µL	0,3	3,25	1,86	0,29	0,98	3,98	2,25	0,24	*	-	***	0,35
Napin µg/µL	0,37	2,00	1,09	0,27	0,61	2,00	1,36	0,19	.	**	***	0,00
Cruciferin:Napin	0,61	3,69	1,75	0,27	0,75	2,97	1,68	0,24	***	-	.	0,65

Tabelle 19 Varianzanalyse (Gruppe), die Umwelt (N), Gruppen und Genotyp-Interaktion und Heritabilität (H²) für die Merkmale Cruciferin, Napin und CNR für die Gruppen der neuen/alten Hybriden und Linien in der niedrigen (N1) und hohen (N2) Stickstoffdüngestufe

Merkmal	N1 H ²	N2 H ²	Gruppe	Gruppe x N	N
Cruciferin µg µL ⁻¹	0,08	0,40	-	-	***
Napin µg µL ⁻¹	0,37	0,00	-	-	***
CNR	0,41	0,34	-	-	.

Tabelle 20 Haplotypen der gefundenen Haploblöcke für die Winterrapselitesorten, aufgeteilt nach neuen/alten Hybriden und Linien und die respektiven Haplotypen (Hap); grau unterlegt sind die Haplotypen, welche die stärkste Merkmalsausprägung zeigen

Haploblock	neue Hybriden (N=14)				alte Hybriden (N=6)				neue Linien (N=5)				alte Linien (N=5)				Haplotypen			
	Hap1	Hap2	Hap3	Hap4	Hap1	Hap2	Hap3	Hap4	Hap1	Hap2	Hap3	Hap4	Hap1	Hap2	Hap3	Hap4	Hap1	Hap2	Hap3	Hap4
Napin A9	5	1	0	0	3	0	0	0	4	1	0	0	2	2	0	0	AC	CA	CC	AA
Protein C1	8	2	0	-	4	0	0	-	4	0	0	-	2	2	0	-	TT	CC	CT	-
EAA A2	8	0	0	-	3	0	0	-	5	0	0	-	3	1	0	-	GC	AA	GA	-
EAA C2	2	1	-	-	0	1	-	-	3	2	-	-	3	1	-	-	TGGTT	GATGC	-	-
NEA A2	8	0	0	-	3	0	0	-	5	0	0	-	3	1	0	-	GC	AA	GA	-
Alanin A2	5	2	0	-	2	0	0	-	3	1	0	-	3	1	0	-	AG	GA	GG	-
Arginin A7	6	0	-	-	2	0	-	-	3	2	-	-	3	1	-	-	GA	AG	-	-
Arginin C3	11	0	-	-	4	0	-	-	5	0	-	-	4	1	-	-	CTG	TCT	-	-
Methionin A5	0	4	-	-	0	1	-	-	2	3	-	-	1	2	-	-	AT	GC	-	-
Methionin C3	10	0	-	-	3	1	-	-	5	0	-	-	3	1	-	-	CC	TT	-	-
Prolin C6	7	1	-	-	2	1	-	-	3	1	-	-	4	1	-	-	CC	TT	-	-
Serin C6	12	1	-	-	6	0	-	-	3	2	-	-	5	0	-	-	ATC	GCT	ACC	-

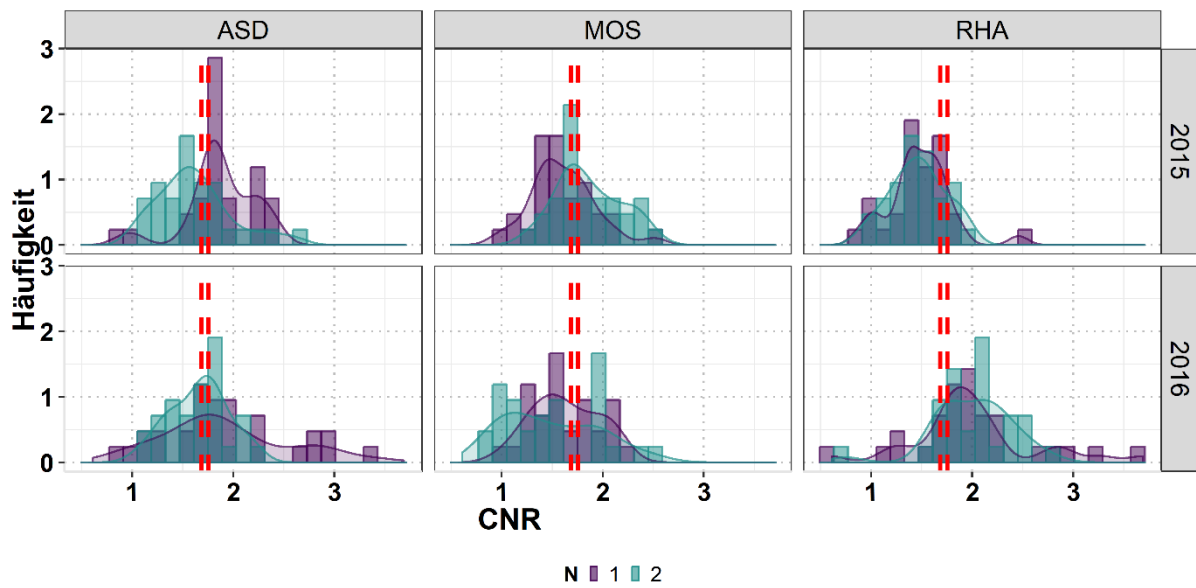


Abbildung 44 Verteilung des CNR (Cruciferin:Napin Verhältnisses) im Winterrapsetleset für drei Standorte (ASD Asendorf, MOS Moosburg, RHA Rauschholzhausen) und zwei Jahre (2015, 2016), in niedriger (N1, violett) und hoher (N2, grün) Stickstoffdüngestufe

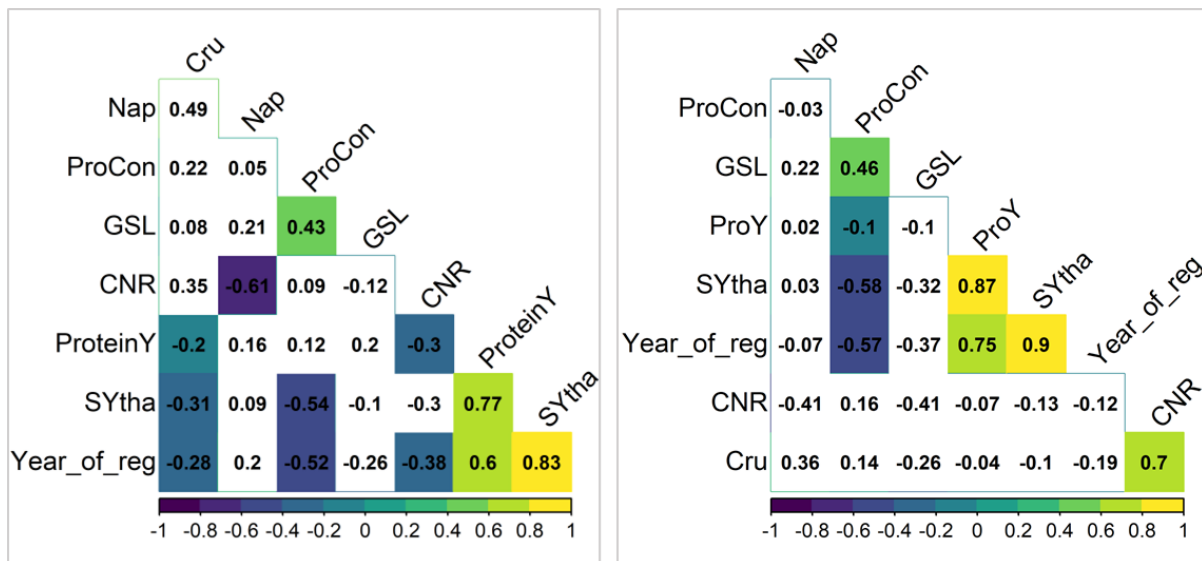


Abbildung 45 Pearson Korrelationskoeffizienten in der niedrigen (N1, links) und hohen (N2, rechts) Stickstoffdüngestufe für den Cruciferin (Cru)- und Napingehalt (Nap), das Cruciferin:Napin-Verhältnis (CNR), den Proteingehalt (ProCon), die Glucosinolate (GSL), den Proteinertrag (ProteinY), der Samenertrag (SYtha), das Zulassungsjahr (Year_of_reg); alle signifikanten Korrelationen sind farblich hinterlegt; Daten sind aus zwei Jahren (2015, 2016) und drei Standorten (Asendorf, Moosburg, Rauschholzhausen)

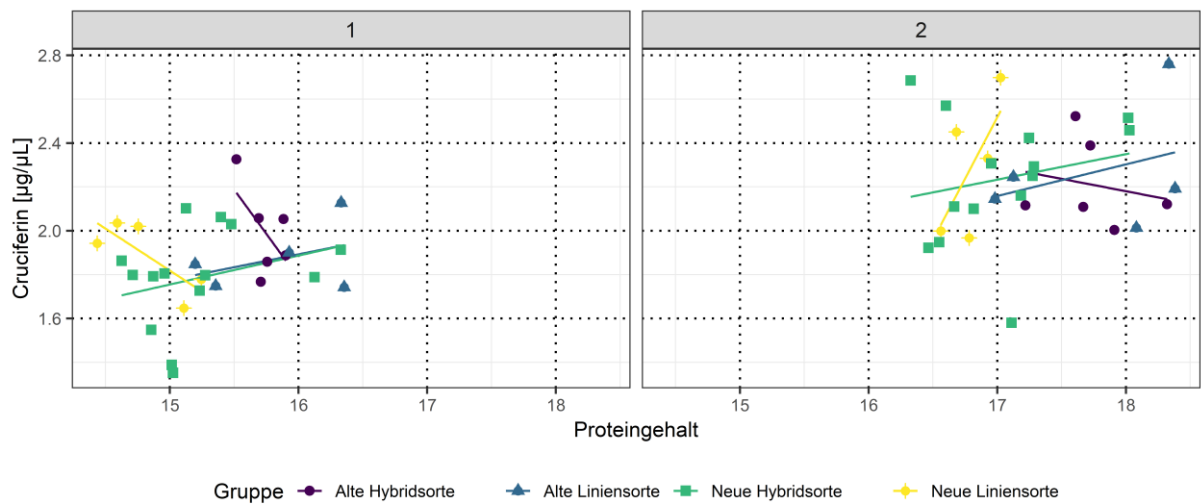


Abbildung 46 Korrelation des Cruciferingehalts [$\mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$] mit dem Proteingehalt [% des Samens] in der niedrigen (N1, links) und hohen (N2, rechts) Stickstoffdüngestufe im Winterrapseliteset, unterteilt nach neuen/alten Linien und Hybriden

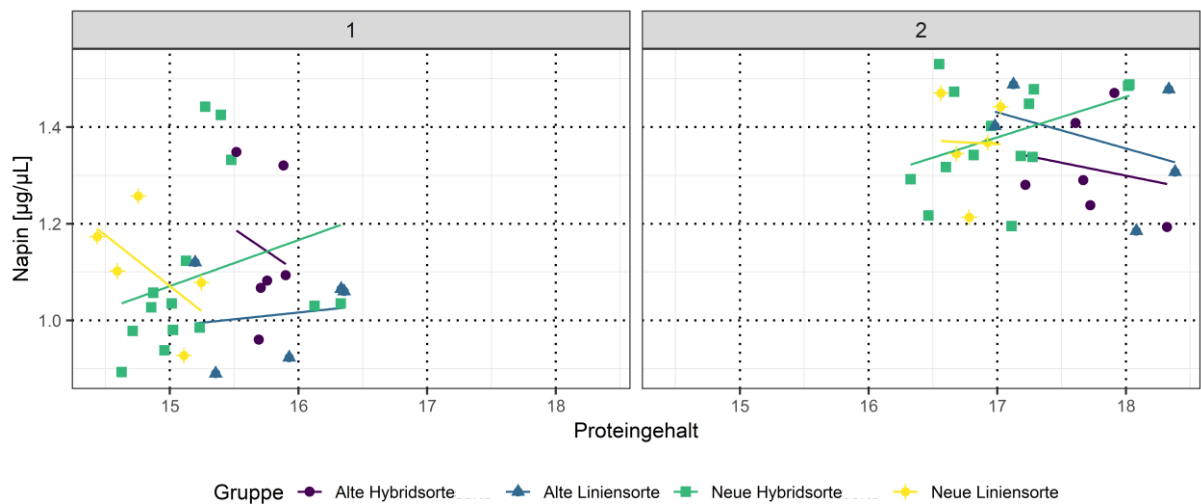


Abbildung 47 Korrelation des Napingehalts [$\mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$] und Proteingehalt [% des Samens], in der niedrigen (N1, links) und der hohen (N2, rechts) Stickstoffdüngestufe, aufgeteilt nach neuen/alten Linien und Hybriden

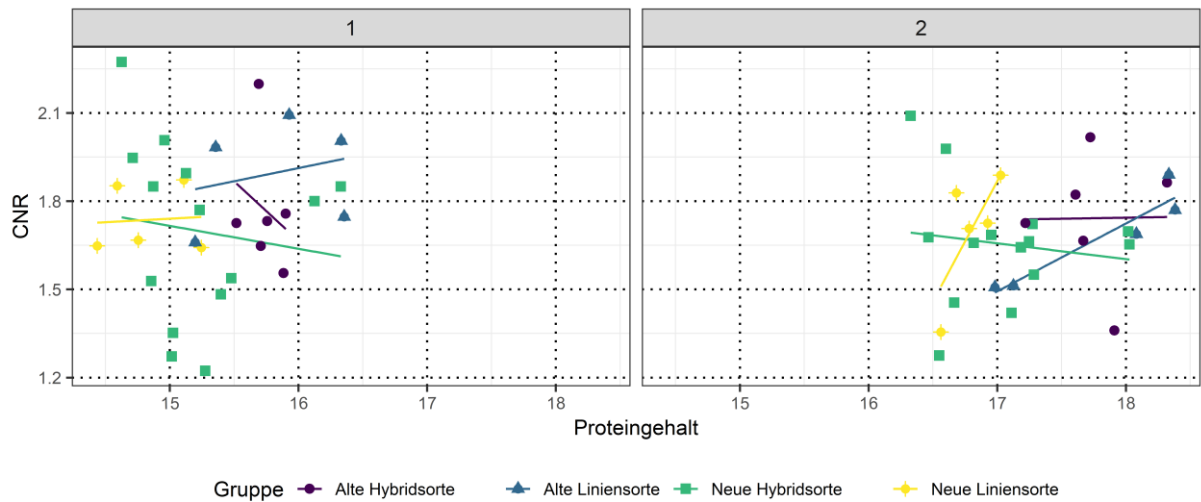


Abbildung 48 Korrelation des Cruciferin:Napin-Verhältnisses mit dem Proteingehalt [% des Samens], in der niedrigen (N1, links) und hohen (N2, rechts) Stickstoffdüngestufe, unterteilt nach den Gruppen der neuen/alten Linien und Hybriden

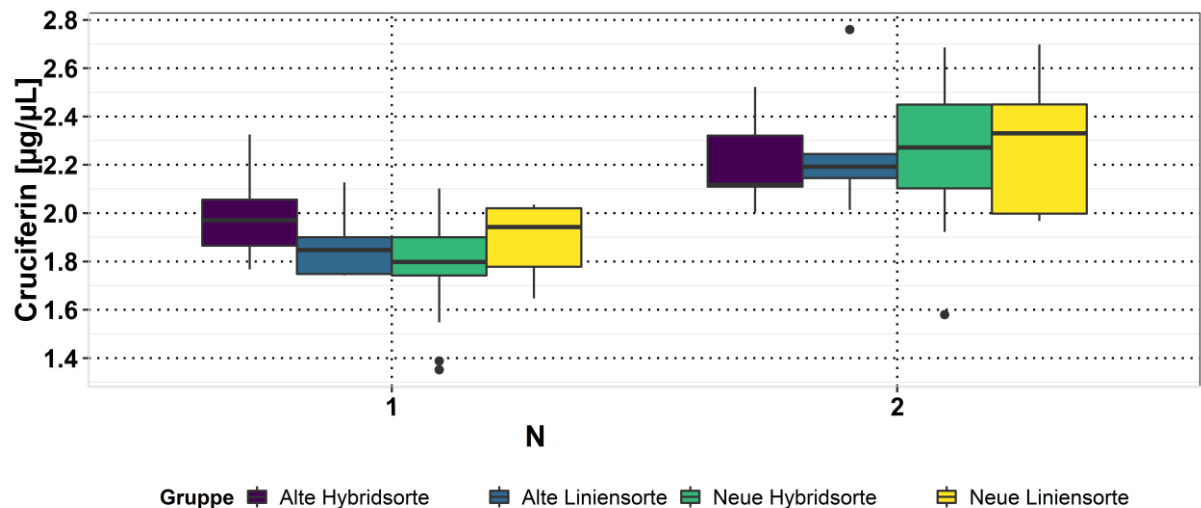


Abbildung 49 Die Boxplots zeigen den Napingehalt [$\mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$] für die niedrige (N1, links) und hohe (N2, rechts) Stickstoffdüngestufe, unterschieden nach alten/neuen Linien und Hybriden; Daten stammen aus zwei Jahren (2015, 2016) und drei Standorten (Asendorf, Moosburg, Rauschholzhausen)

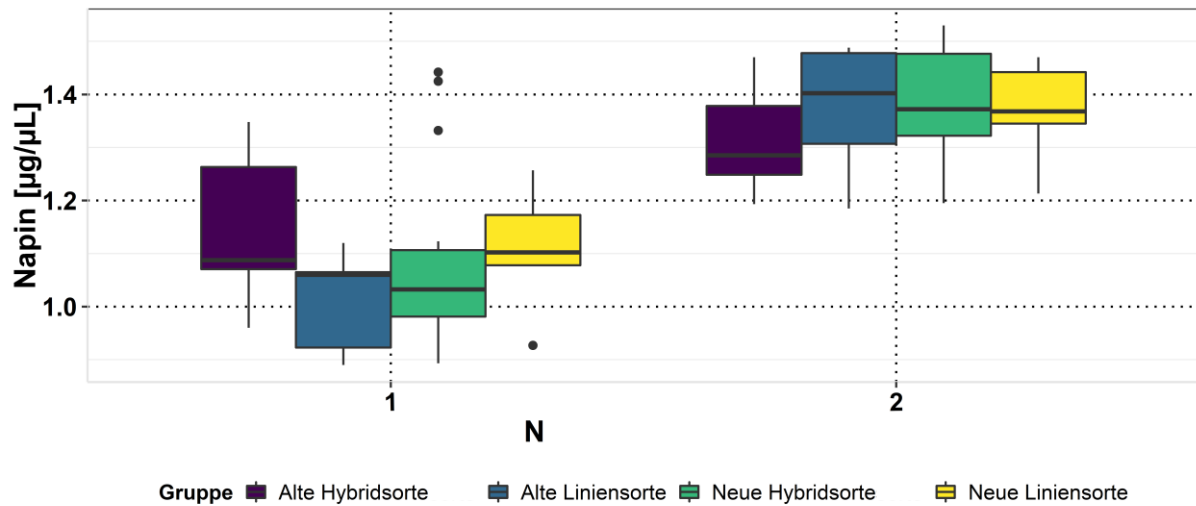


Abbildung 50 Boxplots zeigen den Cruciferingehalt [$\mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$] in der niedrigen (N1, links) und der hohen (N2, rechts) Stickstoffdüngestufe, unterschieden nach neuen/alten Linien und Hybriden; Daten stammen aus zwei Jahren (2015, 2016) und drei Standorten (Asendorf, Moosburg, Rauschholzhausen)

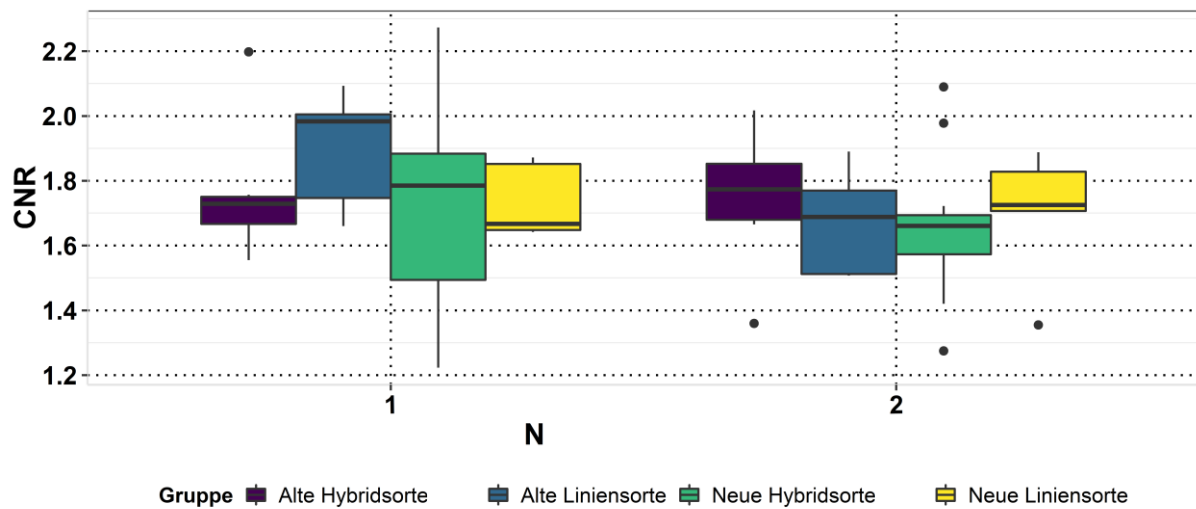


Abbildung 51 Boxplots zeigen das Cruciferin:Napin Verhältnis in der niedrigen (N1, links) und der hohen (N2, rechts) Stickstoffdüngestufe der alten/neuen Linien und Hybriden; Daten stammen aus zwei Jahren (2015, 2016) und drei Standorten (Asendorf, Moosburg, Rauschholzhausen)

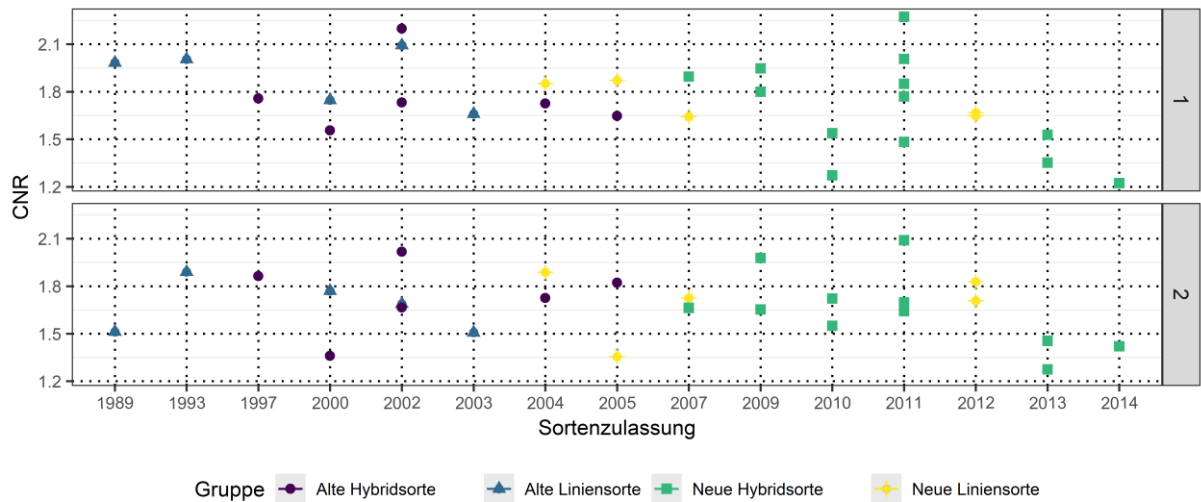


Abbildung 52 Korrelation des Cruciferin:Napin Verhältnisses mit dem Zulassungsjahr für die niedrige (N1, oben) und die hohe (N2, unten) Stickstoffdüngestufe, die Genotypen sind unterschieden nach neuen/alten Linien und Hybriden; Daten stammen aus zwei Jahren (2015, 2016) und drei Standorten (Asendorf, Moosburg Rauschholzhausen)

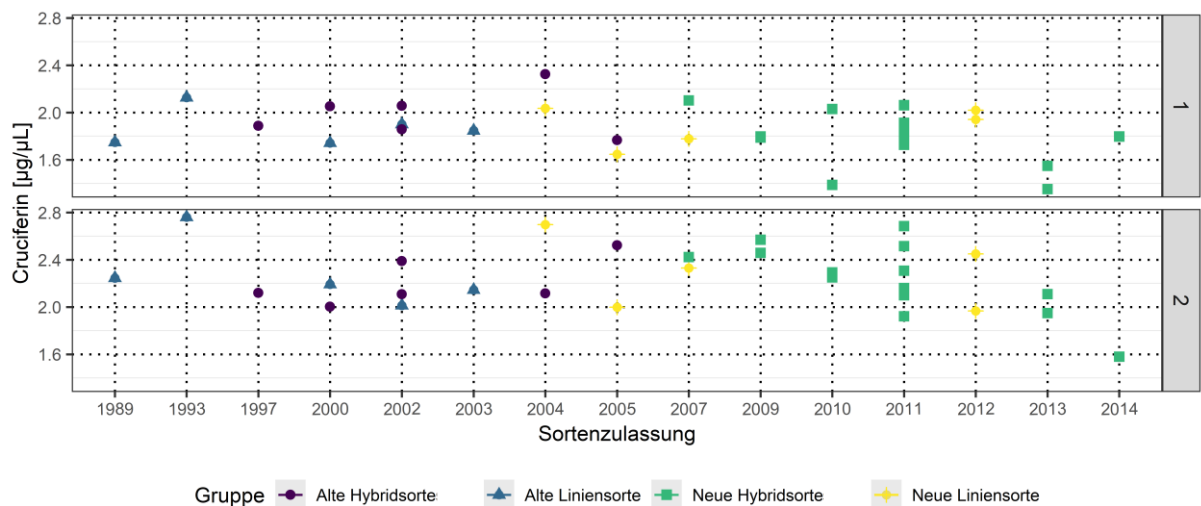


Abbildung 53 Korrelation zwischen dem Cruciferingehalt [$\mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$] und dem Jahr der Sortenzulassung in der niedrigen (N1, oben) und der hohen (N2, unten) Stickstoffdüngestufe, unterschieden nach neuen/alten Linien und Hybriden; Daten stammen aus zwei Jahren (2015, 2016) und drei Standorten (Asendorf, Moosburg, Rauschholzhausen)

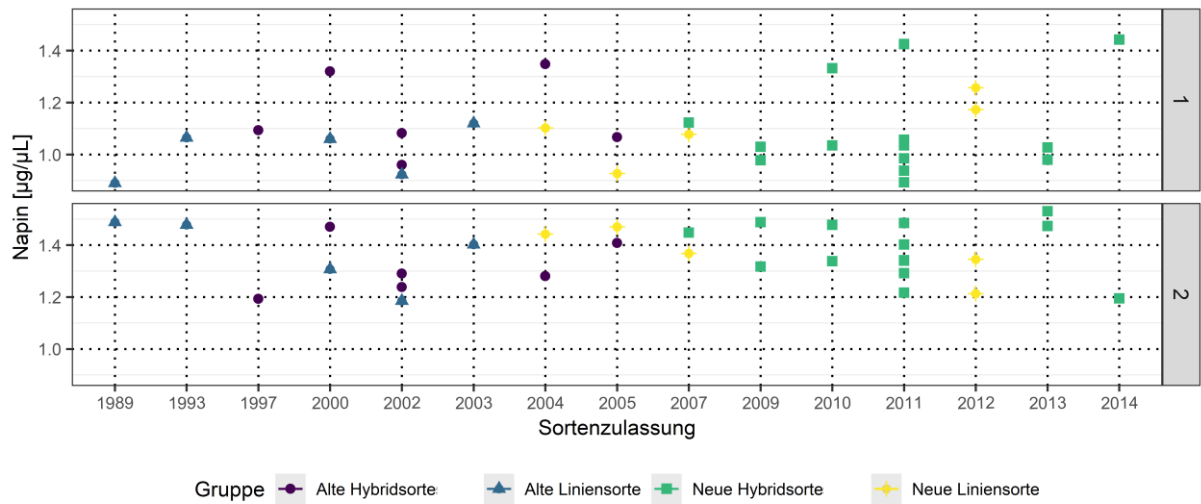


Abbildung 54 Korrelation zwischen dem Napingehalt [$\mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$] und dem Jahr der Sortenzulassung in der niedrigen (N1, oben) und hohen (N2, unten) Stickstoffdüngestufe, unterschieden nach neuen/alten Linien und Hybriden; Daten stammen aus zwei Jahren (2015, 2016) und drei Standorten (Asendorf, Moosburg Rauschholzhausen)

4. Diskussion

4.1 Die Proteinqualität und ihr ernährungsphysiologischer Wert im Winterrapsdiversitätsset

4.1.1 Samenspeicherproteinfraktionen Cruciferin und Napin

Im Winterrapsdiversitätsset konnte eine große Variabilität des Cruciferingehalts festgestellt werden: $0,61 \mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$ bis $4,37 \mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$ und im Mittel $1,84 \mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$. Die Napingehalte lagen zwischen $0,28 \mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$ und $2,34 \mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$, mit einem Mittelwert von $1,33 \mu\text{g} \times \mu\text{L}^{-1}$. Das Cruciferin:Napin-Verhältnis zeigt einen Mittelwert von 1,5, ein Minimum von 0,36 und ein Maximum von 3,83. Die große Bandbreite der Cruciferin- und Napingehalte lässt sich durch das sehr vielfältige genetische Material der BnASSYST-Akzessionen und deren unterschiedliche Qualitätsstufen in hohen und niedrigen Gehalten an Erucasäure und Glucosinolaten erklären. Im Folgenden liegt der Schwerpunkt auf der Betrachtung des Cruciferin:Napin-Verhältnisses, da es die höchste Heritabilität ($h^2=0,2$) aufwies. Im Vergleich zu anderen Studien ist das hier festgestellte mittlere Cruciferin:Napin-Verhältnis hoch: Schatzki et al. (2014) berichteten einen Mittelwert von 0,38, ein Minimum von 0,13 und ein Maximum von 1,05. Die Studie von Schatzki et al. (2014) wurde an einer DH-Population durchgeführt, dessen Eltern eine Elitelinie (Express617) und eine Resynthese (interspezifischer Hybrid von *B. oleracea* var. *sabellica* und *B. rapa* ssp. *pekiensis*), mit hohem Erucasäure- und Glucosinolatgehalt sind. In einer Rapsaat der 00-Qualität, wie Express617, wäre ein im Vergleich zum Cruciferin-Gehalt eher geringerer Napingehalt zu erwarten. Malabat et al. (2013) haben ebenfalls eine Untersuchung zum Cruciferin- und Napin-Verhältnis in verschiedenen Rapsqualitäten durchgeführt. In einer Hauptkomponentenanalyse für die untersuchten Genotypen wird gezeigt, dass die Doppelnull-Qualitäten von den ++-Qualitäten getrennt sind (Malabat et al. 2013). Darüber hinaus haben Malabat et al. (2013) festgestellt, dass der Proteingehalt bei neueren Sorten im Allgemeinen niedriger ist und dass sie tendenziell einen höheren Cruciferingehalt aufweisen. Insbesondere bei den 0+ und ++ Qualitäten lässt sich der vergleichsweise höhere Napingehalt durch eine mögliche Verflechtung des Biosyntheseweges von Napin und Glucosinolaten erklären (Schatzki et al. 2014). Beide Verbindungen enthalten Schwefel als charakteristischen Bestandteil, der durch den Einbau der schwefelhaltigen Aminosäure Cystein (Wanasundara 2011) innerhalb von Napin und Methionin in die alipathischen Glucosinolate (Field et al. 2004; Borpatragohain et al. 2016) entsteht. Im Kontrast hierzu stehen die Ergebnisse der vorliegenden Studie. Es wurden 34 Genotypen gefunden, welche ein Cruciferin:Napin-Verhältnis unter 1 aufweisen. Es kann allerdings nicht davon ausgegangen werden, dass ein niedriges Cruciferin:Napin-Verhältnis eindeutig mit dem Qualitätsstatus des Genotyps assoziiert ist. Im Winterrapsdiversitätsset wurden 10 Genotypen identifiziert, welche eine 00-Qualität aufweisen, sieben weisen einen niedrigen Erucasäure-, aber hohen Glucosinolatgehalt (0+) auf, 16 von ihnen haben einen hohen Erucasäure- und Glucosinolatgehalt. In ähnlicher Weise fanden Raab et al. (1992) keinen Zusammenhang zwischen der

Rapsqualität und dem Cruciferin:Napin-Verhältnis. Sie testeten sieben Rapsorten auf ihre Speicherproteinmuster. Die Qualität der getesteten Sorten war entweder doppelt null oder erucasäurereduziert (0+) (Raab et al. 1992). Die Studien von Malabat et al. (2013) und Schatzki et al. (2014) vermuten, dass die Proteinzusammensetzung eher durch die Genetik als durch die Umwelt verursacht wird. Die Heritabilität, welche für den Gehalt an Cruciferin und Napin und das Cruciferin:Napin-Verhältnis bei Schatzki et al. (2014) angegeben sind, liegen bei 0,79 (Napin), 0,77 (Cruciferin) und 0,92 (Cruciferin:Napin-Verhältnis). Diese sind sehr viel höher als die hier im Winterrapsdiversitätsset beobachteten Heritabilitäten. Daraus könnte sich ableiten lassen, dass in dem hier vorliegenden Fall die Samenspeicherproteingehalte ausschließlich von der Umwelt und der Genotyp-Umwelt Interaktion beeinflusst werden. Allerdings wurde in den Elitesorten eine Heritabilität von bis zu 0,65 für das CNR errechnet. Dies könnte bedeuten, dass die Versuchsplanung oder auch die schlechte Gesundheit der Samen einen hohen Restfehler verursachten und somit ein starker Umwelteffekt fälschlicherweise angenommen wird. Im Hinblick auf die menschliche Ernährung sind die Ergebnisse jedoch vielversprechend: Die 33 Genotypen, welche mehr Napin als Cruciferin im Samen aufweisen, könnten als Ausgangsmaterial für die weitere Züchtung verwendet werden, um den Napin-Anteil im gesamten Samenspeicherprotein zu erhöhen. Insbesondere die höheren Gehalte an schwefelhaltigen Aminosäuren und aromatischen Resten aus essentiellen Aminosäuren machen Napin zur ernährungsphysiologisch wertvolleren Proteinfraction im Samen (Nesi et al. 2008). Dies wurde auch bei der gentechnisch veränderten modernen Rapsorte (Cv. Cascade) festgestellt, in die das chimäre Phaseolin/Methionin-reiches Protein der Paranuss (*Bertholletia excelsa*) hinzugefügt wurde, welches ebenso wie Napin ein Albumin ist. Im gentechnisch modifizierten Raps konnten damit die Methioningehalte signifikant erhöht (Altenbach et al. 1992). In einem weiteren Experiment wurde ein Antisense-Napin in *Brassic. napus* eingeführt, was zu einem Cruciferin-reichen Speicherprotein und signifikant reduzierten Cystein- und Lysingehalten in Rapssamen führte (Kohno-Murase et al. 1994).

4.1.2 Aminosäuren im Winterrapsdiversitätsset

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass die im Winterrapsdiversitätsset bewerteten verschiedenen Winterakzessionen in Bezug auf die Aminosäurenmuster große genetische Varianz mit signifikanten Unterschieden zwischen den Genotypen aufweisen. Diese Variabilität war zu erwarten, da die ausgesuchten Akzessionen des Winterrapsdiversitätsset sehr unterschiedliche Materialien in Bezug auf die Samenqualität umfassen. Andere Studien zeigen ebenfalls Variabilität innerhalb des Aminosäuregehalts von verschiedenen Genotypen. Slominski et al. (1999) untersuchten Unterschiede im Schrot von handelsüblichem Schrot aus gelbschaligem Raps im Vergleich zu handelsüblichem Schrot aus braunschaligem Raps. Die Unterschiede in dieser Studie für die essentiellen Aminosäuren liegen im Durchschnitt bei 0,05 g/100 g Protein. Es konnten keine signifikanten Unterschiede für den Gehalt an EAA zwischen Rapsschrot aus braunen oder gelben Samen festgestellt werden. Dasselbe gilt für die

Schrote der zwei *Brassica napus*-Sorten „Excel“ (braune Samenfarbe) und „Y01016“ (gelbe Samenfarbe). Sie zeigen minimal unterschiedliche EAA-Gehalte im Schrot, dennoch weist keine Sorte absolut höhere EAA-Gehalte auf als die andere (Slominski et al. 1999). Eine weitere Studie, die ebenfalls den Gehalt an EAA betrachtete, zeigte leicht unterschiedliche Mengen in g AA/100g Protein. Gegenstand der Untersuchung waren die *B. napus*-Sorten „Altex“, „Excel“ und „Y01016“, wobei in der Sorte „Altex“ im Vergleich höhere EAA-Gehalte für Isoleucin, Leucin, Lysin, Threonin und gefunden wurden (Tzeng et al. 1988a; Tzeng et al. 1988b; Tan et al. 2011). Mattila et al. (2018) untersuchten Aminosäuren in Pflanzensamen und -mehlen. In Rapspresskuchen wurden EAA-Gehalte von 1,75 g/16 g N für Cystein (hier als EAA deklariert) bis 7,25 g/16 g N für Leucin gefunden. Für die Gesamtmenge an EAA wurden durchschnittlich 14,59 g/100 g Rapspresskuchen gefunden. Zum Vergleich: In der vorliegenden Arbeit wurden durchschnittlich 12,31 g EAA/100 g entfettetes Mehl festgestellt, was etwas weniger ist. Der Grund könnte sein, dass Mattila et al. (2018) handelsüblichen Presskuchen verwendeten und darüber hinaus nur zwei Genotypen analysierten, während hier N = 187 Akzessionen verwendet wurden. Dennoch sind die Ergebnisse vergleichbar, da im Presskuchen das Öl ebenso entfernt wird wie in der vorliegenden Arbeit die Rapschrote vor Analyse entfettet wurden. Die Nutzung der genetischen Diversität der Aminosäuregehalte innerhalb des genutzten Winterrapsdiversitätssets für die weitere Züchtung ist aufgrund der extrem geringen Heritabilität fraglich. Die beiden Ausnahmen sind Cystein ($h^2=0,35$), ein SEA, und Histidin ($h^2=0,25$), ein EAA. Allerdings sind auch die erwähnten Heritabilitätswerte niedrig und implizieren, dass die Variabilität für die Aminosäuregehalte hauptsächlich durch die Umwelt verursacht wird. Bei den Korrelationen wurden viele hochsignifikante Korrelationen zwischen den Aminosäuregruppen und einzelnen Aminosäuren festgestellt. Die hohen positiven Korrelationen zwischen EAA, SEA und NEA können über den Proteingehalt erklärt werden: Mit steigendem Proteingehalt steigen gleichzeitig die Anteile der Aminosäuregruppen. Diese Korrelation wird im Ergebnis der deskriptiven Statistik für die geschätzten Aminosäuregruppen gezeigt. Für einige der anderen starken Korrelationen gibt es unterschiedliche Erklärungen. Für die EAA und die Aminosäuren Phenylalanin, Lysin, Valin, Histidin, Methionin, Isoleucin und Leucin wird geschlussfolgert, dass die festgestellte hohe Korrelation darauf zurückzuführen ist, dass diese Aminosäuren in der EAA enthalten sind. Daher ist es sinnvoll, dass eine Erhöhung der EAA eine Erhöhung der genannten Aminosäuregehalte bedeutet und umgekehrt. Gleiches gilt für das SEA und die Aminosäuren Glycin, Prolin und Arginin sowie das NEA und Alanin, Glutamin und Asparaginsäure. Die letzte Hypothese für hohe Korrelationen zwischen bestimmten Aminosäuren ist ihr Biosyntheseweg. Abhängig von der Verbindung, aus der die Aminosäuren ihre Kohlenstoffatome ableiten, werden sie in Gruppen eingeteilt (Umbarger 1978). In der Glutamatfamilie, welche Glutamat als Kohlenstoffspender hat, kommen Glutamin, Prolin und Arginin vor (Umbarger 1978). Damit könnten die hohen positiven Korrelationen zwischen Prolin und Glutamin sowie Arginin und Glutamin

erklärt werden. Eine weitere hohe positive Korrelation wurde zwischen Cystein und Serin festgestellt, beide Aminosäuren gehören zur Serinfamilie (Umbarger 1978). Interessanterweise liefert diese Familie Kohlenstoff auch für andere Aminosäuren wie Thyrosin, Methionin und Histidin. Mit diesem Wissen lässt sich die starke Korrelation zwischen Serin und Methionin erklären. Obwohl Serin nicht das unmittelbare Edukt für Methionin ist, ist Serin die Ausgangsstruktur für Cystein, welches wiederum die Vorstufe für Methionin ist. Die Korrelationen von Lysin und Methionin, Methionin und Threonin und Isoleucin und Lysin lassen sich mit ihrer Zugehörigkeit zur Aspartatfamilie erklären. Abgesehen davon wird Isoleucin auch mit der Pyruvatfamilie in Verbindung gebracht, da vier der Enzyme und zwei Kohlenstoffatome von Pyruvat an seiner Biosynthese beteiligt sind. Aus diesem Grund kann der starke Zusammenhang zwischen Isoleucin und Leucin durch ihre Zugehörigkeit in die Pyruvatfamilie erklärt werden. Die anderen zugehörigen Aminosäuren der Pyruvatfamilie sind Valin und Leucin (Umbarger 1978).

4.1.3 Der ernährungsphysiologische Wert des Rapsschrotes für die menschliche Ernährung

Die hier vorliegenden Untersuchungen zeigen einmal mehr den guten Nährwert von Rapsschrot aufgrund seiner Eiweißqualität. In Tabelle 21 ist die von der WHO empfohlene tägliche Einnahme von EAA in mg für eine Person mit 75 kg gezeigt. Weiterhin werden die WHO-Empfehlungen (Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation 2007) mit den hier erhobenen Daten aus dem Winterrapsdiversitätsset verglichen. Es wurde festgestellt, dass nur die Hälfte der EAA-Mittelwerte diese Empfehlungen erfüllen. Trotzdem konnten zwei Genotypen identifiziert werden, welche diese Empfehlungen übertreffen: „Allure“ und „Bangholm BT“. Für die Berechnungen wurde davon ausgegangen, dass etwa 100 g entfettetes Schrot zu einem Fleischersatz für den menschlichen Verzehr verarbeitet würde. Studien, die den hohen Nährwert von Raps belegen, arbeiten meist mit dem Proteinisolat anstelle von Rapsschrot. Im Fall der Extraktion des Proteins wäre die EAA-Dichte sogar noch höher, da Ballaststoffe und andere Nicht-Protein-Samengehalte reduziert würden. Fleddermann et al. (2013) konnten in einer vergleichenden Studie zum Nährwert von Raps- und Sojaprotein zeigen, dass die postprandiale Wirksamkeit von Rapsproteinisolat mit derjenigen von Soja vergleichbar ist. Darüber hinaus bestätigten sie auch den hohen Nährwert von Rapsprotein aufgrund seines hohen Gehalts an schwefelhaltigen Aminosäuren, die wirksame Regulatoren bei antioxidativen Abwehrprozessen sind. Eine weitere Studie von Bos et al. (2007), die die Verdaulichkeit von Rapsprotein untersuchten, stellten fest, dass, obwohl die tatsächliche ileale Verdaulichkeit von Rapsprotein beim Menschen eher gering ist (84 %), dieses einen hohen postprandialen biologischen Wert besitzt. Die hohe postprandiale biologische Wertigkeit wird mit den hohen Gehalten an EAA und schwefelhaltigen Aminosäuren begründet. Im Vergleich zu anderen proteinreichen Pflanzen weist der Presskuchen von Raps die beste EAA-Zusammensetzung auf, welche der von Kuhmilch und Eiern ähnelt (Mattila et al. 2018). Ivanova et al. (2017) verglichen das biochemische Profil proteinreicher Produkte,

die aus industriellem Rapsschrot gewonnen wurden. Sie kamen zu dem Schluss, dass die Rapsproteinprodukte im Allgemeinen von hoher Qualität sind, aber abhängig von der Qualität der Rapssaat und ihrer Verarbeitung hohe Gehalte an Schwermetallen, insbesondere Blei, möglich sind, was die Proteinprodukte für den menschlichen Verzehr ausschließen würde. In einer Studie für ein Cookie-Modellsystem von Troise et al. (2018) wurden verschiedene Rapspresskuchen untersucht. Sie konnten zeigen, dass durch die alkalische Extraktion von Rapspresskuchen die Acrylamidgehalte in den Endprodukten deutlich reduziert werden konnten. Diese chemische Verbindung, die zu den Endprodukten der Maillard-Reaktion gehört, kann den Beigeschmack von Lebensmitteln verstärken und potenziell negative Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit haben. Als Begründung für den reduzierten Acrylamidgehalt in ihren Endprodukten führen sie die Aminosäuren an, welche die Thiolgruppe der Cystein-Seitenkette enthalten. Abgesehen von der Verwendung von Rapsprotein aufgrund seines hervorragenden Aminosäureprofils in der menschlichen Ernährung für Fleischersatz und Kekse wurde weiterhin berichtet, dass es ein geeignetes Material für die Produktion von ACE-hemmenden Peptiden ist.

Tabelle 21 Empfehlung der WHO über die täglich empfohlene aufzunehmende Menge an EAA [in mg/75 kg Körpergewicht] und des Min, Max und Mittel des EAA Gehaltes [mg/100g] des untersuchten Winterrapsdiversitätssets und der mittlere Gehalt der zwei Genotypen mit den höchsten EAA Werten aus dem Winterrapsdiversitätsset; Daten der WHO stammen aus Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation (2007)

EAA	Empfohlene Tagesdosis [mg/75kg]	Gehalt an essentiellen Aminosäuren [mg/100g] eRS				
		Mittel	Min	Max	Genotyp Allure	Genotyp Bangholm BT
Histidin	750	968	603	1424	1424	1095
Isoleucin	1500	1300	997	1753	1537	1753
Leucin	2925	2477	1903	3345	3154	3345
Lysin	2250	2125	1606	2574	2541	2473
Methionin	750	732	527	960	944	902
Cystein	300	790	451	1535	1032	1000
Phenylalanin + Tyrosin	1875	2388	1661	3386	3088	3230
Threonin	1125	1376	1013	1923	1923	1914
Valin	1950	1940	1431	2162	2162	2673

Insbesondere die Peptide Valin-Serin-Valin und Phenylalanin erwiesen sich als nützlich, um Bluthochdruck bei Ratten (in vivo) signifikant zu senken. Die höchste Menge des funktionellen Peptids und damit die effektivste konnte aus einem Rapsproteinhydrolysat gewonnen werden, welches beide Proteinfractionen enthält: Cruciferin und Napin (Marczak et al. 2003; Wu and Muir 2008). Schließlich hat auch die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (efsa) die Unbedenklichkeit von Rapspulver in 00-Qualität als geeignete Lebensmittelzutat für Menschen ab dem 1. Lebensjahr festgestellt (Turck et al. 2020).

4.2 Erstellung einer NIRS Kalibration für die Aminosäuregruppen der essentiellen, semi-essentiellen und nicht-essentiellen Aminosäuren

Die NIRS-Kalibrierung für die Aminosäurefraktionen wurde mit dem Ziel entwickelt, den Wert der Aminosäurezusammensetzung von Rapssamen schnell und zerstörungsfrei zu analysieren. Die Ergebnisse sollen im Züchtungsprozess für Rapssorten verwendet werden, die hochwertiges Protein für die menschliche Ernährung liefern. Die Auswertung der NIRS-Kalibrierung zeigte wenig zufriedenstellende Ergebnisse. Die im Rahmen dieser Arbeit erstellte Kalibrierung kann angewendet werden, um zwischen extremen Genotypen zu unterscheiden, weniger aber bei den mittleren Aminosäuregehalten. Daher kann die erstellte NIRS Kalibration für den Züchtungsprozess verwendet werden, aber nicht für den praktischen Vergleich zwischen Genotypen, die durchschnittliche Mengen an Aminosäuren enthalten. Der niedrige Korrelationskoeffizient nach Pearson in der unabhängigen Validierung könnte darauf zurückzuführen sein, dass extremere Werte nicht verfügbar sind. Dies rührt daher, dass die Extremwerte in die Berechnung der Kalibrierung einfließen. Aus diesem Grund sind in der unabhängigen Validierung der NIRS Kalibration vor allem mittlere Werte enthalten, welche mit der entwickelten Kalibration weniger gut geschätzt werden können. Andere Studien bestätigen diese Schlussfolgerung. Im Vergleich zu anderen Kalibrierungen ist der hier berichteter Variationskoeffizient (R^2) für die EAA, SEA und NEA zwischen 0,57 und 0,72 niedrig. Fontaine et al. (2001) entwickelten eine NIRS-Kalibrierung für die Aminosäuren Methionin, Cystein, Lysin, Threonin, Tryptophan, Arginin, Isoleucin, Leucin und Valin im Rapsschrot und berichteten Bestimmtheitsmaße zwischen 0,73 und 0,98. Die Kalibrierung in der Studie von Fontaine et al. (2001) wurde mit $n=64$ Proben berechnet. Im Fall von Fontaine et al. (2001) wurde die NIRS-Kalibrierung mit Mehlproben entwickelt. Chen et al. (2011) entwickelten eine NIRS-Kalibrierung für ganze Rapssamen mit 266 Rapsgenotypen. Sie kamen zu dem Schluss, dass die 1,4,4,1-Anpassung für die Ableitung, Gap first und second smooth auch die besten Gesamtergebnisse liefert. Ihre gemessene Wellenlänge beträgt 1100-2498 nm. In der vorliegenden Arbeit wurden zwischen den Wellenlängen von 680 und 1900 nm gemessen. Um die Qualität einer Kalibration zu evaluieren, schlugen Chen et al. (2011) vor, das Verhältnis der Standardabweichung der Kalibrierung zum Standardfehler der Kreuzvalidierung, zu berechnen. Ihrer Meinung nach zeigt ein Verhältnis über 3 eine sehr gute Qualität, wobei auch ein Verhältnis zwischen 3 und 1,5 noch für die Züchtung

verwendet werden könnte. Das Verhältnis der hier erstellten Kalibration beträgt 1,3 für EAA, 2,1 für SEA und 1,7 für die NEA-Fraktion. Nach Chen et al. (2011) können nur die Schätzungen der SEA und der NEA aus der hier erstellten Kalibration für eine verbindliche Schlussfolgerung in Bezug auf Züchtungsentscheidungen verwendet werden.

4.3 Genomweite Assoziationsstudie im Winterrapsdiversitätsset

4.3.1 GWAS-Ergebnisse für die Samenspeicherproteine Cruciferin und Napin

Für Napin konnte über den SNP (Bn-A05-p2300076) das Gen BnaA05g02750D identifiziert werden, welches das Protein „Nucleolar Protein Gar2-like Protein“ kodiert und höchstwahrscheinlich an der Biosynthese von Cystein beteiligt ist. Dies kann dadurch begründet werden, dass bei *Arabidopsis thaliana* ein homöologes Gen (AT2G42320) gefunden wurde, welches an der Pathogenantwort während einer Geminivirus-Infektion beteiligt ist (The Arabidopsis Information Resource (TAIR); Ascencio-Ibáñez et al. 2008). Für Cruciferin konnte kein Kandidatengene identifiziert werden. Die in den Ergebnissen gezeigten Häufigkeitsverteilung und die SNPs $-\log_{10}(P\text{-Wert}) > 3$ in der GWAS deuten darauf hin, dass sowohl Napin als auch Cruciferin quantitativ vererbte Merkmale sind. Dies führt dazu, dass eine züchterische Bearbeitung schwierig ist, da in diesem Fall mehrere Genorte an der Ausprägung des Cruciferin- und Napingehaltes beteiligt sind. Weiterhin konnte in der GWAS kein eindeutiger Peak mit starkem Effekt auf die Merkmalsausprägung identifiziert werden.

4.3.2 Haploblöcke der Genotypen Liporta, Lirafit und Lisek

Die fünf Genotypen, bei welchen ein Cruciferin:Napin-Verhältnis unter 1 festgestellt wurde (Samourai, Liporta, Lirafit, Lisek, 1012-98), wurden auch hinsichtlich ihrer Haplotypen in den hier gefundenen Haploblöcken untersucht (Tabelle 22). Für Samourai und 1012-98 sind keine Genotypisierungsdaten verfügbar, daher konnten sie hier nicht berücksichtigt werden. Generell ist die Aussagekraft für den für Napin gefunden Haploblock aufgrund der geringen Heritabilität ($H^2=0,01$) stark begrenzt. Für den Haploblock für das Merkmal Napin auf Chromosom A9 fehlen für Lirafit am SNP Bn-A09-p160775 die Genotypisierungsdaten. Für Lipotra wurde Hap2 (CA) identifiziert, den am zweithäufigsten ($N=45$) gezeigten Haplotyp des Haploblocks für Napin im Winterrapsdiversitätsset. Lisek zeigte den Hap1 (AC). Darüber hinaus konnten keine signifikanten Unterschiede des Student-t-Tests zwischen den Phänotypen aller Haplotypen bei dem Haploblock für Napin gefunden werden. Die Heritabilität für die EAAe war höher und lag bei 0,42. Der Haplotyp für Liporta war wegen Heterozygotie bei SNP Bn-A02-p8190375 nicht bestimmbar. Lirafit und Lisek zeigten Hap1 (GC) für den Haploblock, welcher für die EAA gefunden wurde. Obwohl Liporta heterozygot ist, konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Genotypen in Bezug auf den Gehalt der EAA festgestellt werden. Bei Liporta liegt der mittlere EAA-Gehalt bei $114,7 \text{ g kg}^{-1} \text{ eRS}$, bei Lirafit bei $112,8 \text{ g kg}^{-1} \text{ eRS}$ und bei Lisek bei $98,6 \text{ g kg}^{-1} \text{ eRS}$. In Bezug auf die EAA konnte mit einem LSD von 15,41 ein signifikanter Unterschied zwischen den

Genotypen Liporta und Lisek festgestellt werden. Da die nicht genotypisierten Genotypen 1012-98 und Samourai einen noch höheren EAA-Gehalt aufweisen, wird davon ausgegangen, dass die Heterozygotie im Marker Bn-A02-p8190375 bei Liporta irrelevant für die Menge an EAA ist. Ähnliche Ergebnisse wurden für die NEAe gefunden: Die Heritabilität wurde mit 0,41 berechnet, und die tatsächliche Differenz zwischen den NEA-Werten von Lisek und Lirafit beträgt $12,83 \mu\text{g kg}^{-1}$ eRS, was nicht signifikant ist, da die LSD mit 15,76 berechnet wurde. Außerdem ist der für die NEAe gefundene Haploblock identisch mit dem Haploblock auf A2 aus der EAAe. Daher gilt das gleiche Problem mit Heterozygotie. Bei dem für den Proteingehalt gefundenen Haploblock auf Chromosom C01 zeigt Liporta Hap2, Lirafit und Lisek Hap1. Beide Haplotypen unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$), wobei Hap1 leicht erhöhte Proteingehalte zeigt. Diese Ergebnisse spiegeln sich auch in den Genotypen wider, da Liporta im Vergleich zu Lirafit (23 %) einen reduzierten Proteingehalt (21 %) aufweist. Die Haploblöcke, welche für die Aminosäuregehalte von Alanin, Arginin, Methionin, Prolin und Serin gefunden wurden, sind nur im Hinblick auf den Methioningehalt und den Seringehalt relevant, da hier signifikante Unterschiede jeweils zwischen Lisek und Liporta und Lisek und Lirafit ausgemacht werden konnten. Für den Haploblock auf A5 ist Lisek heterozygot, wodurch dieser Haploblock nicht für den Unterschied im Methioningehalt herangezogen werden kann. Im Fall des Haploblocks auf Chromosom C3 zeigen Lisek und Liporta jeweils beide Hap1, Lirafit jedoch Hap2. Zwischen Lirafit und Lisek liegt die Differenz des Gehalts mit $1,36 \mu\text{g kg}^{-1}$ eRS über dem berechneten LSD von 1,16. Sie sind also signifikant verschieden. Es könnte sein, dass die unterschiedlichen Haplotypen des Haploblocks auf Chromosom C3 dafür verantwortlich sind. Für Serin scheint der gefundene Haploblock auf Chromosom C6 nicht für die gefundenen signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen Lisek und Liporta und Lirafit und Lisek verantwortlich zu sein, denn hier zeigen alle Genotypen den gleichen Haplotyp (Hap1). Die Haplotypen, welche keine signifikanten Unterschiede für das jeweilige Merkmal aufweisen, sind für die angewandte Züchtung von untergeordneter Bedeutung. In diesem Fall ist ein bestimmter Haplotyp einem anderen nicht überlegen. Bei ähnlichen Haplotypen stützen sich Zuchtentscheidungen auf die tatsächliche Leistung der Genotypen. Hinsichtlich der weiteren Züchtung auf Proteinqualität wäre es sinnvoll, mit Lirafit weiter zu züchten, da dieser Raps einen erhöhten Proteingehalt und eine hervorragende Ölqualität aufweist.

Tabelle 22 Haplotypen der Genotypen Lisek, Liporta und Lirafit für die gefundenen Haploblöcke der Merkmale Napin, Protein, EAA, NEA, Alanin, Arginin, Methionin, Prolin und Serin; dabei steht NA für nicht verfügbar und HZ für heterozygot. Neben dem Merkmal ist das lokalisierte Chromosom des jeweiligen Haploblocks aufgeführt

Haploblock	Marker	Genotyp		
		Lisek	Liporta	Lirafit
Napin A9		Hap1	Hap2	NA
	Bn-A09-p160775	AA	CC	0
	Bn-A09-p100643	CC	AA	CC
EAA A2		Hap1	HZ	Hap1
	Bn-A02-p8190375	GG	AG	GG
	Bn-A02-p8191099	CC	CC	CC
EAA C2		Hap1	Hap1	Hap1
	Bn-scaff_17109_1-p511136	TT	TT	TT
	Bn-scaff_17109_1-p513156	GG	GG	GG
	Bn-scaff_17109_1-p557456	GG	GG	GG
	Bn-scaff_17109_1-p557566	TT	TT	TT
NEA A2		Hap1	HZ	Hap1
	Bn-A02-p8190375	GG	AG	GG
	Bn-A02-p8191099	CC	CC	CC
Protein C1		Hap1	Hap2	Hap1
	Bn-scaff_15838_5-p1215697	TT	CC	TT
	Bn-scaff_15838_5-p1221294	TT	CC	TT
Alanin A2		Hap1	Hap1	Hap1
	Bn-A02-p10623838	AA	AA	AA
	Bn-A02-p10624373	GG	GG	GG
Arginin A7		Hap1	Hap1	Hap1
	Bn-A07-p3957667	GG	GG	GG
	Bn-A07-p3960247	AA	AA	AA
Arginin C3		Hap1	Hap1	Hap2
	Bn-scaff_19740_1-p112656	CC	CC	TT
	Bn-scaff_19740_1-p109782	TT	TT	CC
Methionin A5		HZ	Hap1	Hap1
	Bn-A06-p20320258	AG	AA	AA
	Bn-A06-p20320209	GG	TT	TT
Methionin C3		Hap1	Hap1	Hap2
	Bn-scaff_15758_3-p727398	CC	CC	TT
	Bn-scaff_21330_1-p326557	CC	CC	TT
Prolin C6		HZ	Hap1	Hap2
	Bn-scaff_25094_1-p413818	CT	CC	TT
	Bn-scaff_25094_1-p497096	0	CC	TT
Serin C6		Hap1	Hap1	Hap1
	Bn-scaff_16485_1-p119862	AA	AA	AA
	Bn-scaff_16485_1-p126425	TT	TT	TT
	Bn-scaff_16485_1-p127229	CC	CC	CC

4.3.3 Die Rolle der Gene, welche in den Haploblöcken liegen

Für Napin wurde ein Haploblock auf Chromosom A9 gefunden. Hier liegt auch ein Gen, welches ein „alkyliertes DNA-Reparaturprotein“ codiert. Eine weitere Beschreibung für dieses Gen und Protein konnte für *Arabidopsis thaliana* gefunden werden: Hier ist das Protein ein 2-Oxoglutarat (2OG) und Fe(II) abhängiges Protein der Oxygenase-Superfamilie (The Arabidopsis Information Resource (TAIR)). Diese Arten von Proteinen katalysieren Oxidationen und gelten als sehr vielseitig. Im Primärstoffwechsel sind sie an DNA-Reparaturen, Epigenetik, posttranslationalen Modifikationen sowie Aktivierung und Katabolismus von Pflanzenwachstumsregulatoren beteiligt (Farrow and Facchini 2014). Im spezialisierten Stoffwechsel sind sie auch an zahlreichen Stoffwechselwegen wie der Glucosinolat- oder Tropan-Alkaloid-Biosynthese beteiligt (Farrow and Facchini 2014). Angesichts all dieser Informationen ist nicht klar, warum der Haploblock, welcher für Napin gefunden wurde, in diesem Gen liegt. Bisher gibt es keine Hypothese über die Verknüpfung zwischen der DNA-Reparatur und dem Napin-Gehalt in Raps. Es könnte jedoch sein, dass das 2-Oxoglutarat- und Fe(II)-abhängige Protein der Oxygenase-Superfamilie, das ein Teil der Glucosinolat-Biosynthese ist, auch für die Napin-Biosynthese essentiell ist. Hier wäre in jedem Fall eine genauere Betrachtung nötig, um diese Hypothese zu verifizieren. Für die EAA wurde kein Gen innerhalb des Haploblocks auf Chromosom C2 gefunden. Der andere Haploblock auf Chromosom A2, welcher für die essentiellen und nicht-essentiellen Aminosäuren gefunden wurde, umschließt das Gen BnaA02g10210D. Das Produkt dieses Gens wird als „RAP-GTPase-Aktivatoraktivität“ und „tba-domänenhaltiges Protein“ beschrieben. RAP sind Ribosomen-assoziierte Proteine, zu denen GTPasen, Methyltransferasen, Pseudouridin-Synthesasen, RNA-Helikasen, Chaperone und viele Proteine mit unbekannter Funktion gehören (Ahmad et al. 2007). Die Domäne des TBC/rab-GTPase-aktivierenden Proteins (GAP) kommt in mehreren Reichen vor, darunter Hefen, Pflanzen und Säugetiere (Hutagalung and Novick 2011). Es scheint, dass dieses Gen für Membrantransporte essentiell ist. Dennoch ist nicht ersichtlich, welche Verbindung die EAA oder NEA mit diesem Protein haben. Innerhalb des Haploblocks wurde ein Gen für den Proteingehalt auf Chromosom C2 gefunden. Die Annotationen beschreiben die Funktion des Gens als „Signalerkennungs-Partikel-Rezeptor-Komplex“. Andere Beschreibungen beinhalteten „Targeting auf das endoplasmatische Retikulum“ und „Protein-Targeting auf die Vakuole“. Alle diese Beschreibungen können allgemein mit Proteinen in Verbindung gebracht werden. Tajima et al. (1986) erforschten den Signalerkennungs-Partikel-Rezeptor-Komplex (SRP-Rezeptor) und schreiben, dass der Komplex Proteine sortiert. Das SRP kann beim Austritt aus dem Ribosom an die Polypeptidkette binden und einen Stopp der Proteinsynthese bewirken. Durch eine Wechselwirkung des SRP mit der Membran des endoplasmatischen Retikulums (ER) wird die Unterbrechung der Synthese aufgehoben (Tajima et al. 1986). Mit dem Wissen, dass Proteine an Ribosomen synthetisiert werden, ist der SRP-

Rezeptorkomplex tatsächlich sehr nahe an der Proteinsynthese (Zalik and Jones 1973). Daraus kann geschlossen werden, dass der gefundene Haploblock auf Chromosom C2 mit der Proteinproduktion und damit dem Proteingehalt in Raps verbunden ist.

Im Hinblick auf die einzelnen Aminosäuren wurden für den Haploblock auf Chromosom A2 das assoziierte Gen BnaA02g16070D identifiziert, welches das protein „atpase e1-e2 type family protein haloacid dehalogenase-like hydrolase family protein“ codiert. Dabei sind Proteine aus der Haloacid Dehydrogenase Superfamilie unter anderem an der Biosynthese von Aminosäure beteiligt, diese Familie umfasst Phosphatasen, Phosphonatasen, P-ATPasen, Beta-Phosphoglucomutasen, Phosphomannomutasen und Dehalogenasen (Koonin and Tatusov 1994). Warum dieses Gen mit dem Haploblock für Alanin assoziiert ist, konnte nicht eruiert werden. Für den Haploblock auf Chromosom A7 konnten zwei Kandidatengene gefunden werden. Das Gen BnaA07g05760D codiert einen Ammoniumtrasporter. Neben Nitrat (HNO_3) ist Ammonium (NH_4^+) eine der Hauptquellen für Stickstoff für die Pflanze (Howitt and Udvardi 2000). Weiterhin ist auch Stickstoff ein essentieller Bestandteil der Aminosäuren. Aufgrund dieser Tatsachen kann erklärt werden, warum das Gen BnaA07g05760D mit der Aminosäure assoziiert ist. Eine Hypothese warum dieses Gen gerade mit Arginin und keiner anderen hier untersuchten Aminosäure assoziiert ist, könnte die einzellige Grünalge Alge *Chlamydomonas reinhardtii* geben: Hier gibt es sogar ein eigenes Transportsystem für Arginin, jedoch für keine weitere Aminosäure. In derselben Grünalge spielt ebenfalls Arginin eine wichtige regulatorische Rolle in der Aufnahme von Ammonium (González-Ballester et al. 2018). Ein weiteres Gen, welches in Verbindung mit Arginin und dessen assoziiertem Haploblock auf Chromosom A7 steht, ist BnaA07g05810D. Es codiert ein Dihydroxysäuredehydratase-ähnliches Enzym. Diese Enzymgruppe ist eines von drei Enzymen, welche die Herstellung der verzweigtkettigen Aminosäuren Valin, Leucin und Isoleucin in Pilzen, Bakterien und Pflanzen fazilitiert (Gao et al. 2018). Dieser Umstand gibt allerdings kein Indiz, warum hier die Assoziation mit der Aminosäure Arginin gegeben ist. Die beiden anderen Gene (BnaC03g65140D, BnaC03g65810D), welche für den Haploblock auf C3 identifiziert wurden, codieren die Proteine γ -Glutamylcysteinesynthetase und die Arginin-Carboxylase. Die γ -Glutamylcysteinesynthetase ist neben der Glutathion Synthase für den Bau von Glutathion aus Glutamat und Cystein verantwortlich. Glutathion ist ein Antioxidant, welches Zellen vor Schäden durch freie Radikale schützt (Galant et al. 2011). Der Zusammenhang mit Arginin könnte daraus abgeleitet werden, dass Arginin auch als Stickstoffspeicher verwendet wird und bei Bedarf in Glutamat umgebaut werden kann, welches sodann als Edukt für Ammonium Assimilation und im weiteren zur Aminosäurensynthese zur Verfügung steht (Winter et al. 2015). Das andere Enzym, die Arginin-Carboxylase, ist ein wichtiger Bestandteil des Arginin Katabolismus. Es ermöglicht den Abbau von Arginin zu Polyaminen, welche eine zentrale Rolle in der Entwicklung und der Immunabwehr der Pflanzen spielen (Winter et al. 2015). Damit ist klar, warum das Gen BnaC03g65810D mit Arginin

verknüpft ist. Der gefundene Haploblock für Methionin auf Chromosom A5 führte zu drei Kandidatengenen, welche die „cdpk related Proteinkinase“ (BnaA05g12580D), „das Arabinogalactanprotein 12“ (BnaA05g13800D) und das „Stressresponse- β - α -barreldomainprotein“ (Bna05g15190D) codieren. Die cdpk related Proteinkinase steht für eine Kalzium-abhängige Proteinkinase, welche eine Schlüsselrolle als Regulator in der Dechiffrierung von Kalziumsignalen übernimmt. Dabei bleibt unklar, warum dieses Gen im engen Zusammenhang mit Methionin steht, denn Kalziumabhängige-Proteinkinase übernehmen mannigfaltige Funktionen im Lebenszyklus der Pflanze. Diese reichen von Pflanzenwachstum und -entwicklung über Immun- und Stressantwort, Phytohormonsignalwege und Nährstofftransport zur Toleranzreaktion von abiotischem Stress (Shi et al. 2018). Das Arabinogalactanprotein 12 ist ein Teil der hydroxyprolinreichen-Glycoprotein-Zellwand Familie. Dies sind Proteine welche zu 90% aus Arabinogalactan, einem Polysaccharid, bestehen und Aufgaben in der Pflanzenwachstum und -entwicklung übernehmen (Silva et al. 2020). Letztendlich sind dies auch Proteine, welche aus Polypeptiden und damit aus Aminosäuren bestehen und vielleicht aus diesem Grund mit dem Methioningehalt assoziiert sind. Das Stressresponse- β - α -barreldomainprotein ist ein durch Stress in der Pflanze hochreguliertes Protein. Zur Funktion dieses Proteins gibt es allerdings noch keine Information (Cornilescu et al. 2004; Dgany et al. 2004; Lytle et al. 2004). Für den Haploblock auf Chromosom C3 wurden zwei Kandidatengene gefunden: BnaC03g59130D, welches für die Bildung der Pyruvat-Dehydrogenase e1 Beta-Untereinheit verantwortlich ist, und BnaC03g60190D, welches das 5-methylthioadenosin S-adenosylhomocystein-Nucleosindase 1-like codiert. Dabei ist ersteres in der Bildung von zellulären Aminosäuren involviert. Genauer gesagt bildet es eine Einheit der Pyruvatdehydrogenase, welches Pyruvat in Acetyl-CoA und CO₂ spaltet. Acetyl-CoA ist wiederum ein Ausgangsstoff für die Methionin Biosynthese (Miran et al. 1993). Das Enzym 5-methylthioadenosin S-adenosylhomocystein-Nucleosindase 1-like ist direkt in die Biosynthese von Methionin involviert (Citrnáci et al. 2007).

Für Prolin konnte ein Kandidatengen mit Hilfe des Haploblocks auf Chromosom C6 identifiziert werden. Das Gen BnaC06g01890D codiert das Protein Hydroxyprolin-reiches-Glucoprotein und ist reich an Prolin. Dies ist wahrscheinlich auch der Grund warum dieses Gen über die GWAS identifiziert wurde.

Für Serin auf Chromosom C6 wurden zwei Kandidatengene gefunden: BnaC06g03540D, welches für die Bildung des Proteins Prolyloligopeptidase-Familienproteins zuständig ist, und BnaC06g03570D, welches ein Protease-2 ähnliches Protein codiert. Das Prolyloligopeptidase-Familienprotein kommt in Pflanzen, Ratten und Menschen vor und gehört zu der Gruppe der Serin Peptidasen. Dieses kann kleine Peptide mit bis zu 30 Aminosäuren hydrolisieren (Tan et al. 2013). Der Zusammenhang mit Serin wird möglicherweise durch den Gehalt an Serin in der Molekülstruktur zusammenhängen. Das Protein Protease- 2-ähnlich gehört ebenfalls zu den Serin Peptidasen. Diese sind unter anderem in der

Pflanzenentwicklung und Abwehrreaktionen involviert (Figueiredo et al. 2018). Auch hier wird das Serin in der Molekülstruktur zur Identifizierung im Zusammenhang mit dem Seringehalt eine Rolle gespielt haben.

4.3.4 Gene, welche mit den einzelnen Aminosäuren assoziiert sind

Es konnten Kandidatengene für die Aminosäuren Alanin, Glutamin, Leucin, Methionin, Isoleucin, Prolin Serin und Threonin mit Hilfe von einzelnen SNP-Markern gefunden werden. Im Folgenden wird der Zusammenhang des Kandidatengens mit dem jeweiligen Merkmal diskutiert.

Für Alanin wurden drei Kandidatengene gefunden, welche auf Chromosom A1 (BnaA01g24280D) und auf Chromosom A3 (BnaA03g54560D, BnaA03g54610D) lokalisiert sind. Das Gen auf Chromosom A1 codiert das Pyruvatkinaseisozym, welches chloroplastenähnlich ist. Dieses Enzym ist in die Glykolyse involviert, welche die Zuckerverbindungen aus dem Photosynthesestoffwechsel in Vorstufen von Protein- und Ölverbindungen umwandelt (Andre et al. 2007). Focks and Benning (1998) konnten zudem zeigen, dass 90% der aufgenommenen Glucose bei Raps während des Wachstums in Pyruvat, einen Ausgangsstoff für die Alaninbiosynthese, umgebaut wird. Wahrscheinlich ist das Pyruvat in diesem Fall auch für den Fund des Kandidatengens verantwortlich. Die anderen zwei Gene auf Chromosom A3 codieren die α -Untereinheit der Pyruvatdehydrogenase e1 und die Aspartataminotransferase. Die α -Untereinheit der Pyruvatdehydrogenase e1 ist, wie auch die beta Untereinheit, an der Bildung von Acetyl-CoA aus Pyruvat beteiligt. Acetyl Co-A wiederum ist der Ausgangsstoff für den Citratzyklus, dessen Produkt Oxalacetat als Edukt für die Synthese der proteinogenen Aminosäuren der Aspartatfamilie dient. Alanin selbst ist allerdings innerhalb der Pyruvatfamilie zu finden, welche aus Pyruvat synthetisiert wird. Eine mögliche Erklärung für den Zusammenhang hier ist Cystathionin, welches aus Cystein hergestellt wird, und einen Vorläufer für die Methioninsynthese darstellt. Aus Cystathionin kann unter Abspaltung von Pyruvat Methionin entstehen; Pyruvat ist der Ausgangsstoff für die Alaninsynthese (Ravanel et al. 1998). Die Aspartataminotransferase ist an der Biosynthese von Aspartat beteiligt, welches den zentralen Stoff für die Synthese der Aspartataminosäuren darstellt (La Torre et al. 2014). Wie oben schon erläutert, könnte das bei der Synthese von Methionin gebildete Pyruvat ursächlich für den hier gefunden Zusammenhang sein (Ravanel et al. 1998).

Für Glutamin konnte ein Kandidatengen (BnaA0215650D) auf Chromosom A2 identifiziert werden. Dieses codiert das Enzym Histidinol-Phosphataminotransferase, welches eine zentrale Rolle in der Glutamatfamilie einnimmt. Hier ist es verantwortlich für die Bildung von Histidin über Glutamin aus Glutamat. Bei Arabidopsis konnte festgestellt werden, dass ein knockout des Gens AtHPA1, welches für die Bildung der Histidinol-Phosphataminotransferase in Arabidopsis verantwortlich ist, nicht zum Absterben durch Histidinmangel führt, sondern zu weiterem Primärwurzelswachstum zwei Tage nach

der Keimung (Rutkiewicz et al. 2023). Durch den engen Zusammenhang der Histidinol-Phosphataminotransferase mit der Glutaminsynthese wird ersichtlich, weshalb dieses Kandidatengen identifiziert werden konnte.

Für Leucin wurden zwei Kandidatengene gefunden: Auf dem Chromosom A1 das Gen BnaA01g24280D, welches das Protein Pyruvatkinase-Isozym-Chloroplasten-ähnlich codiert, und auf Chromosom A5 das Gen BnaA05g07770D, welches eine Kinase codiert. Die Pyruvatkinase (Isozym-Chloroplasten-ähnlich) ist ein wichtiges Enzym in der Glykolyse, in welcher Glukose zu Pyruvat umgebaut wird. Pyruvat wiederum ist der Ausgangsstoff für die Synthese von Leucin (Ambasht and Kayastha 2002). Daher besteht ein direkt erkennbarer Zusammenhang zwischen der Pyruvatkinase und der Aminosäure Leucin. Das andere Kandidatengen auf Chromosom A5 codiert eine Enolase. Dies ist ein Enzym, welches ebenfalls in der Glykolyse die Dehydratation von 2-Phosphoglycerat zu Phosphoenolpyruvat katalysiert (van der Straeten et al. 1991). Auch hier könnte der Zusammenhang zwischen der Enolase und Leucin durch Pyruvat hergestellt werden.

Für Methionin, einer für den Menschen ebenfalls essentielle Aminosäure wie auch Leucin, konnten zwei Kandidatengene (BnaA10g18790D, BnaA10g19170D) auf Chromosom A10 gefunden werden. Das Kandidatengen BnaA10g18790D codiert das Enzym Cystathionine γ -synthase, welche direkt in die Biosynthese von Methionin involviert ist. Innerhalb der Aspartatfamilie werden Threonin und Methionin über *O*-Phosphohomoserin synthetisiert. Für Methionin wird *O*-Phosphohomoserin zusammen mit Cystein zu Cystathionine und weiterhin über zwei weitere Enzyme (CgS cystathionine β -lyase, methionine synthase) zu Methionin umgebaut (Hesse et al. 2004). Da das Kandidatengen ein direkt an der Methioninsynthese beteiligtes Enzym codiert, ist ein starker Zusammenhang zwischen dem Kandidatengen und dem Methioningehalt anzunehmen. Das andere Kandidatengen (BnaA10g19170D) für Methionin codiert das Enzym Peptiddeformylase 1b. Deformylasen sind wahrscheinlich an der Abspaltung des endständigen Methionins des Stickstoffendes von reifen Proteinen beteiligt. Dieser Prozess war lange Zeit nur bei Bakterien bekannt, in früher Vergangenheit konnten die Deformylasen PDF1A und PDF1B auch bei höheren Pflanzen nachgewiesen werden (Giglione and Meinel 2001; Serero et al. 2001). Die Abspaltung des endständigen Methionins am Stickstoffende für die Proteinreifung ist dabei neben der Acetylierung des Stickstoffendes einer der häufigsten posttranslationalen Veränderung von Proteinen. Mutmaßlich steht das Methionin, welches hier abgespalten wird, im Zusammenhang mit dem Kandidatengen und dem Methioningehalt und ist der Grund, warum das Kandidatengen für den Methioningehalt identifiziert wurde.

Für Isoleucin konnte ein Kandidatengen (BnaA05g15970D) auf Chromosom A5 identifiziert werden. Dieses Gen codiert einen Vorläufer der monofunktionalen Aspartokinase und könnte damit direkt im

Biosyntheseprozess von Isoleucin beteiligt sein. Isoleucin gehört zur Aspartatfamilie und wird unter anderem aus Aspartat über Threonin synthetisiert (Lo et al. 2009).

Das Kandidatengen BnaA02g14880D wurde im Zusammenhang mit Prolin gefunden. Es ist auf Chromosom A2 lokalisiert und codiert eine prolinreiche-rezeptorartige-Proteinkinase, welche perk 13 ähnlich ist. Die Rolle dieses speziellen Enzyms ist nicht klar. Allerdings ist bekannt, dass es in Arabidopsis in der Genfamilie der rezeptorähnlichen Proteinkinasen mehr als 600 Mitglieder gibt. Die Aufgaben dieser Proteinkinasen sind vielfältig und umfassen unter anderem hormonelle Reaktionswege, Zelldifferenzierung, Pflanzenwachstum und -entwicklung, Selbstinkompatibilität und die Erkennung von Symbionten und Pathogenen (Morris and Walker 2003). In dem vorliegenden Fall wird die Assoziation wahrscheinlich durch das Prolin hervorgerufen. Für Prolin wurden drei weitere Kandidatengene auf Chromosom A5 gefunden. BnaA05g19560D (Chromosom A5) codiert ein Protein, welches ähnlich der transparenten Testa-12 ist. Die tt Gene (transparent Testa) im Raps sind an der Biosynthese von Proanthocyanidin beteiligt, und können durch eine Mutation in diesen Genen, durch welche diese herunterreguliert werden oder gar vollkommen ihre Funktion verlieren, zu gelber Samenfarbe durch eine transparente Samenschale führen (Chai et al. 2009; Wei et al. 2023). Samen mit einer transparenten Samenschale zeigen generell geringere Fasergehalte und gleichzeitig höhere Protein- und Ölgehalte (Chai et al. 2009). Da ein geringerer Fasergehalt in der Schale einen direkten positiven Einfluss auf den Proteingehalt hat, könnte dies einen Einfluss auf den Prolingehalt im Samenkorn haben und zur Assoziation dieses Kandidatengens geführt haben. Das Kandidatengen BnaA05g22420D, ein weiteres Kandidatengen für Prolin, codiert die Glutaminsynthetase, welche für den Einbau von anorganischem Stickstoff in die Aminosäure Glutamin verantwortlich ist (Valderrama-Martín et al. 2022). Dabei gehören sowohl Prolin als auch Glutamin zur Glutamatfamilie und werden beide aus Glutamat synthetisiert (Schubert 2021). Das Gen BnaA05g22920D wurde als Kandidatengen ebenfalls für Prolin gefunden. Es codiert den Transkriptionsfaktor bhlh147. In Arabidopsis sind die sogenannten basic-Loop-Helix-Loop Proteine eine der größten Gruppen der Transkriptionsfaktoren. Dabei erfüllen diese Proteine mannigfaltige Aufgaben im Pflanzenwachstum, in der Pflanzenentwicklung, der Lichtsignalübertragung, von Stressreaktionen und bei Hormonsignalen (Hao et al. 2021). Es gibt keinen Anhaltspunkt, warum das Kandidatengen über eine Assoziation mit Prolin verfügt. Für Serin wurde das Kandidatengen BnaA03g02040D auf Chromosom A3, welches die Glutamat Dehydrogenase 2 codiert, gefunden. Dieses Enzym ist dafür zuständig Ammonium zu assimilieren, indem α -Ketoglutarat zu Glutamat umgebaut wird (Kwinta and Bielawski 1998). Glutamat allerdings ist kein direkter Vorläufer für Serin, denn Serin gehört zur Serinfamilie und Glutamat in die Glutamatfamilie (Schubert 2021). Aus diesem Grund gibt es zwar einen direkten Zusammenhang zur Biosynthese von Aminosäuren, nicht jedoch direkt zu Serin. Für Threonin konnte ein Kandidatengen

(BnaA02g16170D) über SNP-Marker identifiziert werden, welches auf Chromosom A2 lokalisiert ist. Dieses Kandidatengens codiert die Threonin Synthase. Dies ist ein Enzym, welches den letzten Schritt zur Synthese von Threonin ermöglicht. Threonin gehört in die Aspartatfamilie und wird aus L-Homoserinphosphat und Pyridoxal 5-Phosphat hergestellt (Laber et al. 1999; Schubert 2021). Da die Threonin Synthase direkt an der Biosynthese von Threonin beteiligt ist, ist von einem direkten Zusammenhang zwischen dem Kandidatengen und dem Merkmal Threoningehalt auszugehen.

4.3.5 Gene, welche mit den essentiellen- und nicht-essentiellen Aminosäuren assoziiert sind

Für die EAA wurden zwei Gene identifiziert, die mit dem in der GWAS gefundenen SNP (Bn-A02-p8190375) assoziiert sind. Diese Gene liegen innerhalb von 2 Mbp des gefundenen SNP auf Chromosom A2. Bei einem LD von 0,45 wird in dieser Arbeit von einer Kopplung zwischen dem SNP und dem Gen (BnaA02g13500D) ausgegangen. Darüber hinaus sagen die Annotationen, dass das codierte Protein „threonine dehydratase chloroplastic-like“ eine Rolle im Threonin- und Isoleucin-Biosyntheseprozess spielt. Beide dieser Aminosäuren sind essentielle Aminosäuren. Zusammengenommen liegt ihr Anteil an den essentiellen Aminosäuren nach Wanasundara et al. (2017) bei etwa 21 % der EAA (100 % berechnet ohne Tryptophan und mit Cystein). Das ist etwa ein Fünftel der gesamten EAA, was erklären könnte, warum dieses Gen in Verbindung mit dem Gehalt der EAA steht. Ein weiteres SNP (Bn-A02-p8190375) assoziiertes Gen (BnaA02g14110D) für EAA (LD=0,354) und NEA (LD=0,354) ist für die Synthese des Proteins „Protein Phyllo“ verantwortlich, das offenbar am „cellular amino acid catabolic process“ beteiligt ist. Zunächst muss erwähnt werden, dass die Biosynthese von Proteinen und Aminosäuren weitaus besser als der Abbau untersucht ist. Normalerweise findet der Abbau von Proteinen und Aminosäuren während des gesamten Lebenszyklus einer Pflanze statt, insbesondere aber während der Keimung, Seneszenz und stressinduzierten Seneszenz (Hildebrandt et al. 2015). Der Abbau von Proteinen und Aminosäuren wird hauptsächlich von verschiedenen Klassen von Proteasen organisiert. Sehr verbreitet sind hier die Serin- und die Aspartatproteasen. In *Brassica napus* nehmen die Aspartatproteasen während der N-Hunger-Seneszenz zu und bleiben bis zur späten Seneszenz auf einem hohen Niveau (Roberts et al. 2012). Es ist vorstellbar, dass dieses Gen mit den EAA- und NEA-Gehalten assoziiert ist, da während der Seneszenz der Proteinabbau hoch ist, um Proteine in Samen zu verlagern (Hildebrandt et al. 2015). Weiterhin wurde gezeigt, dass während der Seneszenz die freien Pools aller Aminosäuren zunehmen (Watanabe et al. 2013). Bei *Arabidopsis* kann abiotischer Stress insbesondere die Gehalte an Lysin und Threonin erhöhen (Obata and Fernie 2012). Das zweite Gen (BnaA08g22970D), welches im Zusammenhang mit dem NEA-Gehalt (LD = 0,318) ermittelt wurde, befindet sich auf Chromosom A8 und ist am L-Serin-Biosyntheseprozess sowie an der Aminosäurebindung beteiligt. Das dabei entstehende Protein ist die „d-3-phosphoglycerate-dehydrogenase, chloroplastic-like“. Die Suche nach

der Funktion dieses Proteins ergab, dass es in *Arabidopsis thaliana* der Biosynthese von L-Serin, einem NEA, dient. Darüber hinaus ist L-Serin eine Vorstufe für schwefelhaltige Aminosäuren und ein Substrat für die Tryptophan-Synthase (Okamura and Hirai 2017). Serin ist eine nicht-essentielle Aminosäure und macht nach den Ergebnissen von Wanasundara et al. (2017) etwa 25 % der gesamten nicht-essentiellen Aminosäuren aus.

4.3.6 Gene, welche mit dem Öl- und Proteingehalt assoziiert sind

Für den Proteingehalt wurden sieben assoziierte Gene gefunden, einige davon mit einem sehr hohen LD zwischen 0,9 und 1,0. Diese werden hier nur kurz der Vollständigkeit halber eingeordnet, da sich diese Arbeit auf die Proteinqualität konzentrieren soll. Die beiden Gene (BnaC01g08070D, BnaC01g08080D), die auf Chromosom C1 identifiziert wurden, sind mit demselben SNP (LD=0,911) assoziiert und codieren dasselbe Protein, und zwar „glycolate oxidase“, welche eine Funktion im zytosolischen Ribosom erfüllt. Diese Proteinklasse spielt eine entscheidende Rolle im hochkomplexen Prozess der Proteinbiosynthese. In *Arabidopsis thaliana* sind mehr als 400 Gene annotiert, die als zytosolische, mitochondriale oder chloroplastische ribosomale Proteine oder ribosomal-ähnliche Proteine zu dieser Klasse gehören (Carroll et al. 2008). Betrachtet man die Bedeutung der cytosolischen ribosomalen Proteine, besteht hier kein Zweifel daran, dass diese Gene zum Proteingehalt im Raps beitragen. Alle anderen Gene, die mit dem SNP mit hohem LD für den Proteingehalt assoziiert waren, zeigten Annotationen in Richtung des Ribosoms. Einige codieren für eine Untereinheit des Ribosomenkomplexes, einige haben zusätzliche spezielle Aufgaben wie die Reaktion auf fehlgefaltete Proteine oder sequenzspezifische DNA-Bindung. Allen ist jedoch gemein, dass sie direkt mit der Proteinbiosynthese in Verbindung stehen. Für den SNP (Bn-A06-p5947781) auf Chromosom A06 konnten zwei assoziierte Gene identifiziert werden, deren Proteine unter anderem Aufgaben bei der zytostolischen Ribosomen Chromatin-Bindung und in der DNA Transkription erfüllen. Auch wenn die hier gefundenen Gene nicht direkt mit Speicherproteinen verknüpft sind, ist aufgrund ihrer Funktion klar, dass sie für die Generierung des Proteingehalts von entscheidender Bedeutung und daher für den Proteingehalt unverzichtbar sind. Chao et al. (2017) fanden in ihrer QTL-Studie in einer DH-Population 68 QTL für den Samenproteingehalt auf 12 Chromosomen, die 2,19 – 27,4 % der phänotypischen Variation des Samenproteingehalts zeigen. Der größte Teil der phänotypischen Varietät wurde auf den Chromosomen A3, A9, C3 und C5 gefunden (Chao et al. 2017). Interessanterweise findet sich keiner der in dieser genetischen Studie gefundenen Loci auf diesen Chromosomen. Die hier identifizierten Loci/Gene für den Proteingehalt sind auf den Chromosomen C1, C4, A2 und A6 lokalisiert. Eine weitere Studie von Tang et al. (2019) fand zwei Kandidatengene für den Samenproteingehalt auf den Chromosomen A7 (BnaA07g05230D) und C1 (BnaAC01g22960D). Die Suche nach den orthologen Genen in *Arabidopsis* zeigte, dass das Gen von Chromosom A7 an der Proteolyse und das Gen von C1 an der Stärkemobilisierung beteiligt ist (Tang et al. 2019).

4.3.7 Loci der Traits im Literaturvergleich

In der vorliegenden Arbeit wurde eine umfangreiche genomweite Assoziationsstudie durchgeführt. Diese konnte zeigen, dass für das Merkmal Cruciferin ein SNP auf Chromosom A4 zu finden ist. Die einschlägige Literatur führt hier vor allem die Chromosomen C9 und A2 auf (Schatzki et al. 2014). Auch bei dem Merkmal Napin sind die Angaben gegensätzlich. Die vorliegende Arbeit identifizierte interessante Regionen auf den Chromosomen A5, A9 und C2. Schatzki et al. (2014) fanden dagegen Loci auf den Chromosomen A2, C6 und C9. Diese kontroversen Angaben könnten durch unterschiedliche Untersuchungsmethoden verursacht worden sein. In Schatzki et al. (2014) wurde mit einer Doppelhaploiden-Population gearbeitet, welche aus einer Kreuzung zwischen einem resynthetisiertem Raps, welcher hohe Erucasäure- und Glucosinolatgehalte im Samen zeigte, und einer Elitesorte hervorgingen. Für die GWAS in der vorliegenden Arbeit wurden die Daten aus einem Winterrapsdiversitätsset erhoben, welches Akzessionen aus vielen verschiedenen Herkünften vereint, also Liniensorten. Für den Proteingehalt wurden in der vorliegenden Arbeit interessante Regionen auf den Chromosomen A1, A2, A5, A6, C1, C3 und C4 identifiziert. Auch in Teh and Möllers (2016) wurden unter anderem Regionen auf den Chromosomen A1 und C3 identifiziert. Darüber hinaus wurde die Kopplungsgruppe A7 genannt. In Wen et al. (2016) wurden Genomregionen für die nicht-essentiellen Aminosäuren identifiziert. Dabei wurden neben dem embryonalen Genom auch das maternale Genom untersucht. Für Arginin konnten in der vorliegenden Arbeit Loci auf den Kopplungsgruppen A3, A7 und C3 ausföndig gemacht werden. In Wen et al. (2016) wird ebenfalls die Kopplungsgruppe A7 genannt. Die anderen identifizierten Genorte liegen auf den Chromosomen A1, A4, A5 und A8 (Wen et al. 2016). Für die weiteren NEA bei Raps Alanin, Glutaminsäure, Prolin und Serin wurden keine Übereinstimmungen in den QTL gefunden. Für Glycin und Asparaginsäure konnten bei Wen et al. (2016) im Gegensatz zu der vorliegenden Arbeit QTL identifiziert werden. Diese liegen für Glycin auf A4, A7 und C2. Für Asparaginsäure wurden die Kopplungsgruppen A1, A4, A6, A9, C2 und C4 genannt. In der vorliegenden Arbeit wurden zwei QTL für Serin (A3, C6) gefunden, wohingegen Wen et al. (2016) keine QTL für Serin angibt.

4.4 Proteinqualität und Stickstoffdüngung in Elitewinterrapsorten

Wie in früheren Studien gezeigt (Josefsson 1970; Ahmad et al. 2007; Groth et al. 2020) wird auch hier festgestellt, dass eine erhöhte Stickstoffdüngung den Samenproteingehalt im Allgemeinen erhöht. Aufgrund des höheren Proteingehaltes steigen auch die absoluten Gehalte beider Samenproteinfraktionen Cruciferin und Napin mit einer höheren Stickstoffverfügbarkeit. Dies ist an den positiven errechneten Korrelationen abzulesen. Diese Korrelationen zeigen auch, dass in der niedrigen Stickstoffdüngestufe (Hier N1) ein steigender Samenertrag pro Hektar zu einer Verringerung des Cruciferingehaltes föhrt. Nimmt die Proteinausbeute zu, wird außerdem der Cruciferingehalt leicht reduziert. Diese Ergebnisse deuten an, dass eine reduzierte Stickstoffdüngung theoretisch

Voraussetzungen für einen erhöhten Napin-Anteil innerhalb des Samenproteins schafft. Poisson et al. (2019) führten einen Feldversuch mit unterschiedlicher N- und S-Düngung durch, um die Veränderung der Proteinqualität in Bezug auf die Speicherproteinfraktionen zu erschließen. Genau wie in der vorliegenden Studie betrachteten Poisson et al. (2019) Napin aufgrund seines höheren Gehalts an schwefelhaltigen Aminosäuren als die ernährungsphysiologisch wertvollere Proteinfraktion. Poisson et al. (2019) fanden heraus, dass eine erhöhte N-Düngung den Cruciferin-Anteil und damit das Cruciferin:Napin-Verhältnis in den Samen erhöht. Weiterhin wurde ein erhöhter Napin Anteil im Samen gemessen, wenn zusätzlich Schwefel gedüngt wurde. Darüber hinaus erhöhte eine kombinierte Düngung von Schwefel und Stickstoff die Napin-Gehalte, solange die Stickstoffdüngung moderat blieb (Poisson et al. 2019). Daraus wird für die hier erhobenen Daten geschlossen, dass eine moderate N-Düngung mit guter Schwefelverfügbarkeit den Nährwert des Samenproteins erhöhen kann. Bei Reis forciert eine erhöhte N-Düngung aufgrund des erhöhten Glutelingehalts, der reich an Lysin ist, die Zunahme des Nährwertes (Leesawatwong et al. 2005). Bei Hart- und Weichweizen zeigten Labuschagne et al. (2006), dass die Genotypen hinsichtlich ihrer Proteinfraktionen unterschiedlich auf Stickstoffdüngung reagierten. Außerdem sahen Labuschagne et al. (2006), dass der Zeitpunkt der Stickstoffgabe die Proteinfraktionen weniger beeinflusste als die tatsächliche Menge der N-Düngung (Labuschagne et al. 2006). Alle diese Ergebnisse zeigen, dass eine erhöhte Stickstoffverfügbarkeit die Proteinfraktionen in verschiedenen Pflanzen in Richtung der schwefelarmen Proteinfraktionen verschieben wird. Diese Beobachtung ist in Übereinstimmung mit der Schlussfolgerung von Kirkman et al. (1982), dass eine erhöhte Stickstoffdüngung bei Gerste die lysinarme Proteinfraktion Hordein erhöht. Unerwartet war das Ergebnis, dass die hier untersuchten neueren registrierten 00-Sorten ein leicht verringertes Cruciferin:Napin-Verhältnis aufwiesen. Dafür spricht die negative Korrelation des Cruciferin:Napin-Verhältnisses mit dem Zulassungsjahr bei stickstoffarmer Düngung. Eine genetische Studie von Malabat et al. (2013) zeigte, dass die ++-Sorten von Raps im Vergleich zu den 00-Qualitäten ein eher verringertes Cruciferin:Napin-Verhältnis aufweisen. Sicherlich sind die hier gezeigten Cruciferin:Napin-Verhältnisse nicht so niedrig wie bei Malabat et al. (2013). Es wird dennoch davon ausgegangen, dass die Reduktion des Cruciferin:Napin-Verhältnisses unbeabsichtigt durch Züchtungsbemühungen reduziert wurde. Wird berücksichtigt, dass eine eher reduzierte N-Verfügbarkeit den Nährwert der hier untersuchten Sorten erhöht, könnte diese Selektion stattgefunden haben, während die Züchter stickstoffeffiziente Sorten im Auge hatten. Insgesamt zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass Napin ein sehr umweltabhängiges Merkmal ist, was auch durch die geringe Vererbbarkeit angezeigt wird. Weiterhin wird aufgrund der geringen Heritabilität von einer starken Genotyp-Umweltinteraktion ausgegangen.

4.5 Bedeutung der Haploblöcke in den Elitesorten des Stickstoffdüngerversuchs

Aufgrund der niedrigen errechneten Heritabilität im Winterrapsdiversitätsset stellt sich die Frage, inwieweit sich die Ergebnisse aus der GWAS in die Wirklichkeit übertragen lassen. Aus diesem Grund wurden die Genotypisierungsdaten der Eliterapsorten aus dem Stickstoffdüngerversuch untersucht. Es wurden die gleichen Haplotypen, welche in der GWAS identifiziert werden konnten, gefunden. Dies ist ein Indiz dafür, dass die in der vorliegenden Arbeit identifizierten Haplotypen für die Merkmalsausprägung, unabhängig von der Heritabilität, eine wichtige Rolle spielen. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass in neueren Elitesorten ein tendenziell reduziertes CNR vorliegt, obwohl in den letzten Jahren eine starke Selektion auf Ölausbeute erfolgte. Hier scheint die negative Korrelation des Öl- und Proteingehaltes nicht ausschlaggebend gewesen zu sein. Zudem konnten Stahl et al. (2017) zeigen, dass der Proteingehalt über die Jahre konstant blieb, jedoch die höheren Kornerträge auch höhere Proteinerträge zu Folge haben. Die vorliegende Arbeit zeigt, dass das Merkmal CNR keiner Genotyp-Umwelt Interaktion unterliegt und dass die Stickstoffdüngung nur einen sehr geringen Einfluss auf das Merkmal CNR hat, jedoch hochsignifikante Unterschiede zwischen den getesteten Elitesorten zu finden sind. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass das CNR genetisch fixiert ist und der verfügbare Stickstoff somit einen großen Einfluss auf die Proteinmenge hat, nicht jedoch auf die Proteinqualität. Für die Produktion von Rapsprotein ist dies von großem Vorteil. Die vorhandenen Hochleistungssorten können weiterhin für die Ölproduktion verwendet werden, wobei für den Anwender keine höhere N-Düngung erforderlich ist, um eine hohe Proteinausbeute und -qualität zu erzielen.

5. Fazit

Rapsschrot und Rapsextraktionsschrot sind seit der Reduktion von Glucosinolaten und Erucasäure in den 1970er Jahren und aufgrund ihrer ausgewogenen Aminosäureprofile mit vergleichsweise hohen Anteilen an den schwefelhaltigen Aminosäuren Methionin und Cystein eine wertvolle Nahrungsquelle für die Tierernährung. Der Klimawandel und ein neues Bewusstsein für gesunde Ernährung schufen den Trend, tierisches Protein durch pflanzliches Protein zu ersetzen. Dementsprechend ist die Lebensmittelindustrie stets auf der Suche nach pflanzlichen Proteinen und fand Raps als Quelle für hochwertiges Protein. Bis heute spielen der Proteingehalt und die Proteinqualität für die kommerzielle Pflanzenzüchtung eine untergeordnete Rolle, da Landwirte für den Ölgehalt ihres Ernteguts entlohnt werden. Außerdem sind Öl- und Proteingehalt negativ korreliert, was bedeutet, dass eine Erhöhung des Proteingehalts eine Verringerung des Ölgehalts und damit weniger Einkommen für die Erzeuger bedeuten würde. Um Anreize für kommerzielle Züchter zu schaffen, an der Verbesserung der Proteinqualität zu arbeiten, müssen Landwirte sowohl für den Proteingehalt als auch für den Ölgehalt entlohnt werden. Ein Ansatz für die Pflanzenzüchtung könnte sein, auf die Summe aus Protein- und Ölgehalt zu selektieren. Abgesehen von den politischen Rahmenbedingungen zeigt diese Studie einmal mehr, dass eine große genetische Vielfalt für die zur Verfügung stehende Proteinqualität vorhanden ist. Die hier gefundenen mittleren Ergebnisse für den Gehalt an essentiellen Aminosäuren im Rapsschrot sind mit handelsüblichen Proteinkonzentraten vergleichbar. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Proteinqualität genetisch fixiert zu sein scheint. Dies wird geschlossen, da moderne Elite-Sorten bereits ein ernährungsphysiologisch günstiges Cruciferin:Napin-Verhältnis mit leicht erhöhten Napin-Anteilen im Samenprotein aufweisen. Dennoch ist weitere Forschung und insbesondere Validierung der Kandidatengene notwendig, um diese Ergebnisse in der weiteren Pflanzenzüchtung zur Verbesserung der Proteinqualität einzusetzen.

6. Summary

With a growing demand on sustainable and climate neutral plant proteins, the protein of oilseed rape (*Brassica napus*) was rediscovered. Currently, the interest for plant proteins is increasing due to the heightened awareness for healthy human nutrition and regionally produced products. In order to gain more knowledge about the protein quality in oilseed rape, the storage protein fractions cruciferin and napin and the amino acids in diverse winter oilseed rape accessions were assessed. The diverse panel of 226 winter oilseed rape accessions were grown in the field, under common measures of fertilisation and plant protection. After harvest, their protein- and oil content as well as the glucosinolate content, the erucic acid content and fatty acid patterns were determined through NIR spectroscopy. The protein fractions were analysed with SDS-PAGE and the amino acid patterns with amino acid analyses. In all traits the diversity set showed promising genetic diversity for further breeding efforts. Unfortunately, the heritability was quite low which might impede breeding efforts. The low heritability might be caused through unhealthy seeds or even the field trial design with only one replicate and pooling of the samples. Furthermore, a near infrared spectroscopy reflectance calibration for the amino acid fractions of essential-, semi-essential- and non-essential amino acids, for rapid and non-destructive measurements was established to assess the amino acid group patterns for additional genotypes. Subsequently, the estimated results of the NIRS measurements were used in a genome wide association study (GWAS) to gain more knowledge about the genetic background of the protein quality. A cross-validation of the NIRS calibration showed, that the calibration is useful for breeding decisions which apply to the extreme values in terms of the amino acid groups but not for the medium values. The GWAS yielded QTL for the traits erucic acid, glucosinolates, napin, EAA, NEA, the protein content and the oil content as well as haploblocks for napin, EAA, NEA and the protein content. A second field trial with 30 elite breeding varieties of oilseed rape of the last 25 years and different nitrogen fertilisation revealed that more recent registered varieties have a tendency towards a lower cruciferin:napin ratio which is favorable for human nutrition. These findings suggest that an indirect selection for napin richer genotypes might have happened in recent years already.

Overall, these results show that there is sufficient genetic diversity for improving the protein quality in oilseed rape. However, since extremely low heritability and high genotype-environment interaction were also measured, it may make more sense to use the already very high-quality rapeseed protein of the elite varieties, especially because the ever-increasing yields per hectare have also generated an increased protein yield. In addition, the establishment of NIRS calibration will simplify the breeding process towards high-quality protein varieties in rapeseed.

7. Zusammenfassung

Mit wachsender Nachfrage nach nachhaltigen und klimaneutralen Pflanzenproteinen wurde das Protein des Raps (*Brassica napus*) wiederentdeckt. Durch das gestiegene Bewusstsein für gesunde Ernährung und regional produzierte Lebensmittel werden pflanzliche Proteine stärker nachgefragt. Um mehr Wissen über die Proteinqualität in Raps zu erlangen, wurden die Speicherproteinfraktionen Cruciferin und Napin sowie die Aminosäurezusammensetzung in einem Winterrapsdiversitätsset untersucht. Ein Diversitätsset bestehend aus 226 Winterraps Akzessionen wurde mit den praxisüblichen Dünge- und Pflanzenschutzmaßnahmen im Feldversuch angebaut. Nach der Ernte wurde der Protein- und Ölgehalt sowie der Glucosinolatgehalt, der Erucasäuregehalt und das Fettsäuremuster mittels Nahinfrarotreflexionspektroskopie (NIRS) bestimmt. Die Proteinfraktionen wurden mit SDS-PAGE und die Aminosäuremuster mit Hilfe von Aminosäureanalysen analysiert. Das Diversitätsset zeigte in allen Merkmalen eine vielversprechende genetische Vielfalt für weitere Züchtungsanstrengungen. Die niedrige Heritabilität und die hierdurch verursachte hohe Genotyp-Umwelt-Interaktion könnte Züchtungsbemühungen im Hinblick auf die Verbesserung der Proteinqualität behindern. Die möglichen Gründe für die geringe Heritabilität könnten durch ungesundes Saatgut oder sogar das Feldversuchsdesign mit nur einer Wiederholung und Pooling der Proben verursacht worden sein. Darüber hinaus wurde eine NIRS-Kalibration für die Aminosäurefraktionen von essentiellen, semi-essentiellen und nicht-essentiellen Aminosäuren für eine schnelle und zerstörungsfreie Analysemethode erstellt, um die Aminosäuregruppenmuster für zusätzliche Genotypen festzustellen. Anschließend wurden die geschätzten Werte in einer genomweiten Assoziationsstudie (GWAS) verwendet, um mehr Wissen über den genetischen Hintergrund der Proteinqualität zu erlangen. Eine Kreuzvalidierung der NIRS-Kalibrierung zeigte, dass die Verwendung der NIRS-Kalibration für Zuchtentscheidungen sinnvoll sein kann, vor allem im Hinblick auf die die Extremwerte, welche hinsichtlich der Aminosäuregruppen gelten, nicht aber für die Mittelwerte. Die GWAS ergab QTL für die Merkmale Erucasäure, Glucosinolate, Napin, EAA, NEA, den Proteingehalt, den Ölgehalt, die einzelnen Aminosäuren Alanin, Glutamin, Leucin, Methionin, Isoleucin, Prolin, Serin und Threonin sowie Haploblöcke für Napin, EAA, NEA, Alanin, Arginin, Methionin, Prolin, Serin und den Proteingehalt. Darüber hinaus wurden Kandidatengene in einigen Haploblöcken und SNPs gefunden. Ein zweiter Feldversuch mit 30 Eliterapssorten der letzten 25 Jahre, welche unterschiedlicher Stickstoffdüngung unterlagen, ergab, dass neuere Sorten zu einem für die menschliche Ernährung günstigen Cruciferin:Napin-Verhältnis tendieren. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass bereits in den letzten Jahren eine indirekte Selektion auf im Verhältnis Napin-reichere Genotypen stattgefunden haben könnte.

Insgesamt zeigen diese Ergebnisse, dass eine ausreichende genetische Diversität zur Verbesserung der Proteinqualität in Raps vorhanden ist. Da aber auch eine extrem niedrige Heritabilität und hohe

Genotyp-Umwelt-Interaktion gemessen wurden, mag es sinnvoller sein, das bereits jetzt sehr hochwertige Rapsprotein der Elitesorten zu nutzen, vor allem, weil durch die immer höheren Flächenerträge auch ein erhöhter Proteinertrag generiert worden ist. Darüber hinaus wird die Etablierung der NIRS-Kalibrierung den Züchtungsprozess hin zu hochwertigen Proteinsorten in Raps vereinfachen.

Literaturverzeichnis

- Aachary AA, Thiyam-Hollander U, Eskin MN (2015) Canola/Rapeseed Proteins and Peptides. In: Ustunol Z (ed) Applied food protein chemistry, vol 52. Wiley Blackwell, Chichester, West Sussex, UK, Hoboken, NJ, USA, pp 193–218. <https://doi.org/10.1002/9781118860588.ch10>
- Adachi M, Takenaka Y, Gidamis AB, Mikami B, Utsumi S (2001) Crystal structure of soybean proglycinin A1aB1b homotrimer. *J Mol Biol* 305:291–305. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.4310>
- Ahmad G, Jan A, Arif M, Jan MT, Khattak RA (2007) Influence of nitrogen and sulfur fertilization on quality of canola (*Brassica napus* L.) under rainfed conditions. *J Zhejiang Univ Sci B* 8:731–737. <https://doi.org/10.1631/jzus.2007.B0731>
- Aider M, Barbana C (2011) Canola proteins: Composition, extraction, functional properties, bioactivity, applications as a food ingredient and allergenicity – A practical and critical review. *Trends in Food Science & Technology* 22:21–39. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.11.002>
- Akhov L, Ashe P, Tan Y, Datla R, Selvaraj G (2009) Proanthocyanidin biosynthesis in the seed coat of yellow-seeded, canola quality *Brassica napus* YN01-429 is constrained at the committed step catalyzed by dihydroflavonol 4-reductase. This paper is one of a selection of papers published in a Special Issue from the National Research Council of Canada – Plant Biotechnology Institute. *Botany* 87:616–625. <https://doi.org/10.1139/B09-036>
- Akram S, Arif MAR, Hameed A (2021) A GBS-based GWAS analysis of adaptability and yield traits in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Appl Genet* 62:27–41. <https://doi.org/10.1007/s13353-020-00593-1>
- Aleksandrowicz L, Green R, Joy EJM, Smith P, Haines A (2016) The Impacts of Dietary Change on Greenhouse Gas Emissions, Land Use, Water Use, and Health: A Systematic Review. *PLoS ONE* 11:e0165797. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165797>
- Altenbach SB, Kuo C-C, Staraci LC, Pearson KW, Wainwright C, Georgescu A, Townsend J (1992) Accumulation of a Brazil nut albumin in seeds of transgenic canola results in enhanced levels of seed protein methionine. *Plant Mol Biol* 18:235–245. <https://doi.org/10.1007/BF00034952>
- Ambasht PK, Kayastha AM (2002) Plant Pyruvate Kinase. *Biologia plant.* 45:1–10. <https://doi.org/10.1023/A:1015173724712>
- Andre C, Froehlich JE, Moll MR, Benning C (2007) A heteromeric plastidic pyruvate kinase complex involved in seed oil biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 19:2006–2022. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.048629>
- Arias T, Beilstein MA, Tang M, McKain MR, Pires JC (2014) Diversification times among *Brassica* (Brassicaceae) crops suggest hybrid formation after 20 million years of divergence. *American Journal of Botany* 101:86–91. <https://doi.org/10.3732/ajb.1300312>
- Asare E, Scarisbrick DH (1995) Rate of nitrogen and sulphur fertilizers on yield, yield components and seed quality of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Field Crops Research* 44:41–46. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(95\)00051-7](https://doi.org/10.1016/0378-4290(95)00051-7)
- Ascencio-Ibáñez JT, Sozzani R, Lee T-J, Chu T-M, Wolfinger RD, Cella R, Hanley-Bowdoin L (2008) Global analysis of *Arabidopsis* gene expression uncovers a complex array of changes impacting pathogen response and cell cycle during geminivirus infection. *Plant Physiol* 148:436–454. <https://doi.org/10.1104/pp.108.121038>
- Auger B, Baron C, Lucas M-O, Vautrin S, Bergès H, Chalhoub B, Fautrel A, Renard M, Nesi N (2009) Brassica orthologs from *BANYULS* belong to a small multigene family, which is involved in procyanidin accumulation in the seed. *Planta* 230:1167–1183. <https://doi.org/10.1007/s00425-009-1017-0>

- Aulchenko YS, Koning D-J de, Haley C (2007) Genomewide rapid association using mixed model and regression: a fast and simple method for genomewide pedigree-based quantitative trait loci association analysis. *Genetics* 177:577–585. <https://doi.org/10.1534/genetics.107.075614>
- Badani AG, Snowdon RJ, Wittkop B, Lipsa FD, Baetzel R, Horn R, Haro A de, Font R, Luhs W, Friedt W (2006) Colocalization of a partially dominant gene for yellow seed colour with a major QTL influencing acid detergent fibre (ADF) content in different crosses of oilseed rape (*Brassica napus*). *Genome* 49:1499–1509. <https://doi.org/10.1139/g06-091>
- Barnes RJ, Dhanoa MS, Lister SJ (1989) Standard Normal Variate Transformation and De-Trending of Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectra. *Appl Spectrosc* 43:772–777. <https://doi.org/10.1366/0003702894202201>
- Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S (2015) Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *J. Stat. Soft.* 67. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Beszterda M, Nogala-Kałużka M (2019) Current Research Developments on the Processing and Improvement of the Nutritional Quality of Rapeseed (*Brassica napus* L.). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 121:1800045. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800045>
- Boerema A, Peeters A, Swolfs S, Vandevenne F, Jacobs S, Staes J, Meire P (2016) Soybean Trade: Balancing Environmental and Socio-Economic Impacts of an Intercontinental Market. *PLoS ONE* 11:e0155222. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155222>
- Bokobza L (2007) Origin of Near-Infrared Absorption Bands. In: Siesler HW, Ozaki Y, Kawata S, Heise HM, Siesler HW (eds) *Near-infrared spectroscopy: Principles, instruments, applications*. Wiley-VCH, Weinheim, pp 11–41. <https://doi.org/10.1002/9783527612666.ch02>
- Borpatragohain P, Rose TJ, King GJ (2016) Fire and Brimstone: Molecular Interactions between Sulfur and Glucosinolate Biosynthesis in Model and Crop Brassicaceae. *Front Plant Sci* 7:1735. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01735>
- Bos C, Airinei G, Mariotti F, Benamouzig R, Bérot S, Evrard J, Fénart E, Tomé D, Gaudichon C (2007) The poor digestibility of rapeseed protein is balanced by its very high metabolic utilization in humans. *J Nutr* 137:594–600
- Bouchet A-S, Laperche A, Bissuel-Belaygue C, Snowdon R, Nesi N, Stahl A (2016) Nitrogen use efficiency in rapeseed. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 36:2029. <https://doi.org/10.1007/s13593-016-0371-0>
- Brown JC, Koeppel M, Coles B, Price KP (2005) Soybean Production and Conversion of Tropical Forest in the Brazilian Amazon: The Case of Vilhena, Rondônia. *AMBIO: A Journal of the Human Environment* 34:462–469. <https://doi.org/10.1579/0044-7447-34.6.462>
- Bus A, Körber N, Snowdon RJ, Stich B (2011) Patterns of molecular variation in a species-wide germplasm set of *Brassica napus*. *Theor Appl Genet* 123:1413–1423. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1676-7>
- Byczyńska A, Barciszewski J (1999) The Biosynthesis, Structure and Properties of Napin - the Storage Protein From Rape Seeds. *Journal of Plant Physiology* 154:417–425. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(99\)80277-6](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(99)80277-6)
- Cabrera-Bosquet L, Crossa J, Zitzewitz J von, Serret MD, Araus JL (2012) High-throughput phenotyping and genomic selection: the frontiers of crop breeding converge. *J Integr Plant Biol* 54:312–320. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2012.01116.x>
- Campbell L, Rempel CB, Wanasundara JPD (2016) Canola/Rapeseed Protein: Future Opportunities and Directions-Workshop Proceedings of IRC 2015. *Plants (Basel)* 5. <https://doi.org/10.3390/plants5020017>
- Carroll AJ, Heazlewood JL, Ito J, Millar AH (2008) Analysis of the Arabidopsis cytosolic ribosome proteome provides detailed insights into its components and their post-translational modification. *Mol Cell Proteomics* 7:347–369. <https://doi.org/10.1074/mcp.M700052-MCP200>

- Chai Y-R, Lei B, Huang H-L, Li J-N, Yin J-M, Tang Z-L, Wang R, Chen L (2009) *TRANSPARENT TESTA 12* genes from *Brassica napus* and parental species: cloning, evolution, and differential involvement in yellow seed trait. *Mol Genet Genomics* 281:109–123. <https://doi.org/10.1007/s00438-008-0399-1>
- Chalhoub B, Denoeud F, Liu S, Parkin IAP, Tang H, Wang X, Chiquet J, Belcram H, Tong C, Samans B, Corr ea M, Da Silva C, Just J, Falentin C, Koh CS, Le Clainche I, Bernard M, Bento P, Noel B, Labadie K, Alberti A, Charles M, Arnaud D, Guo H, Daviaud C, Alamery S, Jabbari K, Zhao M, Edger PP, Chelaifa H, Tack D, Lassalle G, Mestiri I, Schnell N, Le Paslier M-C, Fan G, Renault V, Bayer PE, Golicz AA, Manoli S, Lee T-H, Thi VHD, Chalabi S, Hu Q, Fan C, Tollenaere R, Lu Y, Battail C, Shen J, Sidebottom CHD, Wang X, Canaguier A, Chauveau A, B erard A, Deniot G, Guan M, Liu Z, Sun F, Lim YP, Lyons E, Town CD, Bancroft I, Wang X, Meng J, Ma J, Pires JC, King GJ, Brunel D, Delourme R, Renard M, Aury J-M, Adams KL, Batley J, Snowdon RJ, Tost J, Edwards D, Zhou Y, Hua W, Sharpe AG, Paterson AH, Guan C, Wincker P (2014) Plant genetics. Early allopolyploid evolution in the post-Neolithic *Brassica napus* oilseed genome. *Science* 345:950–953. <https://doi.org/10.1126/science.1253435>
- Chao H, Wang H, Wang X, Guo L, Gu J, Zhao W, Li B, Chen D, Raboanatahiry N, Li M (2017) Genetic dissection of seed oil and protein content and identification of networks associated with oil content in *Brassica napus*. *Sci Rep* 7:46295. <https://doi.org/10.1038/srep46295>
- Chao H, Guo L, Zhao W, Li H, Li M (2022) A major yellow-seed QTL on chromosome A09 significantly increases the oil content and reduces the fiber content of seed in *Brassica napus*. *Theor Appl Genet* 135:1293–1305. <https://doi.org/10.1007/s00122-022-04031-0>
- Chen GL, Zhang B, Wu JG, Shi CH (2011) Nondestructive assessment of amino acid composition in rapeseed meal based on intact seeds by near-infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology* 165:111–119. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.02.004>
- Clarke WE, Higgins EE, Plieske J, Wieseke R, Sidebottom C, Khedikar Y, Batley J, Edwards D, Meng J, Li R, Lawley CT, Pauquet J, Laga B, Cheung W, Iniguez-Luy F, Dyrzka E, Rae S, Stich B, Snowdon RJ, Sharpe AG, Ganai MW, Parkin IAP (2016) A high-density SNP genotyping array for *Brassica napus* and its ancestral diploid species based on optimised selection of single-locus markers in the allotetraploid genome. *Theor Appl Genet* 129:1887–1899. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2746-7>
- Cornilescu G, Cornilescu CC, Zhao Q, Frederick RO, Peterson FC, Thao S, Markley JL (2004) Solution structure of a homodimeric hypothetical protein, At5g22580, a structural genomics target from *Arabidopsis thaliana*. *J Biomol NMR* 29:387–390. <https://doi.org/10.1023/B:JNMR.0000032525.70677.16>
- Cozzolino D, Fassio A, Gimenez A (2001) The use of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict the composition of whole maize plants. *J. Sci. Food Agric.* 81:142–146. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20010101\)81:1<142:AID-JSFA790>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20010101)81:1<142:AID-JSFA790>3.0.CO;2-I)
- Crouch ML, Sussex IM (1981) Development and storage-protein synthesis in *Brassica napus* L. embryos in vivo and in vitro. *Planta* 153:64–74. <https://doi.org/10.1007/BF00385319>
- Ctrn ct  V, Stejskal F, Keithly JS, Hrd y I (2007) Characterization of S-adenosylhomocysteine hydrolase from *Cryptosporidium parvum*. *FEMS Microbiol Lett* 273:87–95. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00795.x>
- Cummins PM, Rochfort KD, O’Connor BF (2017) Ion-Exchange Chromatography: Basic Principles and Application. In: Walls D, Loughran ST (eds) *Protein Chromatography*, vol 1485. Springer New York, New York, NY, pp 209–223. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6412-3_11
- Dgany O, Gonzalez A, Sofer O, Wang W, Zolotnitsky G, Wolf A, Shoham Y, Altman A, Wolf SG, Shoseyov O, Almog O (2004) The structural basis of the thermostability of SP1, a novel plant

- (*Populus tremula*) boiling stable protein. *J Biol Chem* 279:51516–51523.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M409952200>
- D'Hooghe P, Dubousset L, Gallardo K, Kopriva S, Avice J-C, Trouverie J (2014) Evidence for Proteomic and Metabolic Adaptations Associated with Alterations of Seed Yield and Quality in Sulfur-limited *Brassica napus* L. *Molecular & Cellular Proteomics* 13:1165–1183.
<https://doi.org/10.1074/mcp.M113.034215>
- Dimov Z, Suprianto E, Hermann F, Möllers C (2012) Genetic variation for seed hull and fibre content in a collection of European winter oilseed rape material (*Brassica napus* L.) and development of NIRS calibrations. *Plant Breeding* 131:361–368. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2012.01951.x>
- Elmadfa I, Leitzmann C (2015) Ernährung des Menschen, 5th edn. Ulmer, Stuttgart
- Ericson ML, Rödin J, Lenman M, Glimelius K, Josefsson LG, Rask L (1986) Structure of the rapeseed 1.7 S storage protein, napin, and its precursor. *J Biol Chem* 261:14576–14581
- Falconer DS, Mackay TFC (1996) Introduction to quantitative genetics, 4th edn. Pearson Prentice Hall, Harlow
- FAO FAO.STAT: License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://www.fao.org/faostat/en/#data>. Accessed 20 July 2022
- Farrow SC, Facchini PJ (2014) Functional diversity of 2-oxoglutarate/Fe(II)-dependent dioxygenases in plant metabolism. *Front Plant Sci* 5:524. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00524>
- Fenwick G, Curtis R (1980) Rapeseed meal and its use in poultry diets. A review. *Animal Feed Science and Technology* 5:255–298. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(80\)90016-4](https://doi.org/10.1016/0377-8401(80)90016-4)
- Field B, Cardon G, Traka M, Botterman J, Vancanneyt G, Mithen R (2004) Glucosinolate and amino acid biosynthesis in Arabidopsis. *Plant Physiol* 135:828–839.
<https://doi.org/10.1104/pp.104.039347>
- Figueiredo J, Sousa Silva M, Figueiredo A (2018) Subtilisin-like proteases in plant defence: the past, the present and beyond. *Mol Plant Pathol* 19:1017–1028. <https://doi.org/10.1111/mpp.12567>
- Fleddermann M, Fechner A, Rossler A, Bahr M, Pastor A, Liebert F, Jahreis G (2013) Nutritional evaluation of rapeseed protein compared to soy protein for quality, plasma amino acids, and nitrogen balance--a randomized cross-over intervention study in humans. *Clin Nutr* 32:519–526.
<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2012.11.005>
- Focks N, Benning C (1998) *wrinkled1*: A novel, low-seed-oil mutant of Arabidopsis with a deficiency in the seed-specific regulation of carbohydrate metabolism. *Plant Physiol* 118:91–101.
<https://doi.org/10.1104/pp.118.1.91>
- Fogelberg F, Recknagel J (2017) Developing soy production in central and northern Europe. In: Murphy-Bokern D, Stoddard FL, Watson CA (eds) Legumes in cropping systems. CABI, UK, pp 109–124. <https://doi.org/10.1079/9781780644981.0109>
- Font R, Wittkop B, Badani AG, Rio-Celestino M, Friedt W, Luhs W, Haro-Bailon A (2005) The measurements of acid detergent fibre in rapeseed by visible and near-infrared spectroscopy. *Plant Breeding* 124:410–412. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2005.01138.x>
- Font R, Del Río-Celestino M, Haro-Bailón A de (2006) The use of near-infrared spectroscopy (NIRS) in the study of seed quality components in plant breeding programs. *Industrial Crops and Products* 24:307–313. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.06.012>
- Fontaine J, Hörr J, Schirmer B (2001) Near-infrared reflectance spectroscopy enables the fast and accurate prediction of the essential amino acid contents in soy, rapeseed meal, sunflower meal, peas, fishmeal, meat meal products, and poultry meal. *J. Agric. Food Chem.* 49:57–66.
<https://doi.org/10.1021/jf000946s>

- Friedt W, Tu J, Fu T (2018) Academic and Economic Importance of *Brassica napus* Rapeseed. In: Liu S, Snowdon R, Chalhouh B (eds) *The Brassica napus Genome*, vol 36. Springer International Publishing; Imprint: Springer, Cham, pp 1–20. https://doi.org/10.1007/978-3-319-43694-4_1
- Fritz JS (2004) Early milestones in the development of ion-exchange chromatography: a personal account. *Journal of Chromatography A* 1039:3–12. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.12.068>
- Froesch ER, Schmid C, Schwander J, Zapf J (1985) Actions of insulin-like growth factors. *Annu Rev Physiol* 47:443–467. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.47.030185.002303>
- Fu F, Liu L-Z, Chai Y-R, Chen L, Yang T, Jin M-Y, Ma A-F, Yan X-Y, Zhang Z-S, Li J-N (2007) Localization of QTLs for seed color using recombinant inbred lines of *Brassica napus* in different environments. *Genome* 50:840–854. <https://doi.org/10.1139/g07-068>
- Gacek K, Bartkowiak-Broda I, Batley J (2018) Genetic and Molecular Regulation of Seed Storage Proteins (SSPs) to Improve Protein Nutritional Value of Oilseed Rape (*Brassica napus* L.) Seeds. *Front Plant Sci* 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00890>
- Galant A, Preuss ML, Cameron JC, Jez JM (2011) Plant glutathione biosynthesis: diversity in biochemical regulation and reaction products. *Front Plant Sci* 2:45. <https://doi.org/10.3389/fpls.2011.00045>
- Galterio G, Grita L, Brunori A (1993) Pasta-Making Quality in *Triticum durum*. New Indices from the Ratio among Protein Components Separated by SDS-PAGE. *Plant Breeding* 110:290–296. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1993.tb00592.x>
- Gao H, Azam T, Randeniya S, Couturier J, Rouhier N, Johnson MK (2018) Function and maturation of the Fe-S center in dihydroxyacid dehydratase from *Arabidopsis*. *J. Biol. Chem.* 293:4422–4433. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA117.001592>
- Gehrig PM, Biemann K (1996) Assignment of the disulfide bonds in napin, a seed storage protein from *Brassica napus*, using matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry. *Pept Res* 9:308–314
- George R. Stark, William H. Stein, Stanford Moore (1960) Reactions of the Cyanate Present in Aqueous Urea with Amino Acids and Proteins. *J. Biol. Chem.* 235:3177–3181
- Ghodsvali A, Khodaparast MH, Vosoughi M, Diosady LL (2005) Preparation of canola protein materials using membrane technology and evaluation of meals functional properties. *Food Research International* 38:223–231. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.10.007>
- Giglione C, Meinel T (2001) Organellar peptide deformylases: universality of the N-terminal methionine cleavage mechanism. *Trends Plant Sci* 6:566–572. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(01\)02151-3](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(01)02151-3)
- González N, Marquès M, Nadal M, Domingo JL (2020) Meat consumption: Which are the current global risks? A review of recent (2010-2020) evidences. *Food Res Int* 137:109341. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109341>
- González-Ballester D, Sanz-Luque E, Galván A, Fernández E, Montaigu A de (2018) Arginine is a component of the ammonium-CYG56 signalling cascade that represses genes of the nitrogen assimilation pathway in *Chlamydomonas reinhardtii*. *PLoS ONE* 13:e0196167. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196167>
- Groth DA, Sokólski M, Jankowski KJ (2020) A Multi-Criteria Evaluation of the Effectiveness of Nitrogen and Sulfur Fertilization in Different Cultivars of Winter Rapeseed—Productivity, Economic and Energy Balance. *Energies* 13:4654. <https://doi.org/10.3390/en13184654>
- H.W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata, H.M. Heise (2002) *Near-infrared spectroscopy: Principles, instruments, and applications*. Wiley-VCH, Weinheim

- Hamdan M, Righetti PG (2005a) Proteomics Today: Protein assessment and biomarkers using mass spectrometry, 2D electrophoreses, and microarray technology. Wiley-Interscience series in mass spectrometry. John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ, USA. <https://doi.org/10.1002/0471709158>
- Hamdan M, Righetti PG (eds) (2005b) Proteomics Today. John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ, USA
- Hao Y, Zong X, Ren P, Qian Y, Fu A (2021) Basic Helix-Loop-Helix (bHLH) Transcription Factors Regulate a Wide Range of Functions in Arabidopsis. *Int J Mol Sci* 22. <https://doi.org/10.3390/ijms22137152>
- Harrell Jr., F., and Dupont, Ch. (2019) Hmisc: Harrell Miscellaneous. <https://CRAN.R-project.org/package=Hmisc>. Accessed 12 December 2022
- Harvey BL, Downey RK (1964) The Inheritance of erucic acid content in rapeseed (*Brassica napus*). *Can. J. Plant Sci.* 44:104–111. <https://doi.org/10.4141/cjps64-019>
- Hayes M (2021) Proteins and Peptides Derived from Rapeseed. In: Lafarga T, Bobo G, Aguiló-Aguayo I (eds) Oil and Oilseed Processing. Wiley, pp 203–217. <https://doi.org/10.1002/9781119575313.ch10>
- Hesse H, Kreft O, Maimann S, Zeh M, Hoefgen R (2004) Current understanding of the regulation of methionine biosynthesis in plants. *J Exp Bot* 55:1799–1808. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh139>
- Hildebrandt TM, Nunes Nesi A, Araújo WL, Braun H-P (2015) Amino Acid Catabolism in Plants. *Mol Plant* 8:1563–1579. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.09.005>
- Hothorn T, Bretz F, Westfall P (2008) Simultaneous inference in general parametric models. *Biom J* 50:346–363. <https://doi.org/10.1002/bimj.200810425>
- Howitt SM, Udvardi MK (2000) Structure, function and regulation of ammonium transporters in plants. *Biochim Biophys Acta* 1465:152–170. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(00\)00136-X](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(00)00136-X)
- Humbel RE (1990) Insulin-like growth factors I and II. *Eur J Biochem* 190:445–462. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1990.tb15595.x>
- Hutagalung AH, Novick PJ (2011) Role of Rab GTPases in membrane traffic and cell physiology. *Physiol Rev* 91:119–149. <https://doi.org/10.1152/physrev.00059.2009>
- Ivanova P, Kalaydzhiev H, Rustad T, Silva C, Chalova V (2017) Comparative biochemical profile of protein-rich products obtained from industrial rapeseed meal. *Emir. J. Food Agric* 29:170. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-11-1760>
- Jia W, Rodriguez-Alonso E, Bianeis M, Keppler JK, van der Goot AJ (2021) Assessing functional properties of rapeseed protein concentrate versus isolate for food applications. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 68:102636. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102636>
- Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation (2007) Protein and amino acid requirements in human nutrition: Report of a joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation ; [Geneva, 9 - 16 April 2002. WHO technical report series, vol 935. WHO, Geneva
- Josefsson E (1970) Glucosinolate content and amino acid composition of rapeseed (*Brassica napus*) meal as affected by sulphur and nitrogen nutrition. *J. Sci. Food Agric.* 21:98–103. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740210211>
- Kaspar H, Dettmer K, Gronwald W, Oefner PJ (2009) Advances in amino acid analysis. *Anal Bioanal Chem* 393:445–452. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2421-1>
- Kirkman MA, Shewry PR, Mifflin BJ (1982) The effect of nitrogen nutrition on the lysine content and protein composition of barley seeds. *J. Sci. Food Agric.* 33:115–127. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740330203>
- Kohno-Murase J, Murase M, Ichikawa H, Imamura J (1994) Effects of an antisense napin gene on seed storage compounds in transgenic *Brassica napus* seeds. *Plant Mol Biol* 26:1115–1124. <https://doi.org/10.1007/BF00040693>
- Kondra ZP, Stefansson BR (1970) Inheritance of the major glucosinolates of rapeseed (*Brassica napus*) meal. *Can. J. Plant Sci.* 50:643–647. <https://doi.org/10.4141/cjps70-122>

- Koonin EV, Tatusov RL (1994) Computer analysis of bacterial haloacid dehalogenases defines a large superfamily of hydrolases with diverse specificity. Application of an iterative approach to database search. *J Mol Biol* 244:125–132. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1994.1711>
- Körber N, Wittkop B, Bus A, Friedt W, Snowdon RJ, Stich B (2012) Seedling development in a *Brassica napus* diversity set and its relationship to agronomic performance. *Theor Appl Genet* 125:1275–1287. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1912-9>
- Kramer JKG, Farnworth ER, Thompson BK, Corner AH (1988) Testing a short-term feeding trial to assess compositional and histopathological changes in hearts of rats fed vegetable oils. *Lipids* 23:199–206. <https://doi.org/10.1007/BF02535458>
- Kutcher HR, Malhi SS, Gill KS (2005) Topography and Management of Nitrogen and Fungicide Affects Diseases and Productivity of Canola. *Agronomy Journal* 97:533–541. <https://doi.org/10.2134/agronj2005.0533>
- Kuznetsova A, Brockhoff PB, Christensen RHB (2017) lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *J. Stat. Soft.* 82. <https://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>
- Kwinta J, Bielawski W (1998) Glutamate dehydrogenase in higher plants. *Acta Physiol Plant* 20:453–463. <https://doi.org/10.1007/s11738-998-0033-1>
- La Torre F de, Cañas RA, Pascual MB, Avila C, Cánovas FM (2014) Plastidic aspartate aminotransferases and the biosynthesis of essential amino acids in plants. *J Exp Bot* 65:5527–5534. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru240>
- Laber B, Maurer W, Hanke C, Gräfe S, Ehlert S, Messerschmidt A, Clausen T (1999) Characterization of recombinant *Arabidopsis thaliana* threonine synthase. *Eur J Biochem* 263:212–221. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00487.x>
- Labuschagne MT, Meintjes G, Groenewald F (2006) The influence of different nitrogen treatments on the size distribution of protein fractions in hard and soft wheat. *Journal of Cereal Science* 43:315–321. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.11.004>
- Lannuzel C, Smith A, Mary AL, Della Pia EA, Kabel MA, Vries S de (2022) Improving fiber utilization from rapeseed and sunflower seed meals to substitute soybean meal in pig and chicken diets: A review. *Animal Feed Science and Technology* 285:115213. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115213>
- Leesawatwong M, Jamjod S, Kuo J, Dell B, Rerkasem B (2005) Nitrogen Fertilizer Increases Seed Protein and Milling Quality of Rice. *Cereal Chemistry Journal* 82:588–593. <https://doi.org/10.1094/CC-82-0588>
- Lenth RV (2016) Least-Squares Means: The R Package lsmeans. *J. Stat. Soft.* 69. <https://doi.org/10.18637/jss.v069.i01>
- Levine ME, Suarez JA, Brandhorst S, Balasubramanian P, Cheng C-W, Madia F, Fontana L, Mirisola MG, Guevara-Aguirre J, Wan J, Passarino G, Kennedy BK, Wei M, Cohen P, Crimmins EM, Longo VD (2014) Low protein intake is associated with a major reduction in IGF-1, cancer, and overall mortality in the 65 and younger but not older population. *Cell Metab* 19:407–417. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.02.006>
- Lipsa FD, Snowdon R, Friedt W (2012) Quantitative genetic analysis of condensed tannins in oilseed rape meal. *Euphytica* 184:195–205. <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0546-3>
- Liu L, Stein A, Wittkop B, Sarvari P, Li J, Yan X, Dreyer F, Frauen M, Friedt W, Snowdon RJ (2012) A knockout mutation in the lignin biosynthesis gene CCR1 explains a major QTL for acid detergent lignin content in *Brassica napus* seeds. *Theor Appl Genet* 124:1573–1586. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1811-0>
- Lo C-C, Bonner CA, Xie G, D'Souza M, Jensen RA (2009) Cohesion group approach for evolutionary analysis of aspartokinase, an enzyme that feeds a branched network of many biochemical pathways. *Microbiol Mol Biol Rev* 73:594–651. <https://doi.org/10.1128/membr.00024-09>

- Lottspeich F, Engels JW (eds) (2012) *Bioanalytik*, 3rd edn. Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg
- Lucy CA (2003) Evolution of ion-exchange: from Moses to the Manhattan Project to Modern Times. *Journal of Chromatography A* 1000:711–724. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00528-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00528-4)
- Lüthy B, Matile P (1984) The mustard oil bomb: Rectified analysis of the subcellular organisation of the myrosinase system. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* 179:5–12. [https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(84\)80059-1](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(84)80059-1)
- Lytle BL, Peterson FC, Kjer KL, Frederick RO, Zhao Q, Thao S, Bingman C, Johnson KA, Phillips GN, Volkman BF (2004) Structure of the hypothetical protein At3g17210 from *Arabidopsis thaliana*. *J Biomol NMR* 28:397–400. <https://doi.org/10.1023/B:JNMR.0000015385.54050.19>
- Malabat C, Atterby H, Chaudhry Q, Renard M (2013) Genetic variability of rapeseed protein composition
- Marczak ED, Usui H, Fujita H, Yang Y, Yokoo M, Lipkowski AW, Yoshikawa M (2003) New antihypertensive peptides isolated from rapeseed. *Peptides* 24:791–798. [https://doi.org/10.1016/S0196-9781\(03\)00174-8](https://doi.org/10.1016/S0196-9781(03)00174-8)
- Mason AS, Higgins EE, Snowdon RJ, Batley J, Stein A, Werner C, Parkin IAP (2017) A user guide to the *Brassica* 60K Illumina Infinium™ SNP genotyping array. *Theor Appl Genet* 130:621–633. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2849-1>
- Mattila P, Mäkinen S, Eurola M, Jalava T, Pihlava J-M, Hellström J, Pihlanto A (2018) Nutritional Value of Commercial Protein-Rich Plant Products. *Plant Foods Hum Nutr* 73:108–115. <https://doi.org/10.1007/s11130-018-0660-7>
- Mendiburu F (2010) *Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*
- Miran SG, Lawson JE, Reed LJ (1993) Characterization of *PDH beta 1*, the structural gene for the pyruvate dehydrogenase beta subunit from *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:1252–1256. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.4.1252>
- Moonen JHE, Scheepstra A, Graveland A (1982) Use of the SDS-sedimentation test and SDS-polyacrylamidegel electrophoresis for screening breeder's samples of wheat for bread-making quality. *Euphytica* 31:677–690. <https://doi.org/10.1007/BF00039206>
- Moore S, Stein WH (1948) Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of amino acids. *J Biol Chem* 176:367–388
- Moore S, Spackman DH, Stein WH (1958) Chromatography of Amino Acids on Sulfonated Polystyrene Resins. An Improved System. *Anal. Chem.* 30:1185–1190. <https://doi.org/10.1021/ac60139a005>
- Moore S, Stein WH (1963) [117] Chromatographic determination of amino acids by the use of automatic recording equipment. In: Colowick SP, Kaplan NP, Colowick NP (eds) *Preparations and Assay of Enzymes*, vol 6. Academic Press [Imprint]; Elsevier Science & Technology Books, San Diego, pp 819–831. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(63\)06257-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(63)06257-1)
- Morris ER, Walker JC (2003) Receptor-like protein kinases: the keys to response. *Curr Opin Plant Biol* 6:339–342. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(03\)00055-4](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(03)00055-4)
- Morton DC, DeFries RS, Shimabukuro YE, Anderson LO, Arai E, Del Bon Espirito-Santo F, Freitas R, Morissette J (2006) Cropland expansion changes deforestation dynamics in the southern Brazilian Amazon. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:14637–14641. <https://doi.org/10.1073/pnas.0606377103>
- Murén E, Ek B, Björk I, Rask L (1996) Structural comparison of the precursor and the mature form of napin, the 2S storage protein in *Brassica napus*. *Eur J Biochem* 242:214–219. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1996.0214r.x>
- Nadathur SR, Wanasundara JP, Scanlin L (eds) (2017) *Sustainable Protein Sources*. Academic Press, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo

- Nesi N, Delourme R, Brégeon M, Falentin C, Renard M (2008) Genetic and molecular approaches to improve nutritional value of *Brassica napus* L. seed. *C R Biol* 331:763–771.
<https://doi.org/10.1016/j.crvi.2008.07.018>
- Obata T, Fernie AR (2012) The use of metabolomics to dissect plant responses to abiotic stresses. *Cell Mol Life Sci* 69:3225–3243. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1091-5>
- Okamura E, Hirai MY (2017) Novel regulatory mechanism of serine biosynthesis associated with 3-phosphoglycerate dehydrogenase in *Arabidopsis thaliana*. *Sci Rep* 7:3533.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-03807-5>
- OVID (2023) OVID Diagramme. <https://www.ovid-verband.de/positionen-und-fakten/ovid-diagramme>. Accessed 25 November 2023
- Pantoja-Uceda D, Palomares O, Bruix M, Villalba M, Rodríguez R, Rico M, Santoro J (2004) Solution structure and stability against digestion of rproBnIb, a recombinant 2S albumin from rapeseed: relationship to its allergenic properties. *Biochemistry* 43:16036–16045.
<https://doi.org/10.1021/bi048069x>
- Paril J, Reif J, Fournier-Level A, Pourkheirandish M (2024) Heterosis in crop improvement. *Plant J* 117:23–32. <https://doi.org/10.1111/tpj.16488>
- Peltonen-Sainio P, Jauhiainen L, Hyövelä M, Nissilä E (2011) Trade-off between oil and protein in rapeseed at high latitudes: Means to consolidate protein crop status? *Field Crops Research* 121:248–255. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.12.010>
- Piepho H-P, Möhring J (2007) Computing heritability and selection response from unbalanced plant breeding trials. *Genetics* 177:1881–1888. <https://doi.org/10.1534/genetics.107.074229>
- Plietz P, Drescher B, Damaschun G (1987) Relationship between the amino acid sequence and the domain structure of the subunits of the 11S seed globulins. *International Journal of Biological Macromolecules* 9:161–165. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(87\)90045-6](https://doi.org/10.1016/0141-8130(87)90045-6)
- Poisson E, Trouverie J, Brunel-Muguet S, Akmouche Y, Pontet C, Pinochet X, Avice J-C (2019) Seed Yield Components and Seed Quality of Oilseed Rape Are Impacted by Sulfur Fertilization and Its Interactions With Nitrogen Fertilization. *Front Plant Sci* 10:458.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00458>
- Qu C, Zhao H, Fu F, Wang Z, Zhang K, Zhou Y, Wang X, Wang R, Xu X, Tang Z, Lu K, Li J-N (2016) Genome-Wide Survey of Flavonoid Biosynthesis Genes and Gene Expression Analysis between Black- and Yellow-Seeded *Brassica napus*. *Front Plant Sci* 7:1755.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01755>
- Raab B, Leman H, Schwenke KD, Kozłowska H (1992) Comparative study of the protein patterns of some rapeseed (*Brassica napus* L.) varieties by means of polyacrylamide gel electrophoresis and high-performance liquid chromatography. *Nahrung* 36:239–247.
<https://doi.org/10.1002/food.19920360304>
- Rathke G, Behrens T, Diepenbrock W (2006) Integrated nitrogen management strategies to improve seed yield, oil content and nitrogen efficiency of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.): A review. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 117:80–108.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.04.006>
- Ravanel S, Gakière B, Job D, Douce R (1998) The specific features of methionine biosynthesis and metabolism in plants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:7805–7812.
<https://doi.org/10.1073/pnas.95.13.7805>
- Revelle W (2022) *psych: Procedures for Psychological, Psychometric, and Personality Research*. Northwestern University, Evanston, Illinois
- Richtlinie 98/64/EG der Kommission vom 3. September 1998 zur Festlegung gemeinschaftlicher Analysemethoden für die Bestimmung von Aminosäuren, Rohfetten und Olaquinox in

Futtermitteln und zur Änderung der Richtlinie 71/393/EWG: 98/64/E. In: Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften

- Ripps H, Shen W (2012) Review: Taurine: A “very essential” amino acid. *Mol Vis* 18:2673–2686
- Roberts IN, Caputo C, Criado MV, Funk C (2012) Senescence-associated proteases in plants. *Physiol Plant* 145:130–139. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01574.x>
- Rotollo P (1979) Near infrared reflectance instrumentation. *Cereal Foods World*
- Rutkiewicz M, Nogues I, Witek W, Angelaccio S, Contestabile R, Ruszkowski M (2023) Insights into the substrate specificity, structure, and dynamics of plant histidinol-phosphate aminotransferase (HISN6). *Plant Physiol Biochem* 196:759–773. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.02.017>
- Sarwar F (2013) The role of oilseeds nutrition in human health: A critical review. *J. Cereals Oilseeds* 4:97–100. <https://doi.org/10.5897/JCO12.024>
- Schaffasz, Windpassinger, Friedt, Snowdon, Wittkop (2019) Sorghum as a Novel Crop for Central Europe: Using a Broad Diversity Set to Dissect Temperate-Adaptation. *Agronomy* 9:535. <https://doi.org/10.3390/agronomy9090535>
- Schaffer SW, Ito T, Azuma J (2014) Clinical significance of taurine. *Amino Acids* 46:1–5. <https://doi.org/10.1007/s00726-013-1632-8>
- Schatzki J, Ecke W, Becker HC, Mollers C (2014) Mapping of QTL for the seed storage proteins cruciferin and napin in a winter oilseed rape doubled haploid population and their inheritance in relation to other seed traits. *Theor Appl Genet* 127:1213–1222. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2292-0>
- Schubert S (2021) *Biochemie*, 2nd edn. UTB Basics Biologie, Ernährungswissenschaften, Agrarwissenschaften, vol 3118. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart
- Sen A, Alikamanoglu S (2012) Analysis of drought-tolerant sugar beet (*Beta vulgaris* L.) mutants induced with gamma radiation using SDS-PAGE and ISSR markers. *Mutat Res* 738-739:38–44. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2012.08.003>
- Serero A, Giglione C, Meinel T (2001) Distinctive features of the two classes of eukaryotic peptide deformylases. *J Mol Biol* 314:695–708. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.5175>
- Shenk, J. S., M. O. Westerhaus (1996) Calibration the ISI way. In: A. M. C. Davies, P. C. Williams (ed) *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*. NIR Publications, Chichester, pp 198–202
- Shi S, Li S, Asim M, Mao J, Xu D, Ullah Z, Liu G, Wang Q, Liu H (2018) The Arabidopsis Calcium-Dependent Protein Kinases (CDPKs) and Their Roles in Plant Growth Regulation and Abiotic Stress Responses. *Int J Mol Sci* 19. <https://doi.org/10.3390/ijms19071900>
- Shirzadegan M, Röbbelen G (1985) Influence of Seed Color and Hull Proportion on Quality Properties of Seeds in *Brassica napus* L. *Fette, Seifen, Anstrichm.* 87:235–237. <https://doi.org/10.1002/lipi.19850870605>
- Silva J, Ferraz R, Dupree P, Showalter AM, Coimbra S (2020) Three Decades of Advances in Arabinogalactan-Protein Biosynthesis. *Front Plant Sci* 11:610377. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.610377>
- Slominski B, Simbaya J, Campbell L, Rakow G, Guenter W (1999) Nutritive value for broilers of meals derived from newly developed varieties of yellow-seeded canola. *Animal Feed Science and Technology* 78:249–262. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00003-6](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00003-6)
- Snowdon R, Lühs W, Friedt W (2006-2007) Oilseed Rape. In: Kole C (ed) *Genome mapping and molecular breeding in plants*, vol 2. Springer, Berlin, pp 55–114. https://doi.org/10.1007/978-3-540-34388-2_2
- Song M, Fung TT, Hu FB, Willett WC, Longo VD, Chan AT, Giovannucci EL (2016) Association of Animal and Plant Protein Intake With All-Cause and Cause-Specific Mortality. *JAMA Intern Med* 176:1453–1463. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2016.4182>

- Stahl A, Pfeifer M, Frisch M, Wittkop B, Snowden RJ (2017) Recent Genetic Gains in Nitrogen Use Efficiency in Oilseed Rape. *Front Plant Sci* 8:963. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00963>
- Stefansson BR, Hougen FW (1964) Selection of rape plants (*Brassica napus*) with seed oil practically free from erucic acid. *Can. J. Plant Sci.* 44:359–364. <https://doi.org/10.4141/cjps64-069>
- Stolte N, Vettel J, Möllers C (2022) Genetic variation for seed storage protein composition in rapeseed (*Brassica napus*) and development of near-infrared reflectance spectroscopy calibration equations. *Plant Breeding* 141:408–417. <https://doi.org/10.1111/pbr.13017>
- Tajima S, Lauffer L, Rath VL, Walter P (1986) The signal recognition particle receptor is a complex that contains two distinct polypeptide chains. *J Cell Biol* 103:1167–1178. <https://doi.org/10.1083/jcb.103.4.1167>
- Tan C-M, Chen R-J, Zhang J-H, Gao X-L, Li L-H, Wang P-R, Deng X-J, Xu Z-J (2013) *OsPOP5*, a prolyl oligopeptidase family gene from rice confers abiotic stress tolerance in *Escherichia coli*. *Int J Mol Sci* 14:20204–20219. <https://doi.org/10.3390/ijms141020204>
- Tan SH, Mailer RJ, Blanchard CL, Agboola SO (2011) Canola proteins for human consumption: extraction, profile, and functional properties. *J Food Sci* 76:R16-28. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01930.x>
- Tang M, Zhang Y, Liu Y, Tong C, Cheng X, Zhu W, Li Z, Huang J, Liu S (2019) Mapping loci controlling fatty acid profiles, oil and protein content by genome-wide association study in *Brassica napus*. *The Crop Journal* 7:217–226. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2018.10.007>
- Teh L, Möllers C (2016) Genetic variation and inheritance of phytosterol and oil content in a doubled haploid population derived from the winter oilseed rape Sansibar × Oase cross. *Theor Appl Genet* 129:181–199. <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2621-y>
- Thangstad OP, Evjen K, Bones A (1991) Immunogold-EM localization of myrosinase in Brassicaceae. *Protoplasma* 161:85–93. <https://doi.org/10.1007/BF01322721>
- The Arabidopsis Information Resource (TAIR). <https://arabidopsis.org/servlets/TairObject?id=33586&type=locus>. Accessed 7 June 2022
- Tkachuk R (1981) Oil and protein analysis of whole rapeseed kernels by near infrared reflectance spectroscopy. *J Am Oil Chem Soc* 58:819–822. <https://doi.org/10.1007/BF02665588>
- Tripathi MK, Mishra AS (2007) Glucosinolates in animal nutrition: A review. *Animal Feed Science and Technology* 132:1–27. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.03.003>
- Troise AD, Wilkin JD, Fiore A (2018) Impact of rapeseed press-cake on Maillard reaction in a cookie model system. *Food Chem* 243:365–372. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.153>
- Turck D, Castenmiller J, Henauw S de, Hirsch-Ernst KI, Kearney J, Maciuk A, Mangelsdorf I, McArdle HJ, Naska A, Pelaez C, Pentieva K, Siani A, Thies F, Tsabouri S, Vinceti M, Cubadda F, Engel KH, Frenzel T, Marchelli R, Neuhäuser-Berthold M, Poulsen M, Schlatter JR, van Loveren H, Dumont AF, Knutsen HK (2020) Safety of rapeseed powder from *Brassica rapa* L. and *Brassica napus* L. as a Novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA J* 18:e06197. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6197>
- Tzeng Y-M, Diosady LL, Rubin LJ (1988a) Preparation of Rapeseed Protein Isolate by Sodium Hexametaphosphate Extraction, Ultrafiltration, Diafiltration, and Ion-Exchange. *J Food Sci* 53:1537–1541. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1988.tb09318.x>
- Tzeng Y-M, Diosady LL, Rubin LJ (1988b) Preparation of Rapeseed Protein Isolates Using Ultrafiltration, Precipitation and Diafiltration. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 21:419–424. [https://doi.org/10.1016/S0315-5463\(88\)70979-7](https://doi.org/10.1016/S0315-5463(88)70979-7)
- Umbarger HE (1978) Amino acid biosynthesis and its regulation. *Annu Rev Biochem* 47:532–606. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.47.070178.002533>

- Valderrama-Martín JM, Ortigosa F, Ávila C, Cánovas FM, Hirel B, Cantón FR, Cañas RA (2022) A revised view on the evolution of glutamine synthetase isoenzymes in plants. *Plant J* 110:946–960. <https://doi.org/10.1111/tpj.15712>
- van der Straeten D, Rodrigues-Pousada RA, Goodman HM, van Montagu M (1991) Plant enolase: gene structure, expression, and evolution. *Plant Cell* 3:719–735. <https://doi.org/10.1105/tpc.3.7.719>
- van Deynze AE, Beversdorf WD, Pauls KP (1993) Temperature effects on seed color in black- and yellow-seeded rapeseed. *Can. J. Plant Sci.* 73:383–387. <https://doi.org/10.4141/cjps93-057>
- VDLUFA Qualitätsicherung NIRS Kalibrierung Körnerraps. <https://www.vdlufa-nirs.de/de/probenarten/raps>. Accessed 2 August 2023
- Volk C, Brandsch C, Schlegelmilch U, Wensch-Dorendorf M, Hirche F, Simm A, Gargum O, Wiacek C, Braun PG, Kopp JF, Schwerdtle T, Treede H, Stangl GI (2020) Postprandial Metabolic Response to Rapeseed Protein in Healthy Subjects. *Nutrients* 12. <https://doi.org/10.3390/nu12082270>
- Wanasundara J, Tan S, Alashi AM, Pudiel F, Blanchard C (2017) Proteins From Canola/Rapeseed. In: Nadathur SR, Wanasundara JP, Scanlin L (eds) *Sustainable Protein Sources*. Academic Press, Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo, pp 285–304. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00018-4>
- Wanasundara JPD (2011) Proteins of Brassicaceae oilseeds and their potential as a plant protein source. *Crit Rev Food Sci Nutr* 51:635–677. <https://doi.org/10.1080/10408391003749942>
- Wanasundara JP, McIntosh TC, Perera SP, Withana-Gamage TS, Mitra P (2016) Canola/rapeseed protein-functionality and nutrition. *OCL* 23:D407. <https://doi.org/10.1051/ocl/2016028>
- Watanabe M, Balazadeh S, Tohge T, Erban A, Giavalisco P, Kopka J, Mueller-Roeber B, Fernie AR, Hoefgen R (2013) Comprehensive dissection of spatiotemporal metabolic shifts in primary, secondary, and lipid metabolism during developmental senescence in Arabidopsis. *Plant Physiol* 162:1290–1310. <https://doi.org/10.1104/pp.113.217380>
- Wei Y-L, Li J-N, Lu J, Tang Z-L, Pu D-C, Chai Y-R (2007) Molecular cloning of *Brassica napus* *TRANSPARENT TESTA 2* gene family encoding potential MYB regulatory proteins of proanthocyanidin biosynthesis. *Mol Biol Rep* 34:105–120. <https://doi.org/10.1007/s11033-006-9024-8>
- Wei H, Ru-yu J, Hong-tao C, Sheng-li CA, Jia LI, Qiong HU, Li-li LI, Bao LI, Tong-hua W, Mei LI, Da-wei Z, Ming-li Y (2023) Targeted mutations of the *BnPAP2* leads to yellow seed coat in *Brassica napus* L. *Journal of Integrative Agriculture*. <https://doi.org/10.1016/j.jia.2023.05.001>
- Wen J, Xu J-F, Long Y, Wu J-G, Xu H-M, Meng J-L, Shi C-H (2016) QTL mapping based on the embryo and maternal genetic systems for non-essential amino acids in rapeseed (*Brassica napus* L.) meal. *J. Sci. Food Agric.* 96:465–473. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7112>
- Wickham H (2016) ggplot2: Elegant graphics for data analysis. Use R! Springer, Switzerland. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4>
- Wilson K (2012) Chromatographic techniques. In: Wilson K, Walker J (eds) *Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*. Cambridge University Press, pp 485–550. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511813412.012>
- Winter G, Todd CD, Trovato M, Forlani G, Funck D (2015) Physiological implications of arginine metabolism in plants. *Front Plant Sci* 6:534. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00534>
- Wittkop B, Snowdon RJ, Friedt W (2009) Status and perspectives of breeding for enhanced yield and quality of oilseed crops for Europe. *Euphytica* 170:131–140. <https://doi.org/10.1007/s10681-009-9940-5>
- Wittkop B (2012) Analytik von Faserkomponenten der Rapssaar (*Brassica napus* L.) als Basis für die züchterische Optimierung der Schrotqualität. Dissertation, Justus-Liebig-Universität, Gießen

- Wu J, Muir AD (2008) Comparative structural, emulsifying, and biological properties of 2 major canola proteins, cruciferin and napin. *J Food Sci* 73:C210-6. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00675.x>
- Xu B-B, Li J-N, Zhang X-K, Wang R, Xie L-L, Chai Y-R (2007) Cloning and molecular characterization of a functional flavonoid 3'-hydroxylase gene from *Brassica napus*. *Journal of Plant Physiology* 164:350–363. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2006.03.001>
- Yahbi M, Nabloussi A, Maataoui A, El Alami N, Boutagayout A, Daoui K (2022) Effects of nitrogen rates on yield, yield components, and other related attributes of different rapeseed (*Brassica napus* L.) varieties. *OCL* 29:8. <https://doi.org/10.1051/ocl/2022001>
- Zalik S, Jones BL (1973) Protein Biosynthesis. *Annu. Rev. Plant. Physiol.* 24:47–68. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.24.060173.000403>
- Zarkadas CG, Gagnon C, Gleddie S, Khanizadeh S, Cober ER, Guillemette RJ (2007) Assessment of the protein quality of fourteen soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] cultivars using amino acid analysis and two-dimensional electrophoresis. *Food Research International* 40:129–146. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.08.006>
- Zhou L, Li Y, Hussain N, Li Z, Wu D, Jiang L (2016) Allelic Variation of *BnaC.TT2.a* and Its Association with Seed Coat Color and Fatty Acids in Rapeseed (*Brassica napus* L.). *PLoS ONE* 11:e0146661. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146661>

8. Anhang

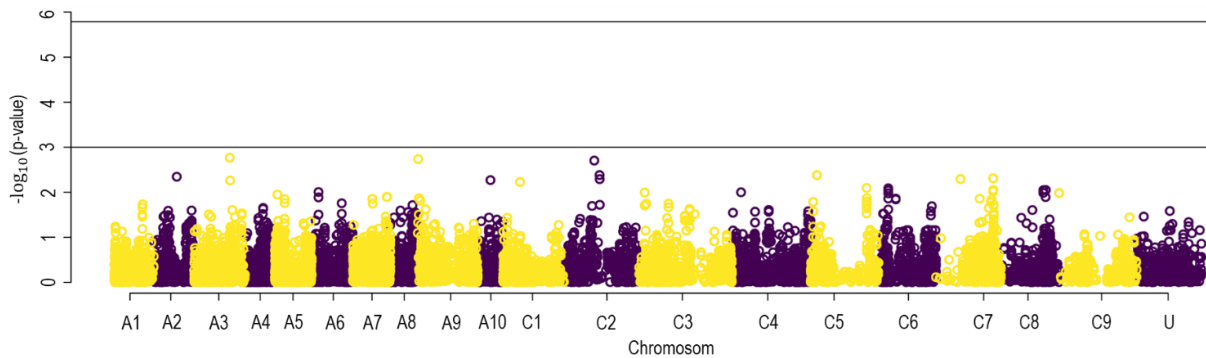


Abbildung 55 Manhattanplot für das Merkmal Cruciferin:Napin-Verhältnis, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(p\text{-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei 3 $-\log_{10}(p\text{-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei 5,78 $-\log_{10}(p\text{-Wert})$

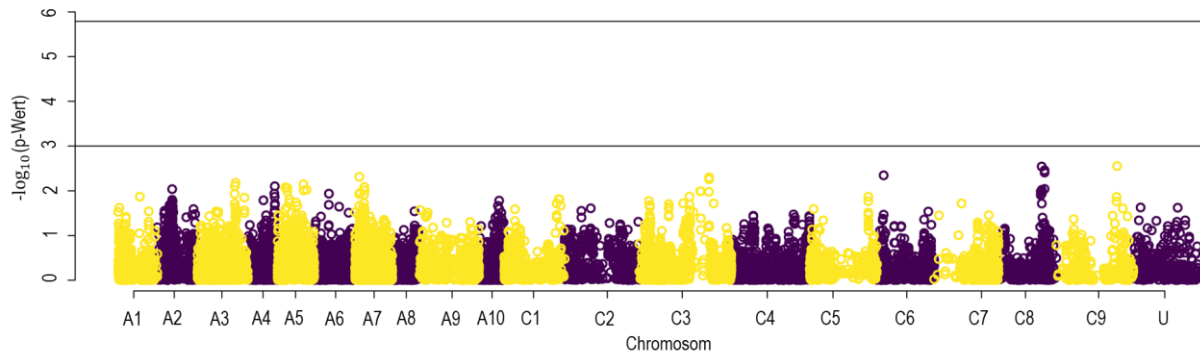


Abbildung 56 Manhattanplot für das Merkmal Asparaginsäure, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(p\text{-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei 3 $-\log_{10}(p\text{-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei 5,78 $-\log_{10}(p\text{-Wert})$

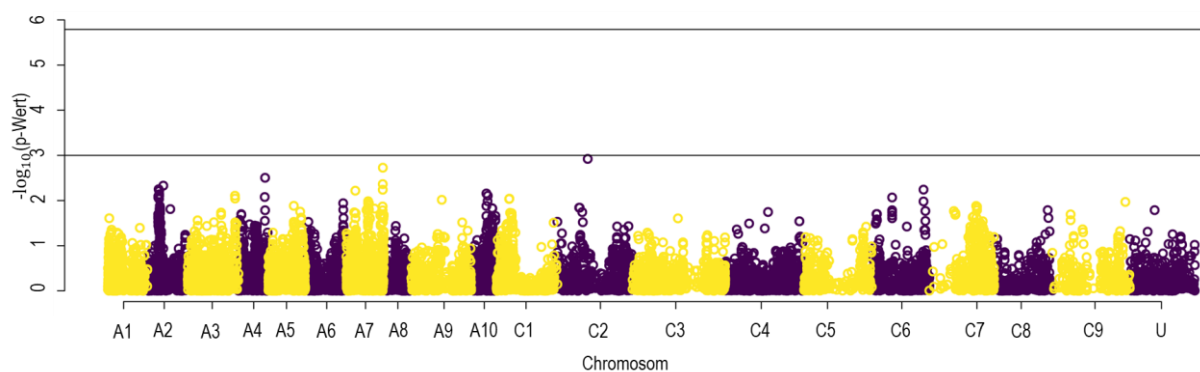


Abbildung 57 Manhattanplot für das Merkmal Cystein, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(p\text{-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei 3 $-\log_{10}(p\text{-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei 5,78 $-\log_{10}(p\text{-Wert})$

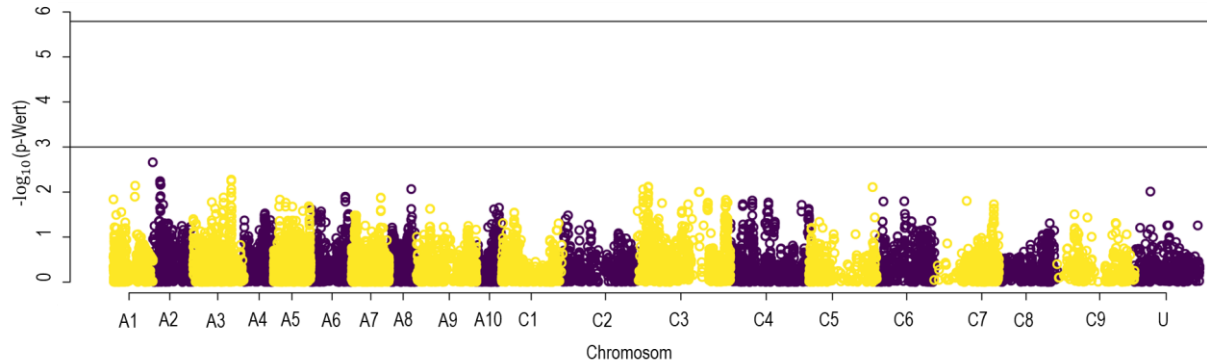


Abbildung 58 Manhattanplot für das Merkmal Glycin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(p\text{-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(p\text{-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(p\text{-Wert})$

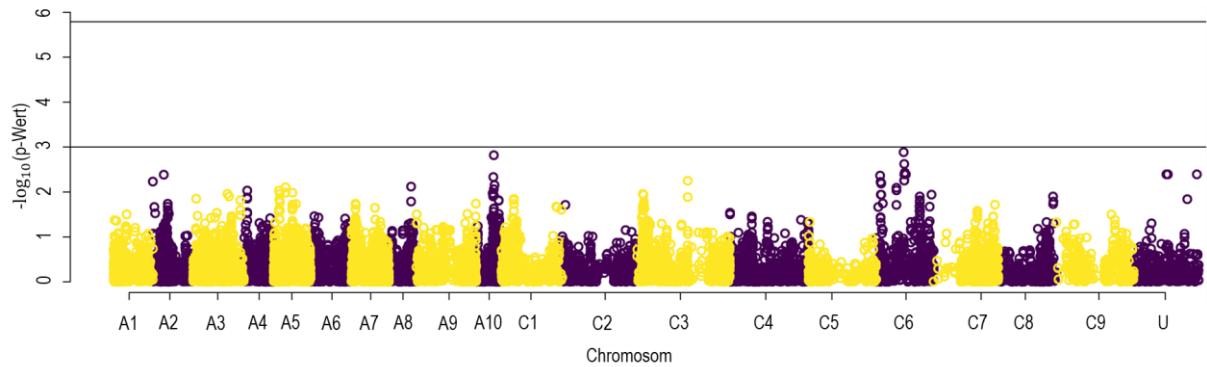


Abbildung 59 Manhattanplot für das Merkmal Histidin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(p\text{-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(p\text{-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(p\text{-Wert})$

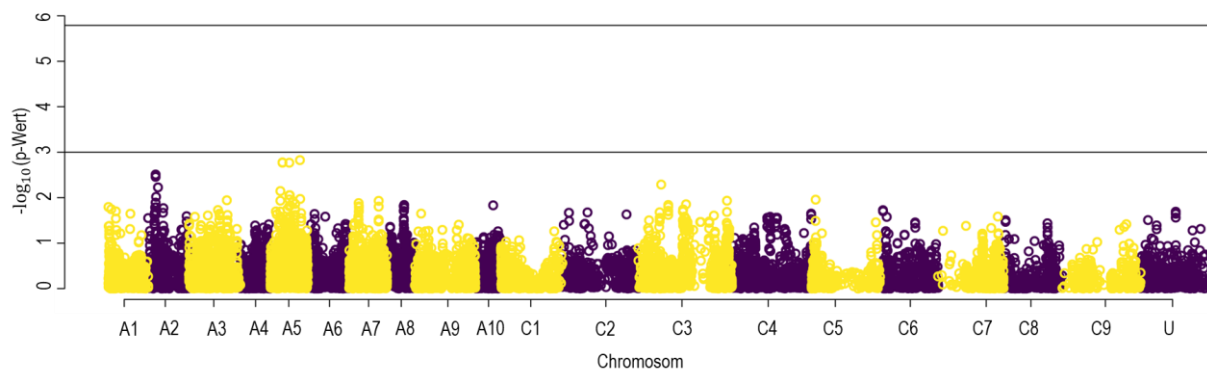


Abbildung 60 Manhattanplot für das Merkmal Phenylalanin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(p\text{-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei $3 -\log_{10}(p\text{-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei $5,78 -\log_{10}(p\text{-Wert})$

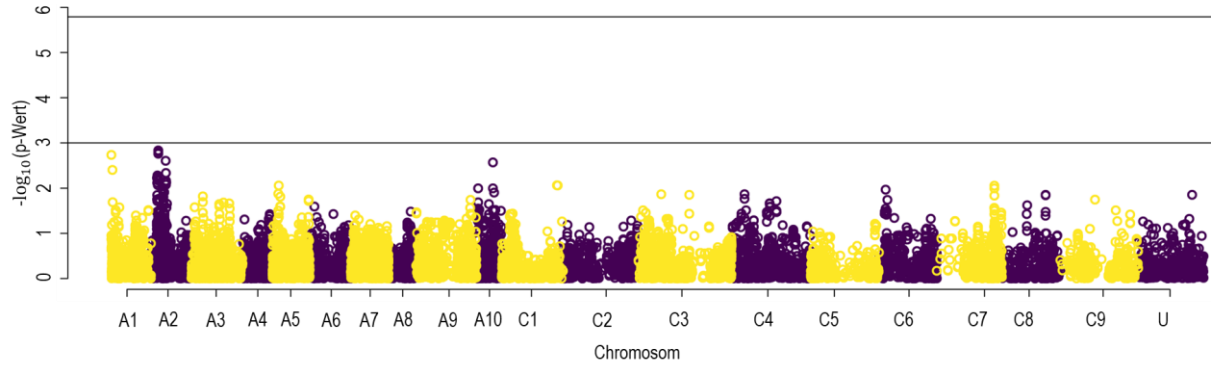


Abbildung 61 Manhattanplot für das Merkmal Tyrosin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei 3 $-\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei 5,78 $-\log_{10}(\text{p-Wert})$

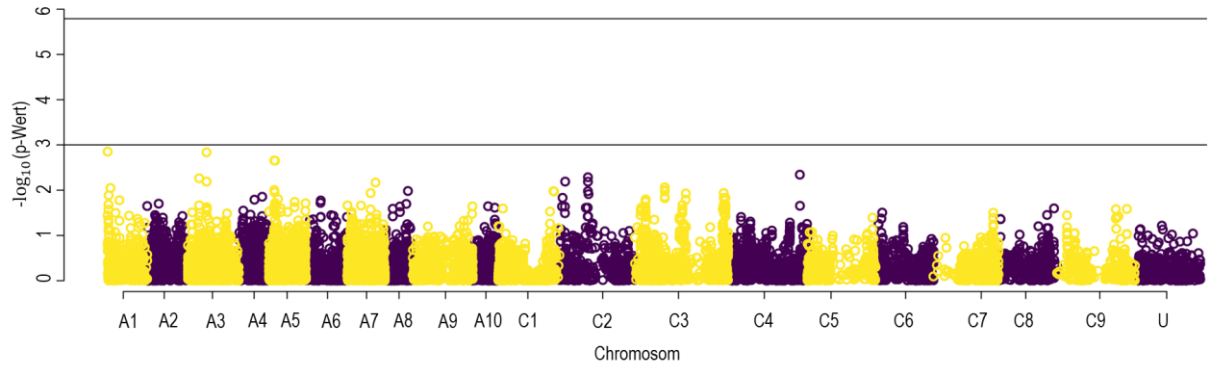


Abbildung 62 Manhattanplot für das Merkmal Valin, basierend auf der Assoziationsstudie, berechnet mit dem PK-Modell; auf der Ordinate sind die Chromosomen angetragen, auf der Abszisse der $-\log_{10}(\text{p-Wert})$, der erste Grenzwert liegt bei 3 $-\log_{10}(\text{p-wert})$, der Zweite welcher signifikante Werte anzeigt bei 5,78 $-\log_{10}(\text{p-Wert})$

Tabelle 23 Alle SNP welche in der GWAS über $-\log_{10}(\text{p-Wert})$ von 3 liegen für die einzelnen Aminosäuren. Diese umfassen Alanin, Arginin, Glutamin, Isoleuchin, Leucin, Lysin, Methionin, Prolin, Serin, Taurin, Threonin

Marker	Chromosom	Position	$-\log_{10}(\text{p-Wert})$	Merkmal
Bn-A04-p16224941	chrA04	20682064	4,433	Ala
Bn-A02-p9608730	chrA02	8556596	4,190	Ala
Bn-A09-p30058110	chrA09	39523065	3,486	Ala
Bn-scaff_18322_1-p1566336	chrC03	8152069	3,468	Ala
Bn-scaff_15758_3-p727398	chrC03	47582960	3,435	Ala
Bn-scaff_21330_1-p326557	chrC03	48037233	3,435	Ala
Bn-A02-p10477549	chrA02	9602003	3,428	Ala
Bn-A03-p26931199	chrA03	29338372	3,410	Ala
Bn-A02-p10623838	chrA02	9753221	3,394	Ala
Bn-A02-p10624373	chrA02	9753756	3,328	Ala
Bn-scaff_19310_1-p66830	chrC03	39301276	3,301	Ala
Bn-A02-p10616871	chrA02	9746512	3,290	Ala

Bn-scaff_18322_1-p1612916	chrC03	8106216	3,256	Ala
Bn-A07-p4050743	chrA07	7444718	3,255	Ala
Bn-A03-p26824343	chrA03	29200377	3,244	Ala
Bn-scaff_16352_1-p605361	chrC03	17742557	3,215	Ala
Bn-scaff_16352_1-p605264	chrC03	17742655	3,215	Ala
Bn-A02-p10507864	chrA02	9629792	3,161	Ala
Bn-A02-p10507801	chrA02	9629829	3,161	Ala
Bn-A02-p10508075	chrA02	9630003	3,161	Ala
Bn-A05-p22454211	chrA05	25716191	3,140	Ala
Bn-A02-p10587232	chrA02	9717639	3,135	Ala
Bn-A04-p16287850	chrA04	20666347	3,094	Ala
Bn-A02-p10787104	chrA02	9958089	3,069	Ala
Bn-scaff_19310_1-p75214	chrC03	39309649	3,063	Ala
Bn-A02-p10568947	chrA02	9701629	3,035	Ala
Bn-scaff_23407_1-p23075	chrA01	16866700	3,015	Ala
Bn-scaff_17573_1-p95384	chrC03	42249124	3,006	Ala
Bn-A07-p4050743	chrA07	7444718	3,724	Arg
Bn-scaff_15758_3-p727398	chrC03	47582960	3,689	Arg
Bn-scaff_21330_1-p326557	chrC03	48037233	3,689	Arg
Bn-A05-p19359433	chrA05	22547364	3,661	Arg
Bn-A05-p19359443	chrA05	22547474	3,661	Arg
Bn-A02-p7245763	chrA02	5793463	3,605	Arg
Bn-A02-p7260946	chrA02	5812720	3,605	Arg
Bn-A02-p7282115	chrA02	5827278	3,605	Arg
Bn-A02-p7260577	chrA02	5812346	3,550	Arg
Bn-A02-p7281627	chrA02	5826780	3,535	Arg
Bn-A02-p7250607	chrA02	5798344	3,511	Arg
Bn-A07-p3957667	chrA07	7350902	3,428	Arg
Bn-A07-p3960247	chrA07	7353482	3,428	Arg
Bn-scaff_23407_1-p23075	chrA01	16866700	3,366	Arg
Bn-A10-p12326585	chrA07	3335801	3,359	Arg
Bn-scaff_16352_1-p605361	chrC03	17742557	3,341	Arg
Bn-scaff_16352_1-p605264	chrC03	17742655	3,341	Arg
Bn-A02-p7243236	chrA02	5788908	3,183	Arg
Bn-A07-p3978709	chrA07	7376096	3,096	Arg
Bn-scaff_15877_1-p718090	chrC03	4499889	3,086	Arg
Bn-scaff_19740_1-p112656	chrC03	54404716	3,074	Arg
Bn-scaff_19740_1-p109782	chrC03	54407690	3,074	Arg
Bn-scaff_19740_1-p105519	chrC03	54411853	3,074	Arg
Bn-scaff_19740_1-p67802	chrC03	54446902	3,074	Arg
Bn-scaff_19740_1-p66841	chrC03	54447863	3,074	Arg
Bn-scaff_19740_1-p45553	chrC03	54471711	3,074	Arg
Bn-scaff_19740_1-p9200	chrC03	54522235	3,074	Arg
Bn-A07-p4050475	chrA07	7444450	3,069	Arg
Bn-A07-p3803780	chrA07	7227292	3,057	Arg
Bn-A06-p20320209	chrA05	9267343	3,045	Arg
Bn-C13679819-p142	chrC03	54487035	3,042	Arg
Bn-A07-p3934301	chrA07	7330063	3,024	Arg

Bn-A01-p2713583	chrA01	2220561	3,011	Arg
Bn-A01-p2713528	chrA01	2220606	3,011	Arg
Bn-A01-p2713583	chrA01	2220561	4,491	Glu
Bn-A01-p2713528	chrA01	2220606	4,491	Glu
Bn-A02-p9608730	chrA02	8556596	4,178	Glu
Bn-scaff_19310_1-p75214	chrC03	39309649	3,578	Glu
Bn-A05-p4080798	chrA05	4170840	3,570	Glu
Bn-A06-p20320209	chrA05	9267343	3,538	Glu
Bn-scaff_19310_1-p66830	chrC03	39301276	3,400	Glu
Bn-A05-p4679663	chrA05	4763365	3,379	Glu
Bn-A06-p20320258	chrA05	9267194	3,354	Glu
Bn-A05-p14347674	chrA05	14425320	3,354	Glu
Bn-A05-p14394157	chrA05	14477666	3,354	Glu
Bn-scaff_16240_1-p8665	chrC04	55176356	3,293	Glu
Bn-scaff_15695_1-p470752	chrC03	34463531	3,121	Glu
Bn-scaff_18322_1-p1424795	chrC03	8282349	3,099	Glu
Bn-scaff_18322_1-p1408555	chrC03	8377590	3,097	Glu
Bn-scaff_18322_1-p1403639	chrC03	8382680	3,097	Glu
Bn-scaff_18322_1-p1403694	chrC03	8382725	3,097	Glu
Bn-scaff_18322_1-p1403178	chrC03	8383141	3,097	Glu
Bn-scaff_18322_1-p1391958	chrC03	8389467	3,097	Glu
Bn-scaff_18322_1-p1390926	chrC03	8390173	3,097	Glu
Bn-scaff_18322_1-p1390788	chrC03	8390410	3,097	Glu
Bn-scaff_15714_1-p1080911	chrC02	4681635	3,097	Glu
Bn-scaff_18322_1-p1478173	chrC03	8236283	3,095	Glu
Bn-scaff_18322_1-p1476976	chrC03	8237380	3,095	Glu
Bn-scaff_18322_1-p1469352	chrC03	8246258	3,095	Glu
Bn-scaff_18322_1-p1467892	chrC03	8247720	3,095	Glu
Bn-scaff_18322_1-p1417497	chrC03	8368478	3,095	Glu
Bn-scaff_15695_1-p611509	chrC03	34290854	3,080	Glu
Bn-scaff_18322_1-p1473652	chrC03	8240740	3,063	Glu
Bn-scaff_18322_1-p1473831	chrC03	8240561	3,062	Glu
Bn-scaff_18322_1-p1473638	chrC03	8240854	3,062	Glu
Bn-A03-p20375108	chrA03	22348326	3,027	Glu
Bn-A06-p21273211	chrA06	26782045	3,261	Ile
Bn-A06-p20320209	chrA05	9267343	3,249	Ile
Bn-A06-p20320258	chrA05	9267194	3,212	Ile
Bn-A05-p14347674	chrA05	14425320	3,212	Ile
Bn-A05-p14394157	chrA05	14477666	3,212	Ile
Bn-scaff_15758_3-p727398	chrC03	47582960	3,200	Ile
Bn-scaff_21330_1-p326557	chrC03	48037233	3,200	Ile
Bn-scaff_18344_1-p341615	chrC06	5172513	3,146	Ile
Bn-scaff_19740_1-p112656	chrC03	54404716	3,094	Ile
Bn-scaff_19740_1-p109782	chrC03	54407690	3,094	Ile
Bn-scaff_19740_1-p105519	chrC03	54411853	3,094	Ile
Bn-scaff_19740_1-p67802	chrC03	54446902	3,094	Ile
Bn-scaff_19740_1-p66841	chrC03	54447863	3,094	Ile
Bn-scaff_19740_1-p45553	chrC03	54471711	3,094	Ile

Bn-scaff_19740_1-p9200	chrC03	54522235	3,094	Ile
Bn-scaff_16414_1-p175360	chrC05	1751428	3,063	Ile
Bn-C13679819-p142	chrC03	54487035	3,021	Ile
Bn-scaff_16352_1-p24334	chrC03	16578177	3,003	Ile
Bn-A05-p4679663	chrA05	4763365	4,196	Leu
Bn-scaff_23407_1-p23075	chrA01	16866700	3,732	Leu
Bn-scaff_15758_3-p727398	chrC03	47582960	3,682	Leu
Bn-scaff_21330_1-p326557	chrC03	48037233	3,682	Leu
Bn-scaff_19740_1-p112656	chrC03	54404716	3,608	Leu
Bn-scaff_19740_1-p109782	chrC03	54407690	3,608	Leu
Bn-scaff_19740_1-p105519	chrC03	54411853	3,608	Leu
Bn-scaff_19740_1-p67802	chrC03	54446902	3,608	Leu
Bn-scaff_19740_1-p66841	chrC03	54447863	3,608	Leu
Bn-scaff_19740_1-p45553	chrC03	54471711	3,608	Leu
Bn-scaff_19740_1-p9200	chrC03	54522235	3,608	Leu
Bn-A05-p19359433	chrA05	22547364	3,535	Leu
Bn-A05-p19359443	chrA05	22547474	3,535	Leu
Bn-C13679819-p142	chrC03	54487035	3,519	Leu
Bn-scaff_15695_1-p470752	chrC03	34463531	3,361	Leu
Bn-scaff_19740_1-p105389	chrC03	54411983	3,304	Leu
Bn-A03-p20375108	chrA03	22348326	3,299	Leu
Bn-A07-p16449661	chrA07	22581219	3,287	Leu
Bn-scaff_19310_1-p75214	chrC03	39309649	3,284	Leu
Bn-scaff_15695_1-p611509	chrC03	34290854	3,274	Leu
Bn-A02-p1264906	chrA02	114831	3,196	Leu
Bn-A03-p27256355	chrA03	29676852	3,193	Leu
Bn-A03-p27257933	chrA03	29678424	3,183	Leu
Bn-scaff_18322_1-p1478173	chrC03	8236283	3,074	Leu
Bn-scaff_18322_1-p1476976	chrC03	8237380	3,074	Leu
Bn-scaff_18322_1-p1469352	chrC03	8246258	3,074	Leu
Bn-scaff_18322_1-p1467892	chrC03	8247720	3,074	Leu
Bn-scaff_18322_1-p1417497	chrC03	8368478	3,074	Leu
Bn-scaff_18322_1-p1408555	chrC03	8377590	3,065	Leu
Bn-scaff_18322_1-p1403639	chrC03	8382680	3,065	Leu
Bn-scaff_18322_1-p1403694	chrC03	8382725	3,065	Leu
Bn-scaff_18322_1-p1403178	chrC03	8383141	3,065	Leu
Bn-scaff_18322_1-p1391958	chrC03	8389467	3,065	Leu
Bn-scaff_18322_1-p1390926	chrC03	8390173	3,065	Leu
Bn-scaff_18322_1-p1390788	chrC03	8390410	3,065	Leu
Bn-scaff_16352_1-p605361	chrC03	17742557	3,048	Leu
Bn-scaff_16352_1-p605264	chrC03	17742655	3,048	Leu
Bn-scaff_18322_1-p1424795	chrC03	8282349	3,046	Leu
Bn-scaff_19310_1-p66830	chrC03	39301276	3,043	Leu
Bn-scaff_18322_1-p1473652	chrC03	8240740	3,025	Leu
Bn-A02-p9608730	chrA02	8556596	3,129	Lys
Bn-scaff_17515_1-p244504	chrC01	42529137	3,035	Lys
Bn-scaff_17515_1-p251741	chrC01	43034154	3,023	Lys
Bn-A10-p10562649	chrA10	13817568	3,487	Met

Bn-A06-p20320209	chrA05	9267343	3,353	Met
Bn-A02-p9608730	chrA02	8556596	3,320	Met
Bn-A06-p20320258	chrA05	9267194	3,299	Met
Bn-A05-p14347674	chrA05	14425320	3,299	Met
Bn-A05-p14394157	chrA05	14477666	3,299	Met
Bn-A07-p4050475	chrA07	7444450	3,250	Met
Bn-scaff_15758_3-p727398	chrC03	47582960	3,222	Met
Bn-scaff_21330_1-p326557	chrC03	48037233	3,222	Met
Bn-A10-p12863402	chrA10	14894589	3,212	Met
Bn-scaff_16130_1-p2528492	chrC07	36154550	3,148	Met
Bn-scaff_16130_1-p2528706	chrC07	36154863	3,148	Met
Bn-scaff_16130_1-p2554774	chrC07	36169522	3,148	Met
Bn-scaff_16130_1-p2555393	chrC07	36170147	3,148	Met
Bn-scaff_16130_1-p2556032	chrC07	36170790	3,148	Met
Bn-scaff_16130_1-p2556315	chrC07	36171073	3,148	Met
Bn-scaff_16130_1-p2557113	chrC07	36171784	3,148	Met
Bn-scaff_16130_1-p2557888	chrC07	36172659	3,148	Met
Bn-scaff_16130_1-p2558631	chrC07	36173402	3,148	Met
Bn-scaff_16130_1-p2558843	chrC07	36173514	3,148	Met
Bn-scaff_16130_1-p2559976	chrC07	36174645	3,148	Met
Bn-scaff_16130_1-p2560334	chrC07	36175112	3,148	Met
Bn-scaff_16130_1-p2560458	chrC07	36175236	3,148	Met
Bn-scaff_26297_1-p1200	chrC07	36176423	3,148	Met
Bn-scaff_17740_1-p1017838	chrC07	36199764	3,148	Met
Bn-scaff_17740_1-p1017451	chrC07	36201564	3,148	Met
Bn-scaff_17740_1-p1016835	chrC07	36202279	3,148	Met
Bn-scaff_17740_1-p1013392	chrC07	36205141	3,148	Met
Bn-scaff_17740_1-p1012777	chrC07	36207172	3,148	Met
Bn-scaff_17740_1-p1012383	chrC07	36207666	3,148	Met
Bn-scaff_17740_1-p1011001	chrC07	36208946	3,148	Met
Bn-scaff_17740_1-p1009792	chrC07	36210253	3,148	Met
Bn-scaff_17740_1-p1009593	chrC07	36210352	3,148	Met
Bn-scaff_17740_1-p1008409	chrC07	36211532	3,148	Met
Bn-scaff_17740_1-p1008200	chrC07	36211841	3,148	Met
Bn-scaff_17740_1-p1007939	chrC07	36212001	3,148	Met
Bn-scaff_17740_1-p1007861	chrC07	36212079	3,148	Met
Bn-scaff_17740_1-p1007931	chrC07	36212109	3,148	Met
Bn-scaff_17740_1-p987288	chrC07	36226513	3,148	Met
Bn-scaff_16130_1-p2556335	chrC07	36171193	3,000	Met
Bn-A09-p30058110	chrA09	39523065	5,558	Pro
Bn-A09-p30075198	chrA09	39539730	4,872	Pro
Bn-A09-p30105467	chrA09	39570613	4,822	Pro
Bn-A02-p10396907	chrA02	9532385	4,196	Pro
Bn-A01-p2713583	chrA01	2220561	4,168	Pro
Bn-A01-p2713528	chrA01	2220606	4,168	Pro
Bn-A02-p10325260	chrA02	9437266	3,926	Pro
Bn-A01-p467816	chrA01	57609	3,796	Pro
Bn-scaff_19310_1-p66830	chrC03	39301276	3,687	Pro

Bn-A02-p9608730	chrA02	8556596	3,567	Pro
Bn-A09-p30108245	chrA09	39573614	3,409	Pro
Bn-A01-p820317	chrA01	449079	3,354	Pro
Bn-A02-p10019636	chrA02	9122767	3,346	Pro
Bn-scaff_25094_1-p497096	chrC06	2427078	3,270	Pro
Bn-scaff_25094_1-p413818	chrC06	2332883	3,248	Pro
Bn-scaff_17515_1-p244504	chrC01	42529137	3,128	Pro
Bn-scaff_17515_1-p251741	chrC01	43034154	3,121	Pro
Bn-A05-p15460677	chrA05	15614923	3,101	Pro
Bn-scaff_16356_1-p41349	chrC04	3441089	3,099	Pro
Bn-scaff_16356_1-p42154	chrC04	3442023	3,099	Pro
Bn-scaff_18855_1-p185593	chrC03	36759233	3,096	Pro
Bn-scaff_16369_1-p90302	chrC02	23971759	3,072	Pro
Bn-A05-p4679663	chrA05	4763365	3,033	Pro
Bn-A02-p1698015	chrC02	2444001	3,029	Pro
Bn-scaff_17731_1-p429660	chrC01	8164612	3,819	Ser
Bn-scaff_17731_1-p478972	chrU	40091246	3,773	Ser
Bn-scaff_17827_1-p657886	chrC01	8372388	3,668	Ser
Bn-scaff_17827_1-p953712	chrC01	8668465	3,501	Ser
Bn-scaff_17827_1-p953907	chrC01	8668560	3,501	Ser
Bn-scaff_17731_1-p979512	chrC01	7764340	3,439	Ser
Bn-scaff_17731_1-p1002884	chrC01	7785934	3,439	Ser
Bn-scaff_17731_1-p1008483	chrC01	7788794	3,439	Ser
Bn-scaff_17827_1-p20213	chrC01	7827074	3,439	Ser
Bn-scaff_17827_1-p111101	chrC01	7910888	3,439	Ser
Bn-scaff_17827_1-p2478	chrU	14502445	3,432	Ser
Bn-scaff_17827_1-p373876	chrU	37091896	3,382	Ser
Bn-scaff_17731_1-p1054055	chrC01	7811145	3,363	Ser
Bn-scaff_16369_1-p90302	chrC02	23971759	3,351	Ser
Bn-scaff_17827_1-p646146	chrC01	8352912	3,283	Ser
Bn-scaff_17731_1-p474833	chrU	40095544	3,244	Ser
Bn-scaff_17731_1-p812656	chrC01	7597060	3,224	Ser
Bn-scaff_17731_1-p746793	chrC01	7534600	3,207	Ser
Bn-scaff_17731_1-p748416	chrC01	7536486	3,207	Ser
Bn-scaff_17731_1-p748522	chrC01	7536695	3,207	Ser
Bn-scaff_17731_1-p748760	chrC01	7536933	3,207	Ser
Bn-scaff_17731_1-p749510	chrC01	7537498	3,207	Ser
Bn-scaff_17731_1-p749457	chrC01	7537545	3,207	Ser
Bn-scaff_17731_1-p749919	chrC01	7538011	3,207	Ser
Bn-scaff_17731_1-p755428	chrC01	7538095	3,207	Ser
Bn-scaff_17731_1-p755436	chrC01	7538203	3,207	Ser
Bn-scaff_17731_1-p756849	chrC01	7539656	3,207	Ser
Bn-scaff_17731_1-p826574	chrC01	7607980	3,207	Ser
Bn-scaff_17731_1-p757660	chrC01	7540381	3,192	Ser
Bn-scaff_17827_1-p69618	chrC01	7872569	3,187	Ser
Bn-scaff_17827_1-p111208	chrC01	7910895	3,187	Ser
Bn-scaff_17827_1-p111920	chrC01	7911597	3,187	Ser
Bn-scaff_17731_1-p479132	chrU	40091186	3,184	Ser

Bn-scaff_17827_1-p622207	chrC01	8337815	3,178	Ser
Bn-scaff_17827_1-p648550	chrC01	8355286	3,176	Ser
Bn-A04-p16224941	chrA04	20682064	3,164	Ser
Bn-scaff_17731_1-p748518	chrC01	7536591	3,150	Ser
Bn-scaff_17827_1-p623344	chrC01	8338957	3,123	Ser
Bn-scaff_20866_1-p60626	chrC06	3901575	3,118	Ser
Bn-scaff_16485_1-p119862	chrC06	4014952	3,104	Ser
Bn-scaff_16485_1-p127229	chrC06	4022418	3,104	Ser
Bn-scaff_17827_1-p613474	chrC01	8324534	3,077	Ser
Bn-scaff_17827_1-p613418	chrC01	8324578	3,077	Ser
Bn-scaff_17827_1-p622150	chrC01	8337858	3,077	Ser
Bn-scaff_17827_1-p622563	chrC01	8338271	3,077	Ser
Bn-scaff_17827_1-p628709	chrC01	8344225	3,077	Ser
Bn-scaff_17827_1-p586047	chrU	12839047	3,077	Ser
Bn-scaff_17827_1-p586112	chrU	12839212	3,077	Ser
Bn-scaff_16485_1-p109334	chrC06	3635615	3,063	Ser
Bn-scaff_20866_1-p58663	chrC06	3903638	3,063	Ser
Bn-scaff_16485_1-p126425	chrC06	4021614	3,063	Ser
Bn-scaff_17298_1-p1558470	chrC01	44636501	3,037	Ser
Bn-scaff_27278_1-p19570	chrC01	44649108	3,037	Ser
Bn-A03-p565187	chrA03	450044	3,019	Ser
Bn-scaff_20901_1-p2096370	chrC05	2007295	3,233	Tau
Bn-A06-p3016186	chrA06	3134982	3,992	Thr
Bn-A06-p3016356	chrA06	3135052	3,992	Thr
Bn-A04-p16224941	chrA04	20682064	3,538	Thr
Bn-A07-p4050475	chrA07	7444450	3,431	Thr
Bn-scaff_15758_3-p727398	chrC03	47582960	3,360	Thr
Bn-scaff_21330_1-p326557	chrC03	48037233	3,360	Thr
Bn-A09-p20140028	chrA09	21454880	3,315	Thr
Bn-A09-p20140775	chrA09	21455529	3,315	Thr
Bn-A09-p20140928	chrA09	21455683	3,315	Thr
Bn-A10-p12863402	chrA10	14894589	3,303	Thr
Bn-scaff_19310_1-p434081	chrC03	39584579	3,297	Thr
Bn-scaff_19310_1-p512157	chrC03	39672879	3,297	Thr
Bn-scaff_19310_1-p531191	chrC03	39690007	3,297	Thr
Bn-scaff_19310_1-p562717	chrC03	39718879	3,297	Thr
Bn-scaff_19310_1-p562646	chrC03	39718908	3,297	Thr
Bn-scaff_19310_1-p564064	chrC03	39720327	3,297	Thr
Bn-scaff_19310_1-p628247	chrC03	39817416	3,297	Thr
Bn-scaff_19310_1-p631628	chrC03	39820789	3,297	Thr
Bn-scaff_19310_1-p644684	chrC03	39827157	3,297	Thr
Bn-A10-p12900258	chrA10	14933120	3,282	Thr
Bn-scaff_19310_1-p562107	chrC03	39718369	3,261	Thr
Bn-scaff_17521_1-p1385470	chrC03	23105640	3,249	Thr
Bn-scaff_19310_1-p502315	chrC03	39662967	3,248	Thr
Bn-scaff_19310_1-p433516	chrC03	39584113	3,215	Thr
Bn-A09-p20061287	chrA09	21358184	3,193	Thr
Bn-A09-p20124340	chrA09	21421793	3,193	Thr

Bn-A09-p20129620	chrA09	21430301	3,193	Thr
Bn-A07-p3826249	chrU	6432277	3,136	Thr
Bn-scaff_17731_1-p478972	chrU	40091246	3,127	Thr
Bn-A10-p12864230	chrA10	14895422	3,074	Thr
Bn-A02-p9608730	chrA02	8556596	3,050	Thr
Bn-scaff_16694_1-p22548	chrA04	12161678	3,027	Thr

Tabelle 24 Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Alanin

Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Alanin	Bn-A02-p10623838	chr A02	9.753.221
Haploblock	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-A02-p10624373	chr A02	9.753.756
	Kandidatengen	LD	
	BnaA02g16070D	0,9	
	Genfunktion		
	amino acid import		
	Codiertes Protein		
	atpase e1-e2 type family protein haloacid dehalogenase-like hydrolase family protein		
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Alanin	Bn-scaff_23407_1-p23075	chrA01	16.866.700
	Kandidatengen	LD	
	BnaA01g24280D	0,4	
	Genfunktion	Codiertes Protein	
	4-aminobutyrate:pyruvate transaminase activity	pyruvate kinase isozyme chloroplastic-like	
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Alanin	Bn-A03-p26931199	chrA03	29.338.372
	Kandidatengen	LD	
	BnaA03g54560D	0,39	
	Genfunktion	Codiertes Protein	
	pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring) activity	pyruvate dehydrogenase e1 alpha subunit	
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Alanin	Bn-A03-p26931199	chrA03	29.338.372
	Kandidatengen	LD	
	BnaA03g54610D	0,4	
	Genfunktion	Codiertes Protein	
	L-aspartate:2-oxoglutarate aminotransferase activity	aspartate aminotransferase	

Tabelle 25 Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Methionin

Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Methionin	Bn-A06-p20320258	chr A05	9.267.194
Haploblock	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-A06-p20320209	chr A05	9.267.343
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaA05g12580D	0,2-0,3	cdpk-related protein kinase
	Genfunktion protein phosphorylation		
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Methionin	Bn-A06-p20320258	chr A05	9.267.194
Haploblock	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-A06-p20320209	chr A05	9.267.343
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaA05g13800D	0,3-0,4	arabinogalactan protein 12
	Genfunktion cellular modified amino acid biosynthetic process		
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Methionin	Bn-A06-p20320258	chr A05	9.267.194
Haploblock	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-A06-p20320209	chr A05	9.267.343
	Kandidatengen	LD	
	BnaA05g15190D	0,4	
	Genfunktion	Codiertes Protein	
	methionine biosynthetic process	stress responsive alpha-beta barrel domain protein	
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Methionin	Bn-scaff_15758_3-p727398	chr C03	47.582.960
Haploblock	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-scaff_21330_1-p326557	chr C03	48.037.233

	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaC03g59130D	0,3	pyruvate dehydrogenase e1 beta subunit
	Genfunktion		
	cellular modified amino acid biosynthetic process; pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring) activity process		
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Methionin	Bn-scaff_15758_3-p727398	chr C03	47.582.960
Haploblock	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-scaff_21330_1-p326557	chr C03	48.037.233
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaC03g60190D	0,3	5 -methylthioadenosine s-adenosylhomocysteine nucleosidase 1-like
	Genfunktion		
	L-methionine biosynthetic process from S-adenosylmethionine		
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Methionin	Bn-A10-p10562649	chr A10	13.817.568
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaA10g18790D	0,3	cystathionine gamma-synthase
	Genfunktion		
	methionine biosynthetic process		
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Methionin	Bn-A10-p10562649	chr A10	13.817.568
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaA10g19170D	0,5	peptide deformylase 1b
	Genfunktion		
	formylmethionine deformylase activity		

Tabelle 26 Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Arginin

Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Arginin	Bn-A07-p3957667	chr A07	7.350.902
Haploblock	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-A07-p3960247	chr A07	7.353.482
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaA02g16070D	0,4-0,6	ammonium transporter
	Genfunktion		
	basic amino acid transport; amino acid import		
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Arginin	Bn-A07-p3957667	chr A07	7.350.902
Haploblock	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-A07-p3960247	chr A07	7.353.482
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaA07g05810D	0,4-0,6	dihydroxy-acid dehydratase-like
	Genfunktion		
	branched-chain amino acid biosynthetic process		
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Arginin	Bn-scaff_19740_1-p112656	chr C03	54404716
Haploblock	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-scaff_19740_1-p109782	chr C03	54407690
	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-scaff_19740_1-p105519	chr C03	54411853
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaC03g65140D	0,5	gamma-glutamylcysteine synthetase
	Genfunktion		
	cysteine biosynthetic process		
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Arginin	Bn-scaff_19740_1-p112656	chr C03	54404716
Haploblock	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-scaff_19740_1-p109782	chr C03	54407690
	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-scaff_19740_1-p105519	chr C03	54411853
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaC03g65810D	0,4	arginine decarboxylase
	Genfunktion		
	arginine decarboxylase activit		

Tabelle 27 Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Glutaminsäure

Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Glutaminsäure	Bn-A02-p9608730	chrA02	8.556.596
	Kandidatengen	LD	
	BnaA02g15650D	0,5	
	Genfunktion	Codiertes Protein	
	histidine biosynthetic process	histidinol-phosphate aminotransferase	

Tabelle 28 Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Leucin

Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Leucin	Bn-scaff_23407_1-p23075	chr A01	16.866.700
	Kandidatengen	LD	
	BnaA01g24280D	0,4	
	Genfunktion	Codiertes Protein	
	pyruvate kinase activity	pyruvate kinase isozyme chloroplastic-like	
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Leucin	Bn-A05-p4679663	chr A05	4763365
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaA05g07770D	0,3	enolase
	Genfunktion		
	phosphopyruvate hydratase activity		

Tabelle 29 Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Prolin

Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Prolin	Bn-scaff_25094_1-p497096	chr C06	2.427.078
Haploblock	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-scaff_25094_1-p413818	chr C06	2.332.883
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaC06g01890D	1	hydroxyproline-rich glyco protein
	Genfunktion		
	biological process		
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Prolin	Bn-A02-p10396907	chr A02	9.532.385
	Kandidatengen	LD	
	BnaA02g14880D	0,3	
	Genfunktion	Codiertes Protein	
	protein phosphorylation	proline-rich receptor-like protein kinase perk13-like	

Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Prolin	Bn-A05-p15460677	chr A05	15.614.923
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaA05g19560D	0,6	protein transparent testa 12-like
	Genfunktion proline transport		
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Prolin	Bn-A05-p15460677	chr A05	15.614.923
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaA05g22420D	0,4	glutamine synthetase
	Genfunktion glutamine biosynthetic process		
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Prolin	Bn-A05-p15460677	chr A05	15.614.923
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaA05g22920D	0,3	transcription factor bhlh147
	Genfunktion cellular modified amino acid biosynthetic process		

Tabelle 30 Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Isoleucin

Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Isoleucin	Bn-A06-p20320209	chr A05	9267343
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaA05g15970D	0,7	precursor monofunctional aspartokinase
	Genfunktion cellular amino acid biosynthetic process		

Tabelle 31 Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Serin

Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Serin	Bn-scaff_16485_1-p119862	chr C06	4.014.952
Haploblock	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-scaff_16485_1-p127229	chr C06	4.022.418
	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-scaff_16485_1-p126425	chr C06	4.021.614
	Kandidatengen	LD	
	BnaC06g03540D	0,9	
	Genfunktion	Codiertes Protein	
	serine-type endopeptidase activity	prolyl oligopeptidase family protein	

Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Serin	Bn-scaff_16485_1-p119862	chr C06	4.014.952
Haploblock	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-scaff_16485_1-p127229	chr C06	4.022.418
	SNP GWAS	Chr	Position
	Bn-scaff_16485_1-p126425	chr C06	4.021.614
	Kandidatengen	LD	
	BnaC06g03570D	0,9	
	Genfunktion	Codiertes Protein	
	serine-type endopeptidase activity	protease 2-like	
Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Serin	Bn-A03-p565187	chr A03	15.614.923
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaA03g02040D	0,5	glutamate dehydrogenase 2
	Genfunktion		
	cellular modified amino acid biosynthetic process		

Tabelle 32 Übersicht der assoziierten Kandidatengene für das Merkmal Threonin

Merkmal	SNP GWAS	Chr	Position
Threonin	Bn-A02-p9608730	chr A03	8.556.596
	Kandidatengen	LD	Codiertes Protein
	BnaA02g16170D	0,4	threonine synthase
	Genfunktion		
	threonine biosynthetic process		

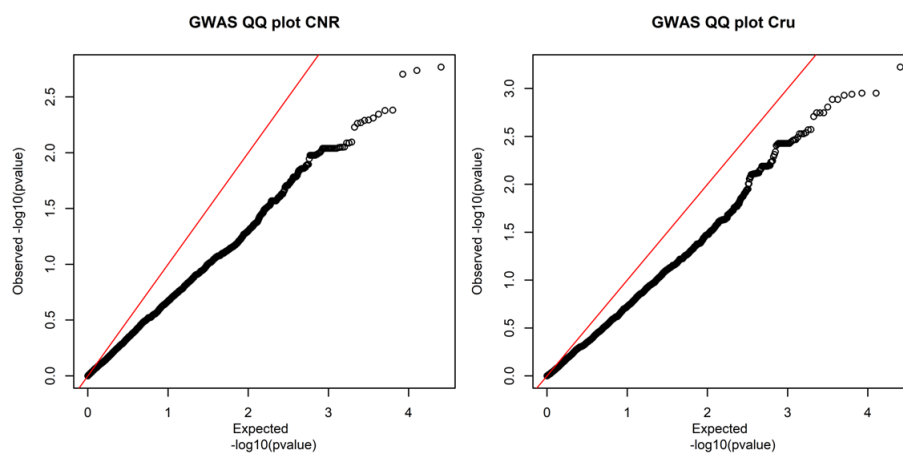


Abbildung 63 GWAS QQ-Plot für das Merkmal CNR (links) und das Merkmal Cru (rechts)

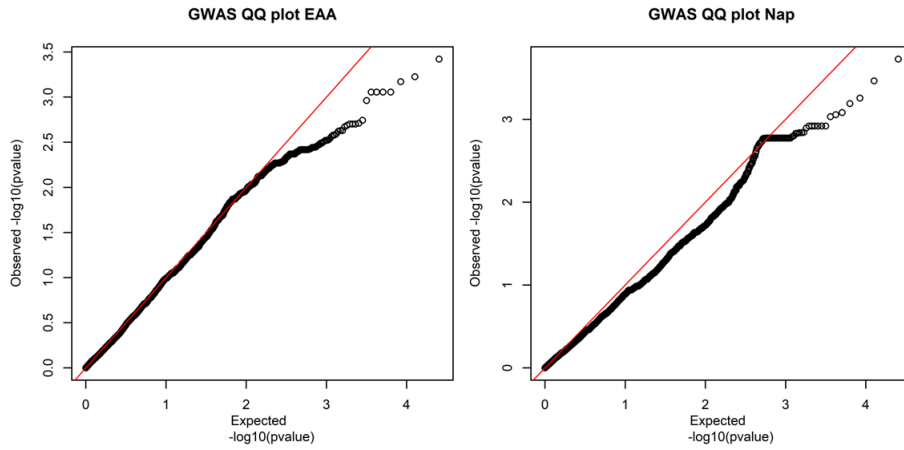


Abbildung 64 GWAS QQ-Plot für das Merkmal EAA (links) und das Merkmal Nap (rechts)

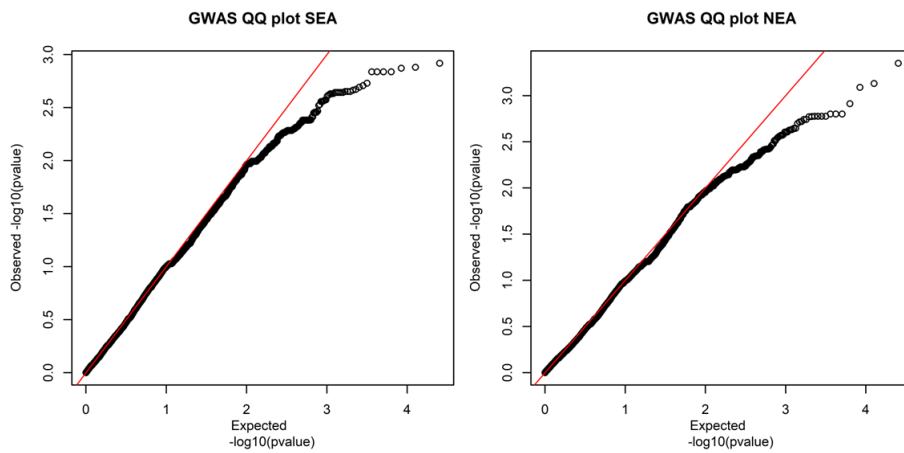


Abbildung 65 GWAS QQ-Plot für das Merkmal SEA (links) und das Merkmal NEA (rechts)

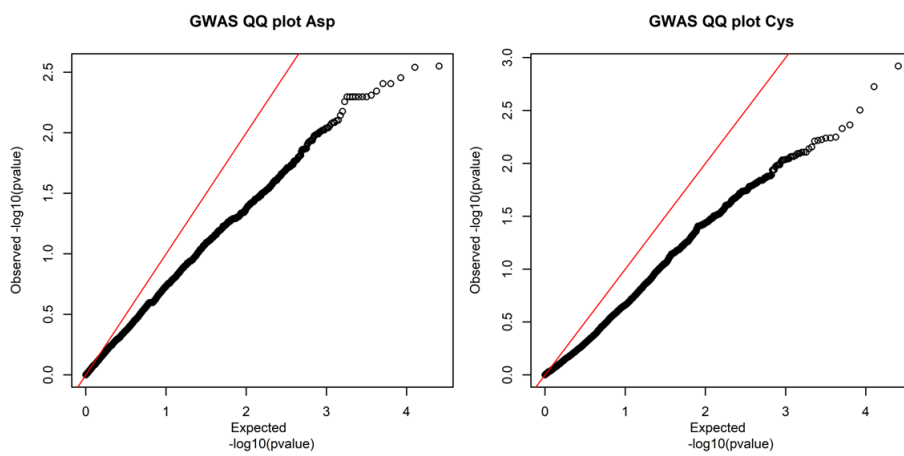


Abbildung 66 GWAS QQ-Plot für das Merkmal Asp (links) und das Merkmal Cys (rechts)

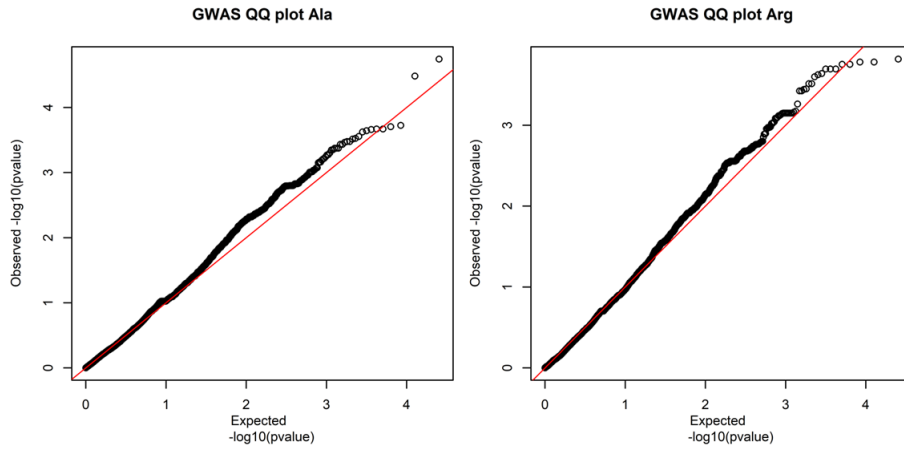


Abbildung 67 GWAS QQ-Plot für das Merkmal Ala (links) und das Merkmal Arg (rechts)

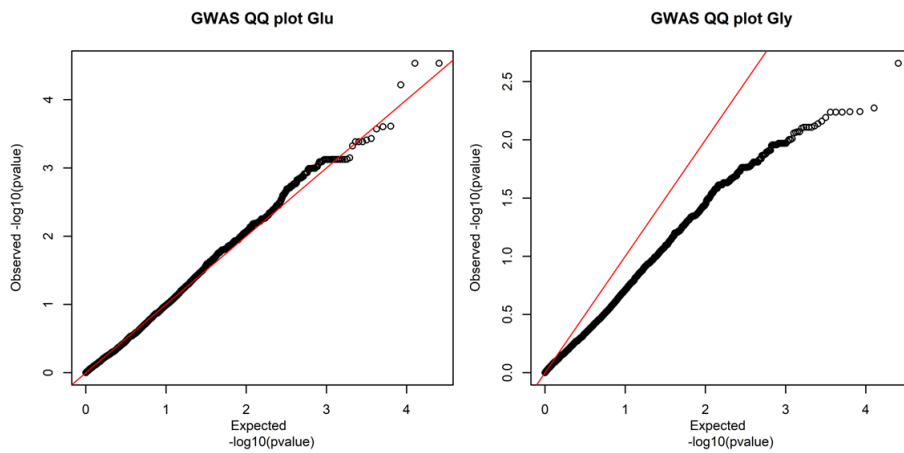


Abbildung 68 GWAS QQ-Plot für das Merkmal Glu (links) und das Merkmal Gly (rechts)

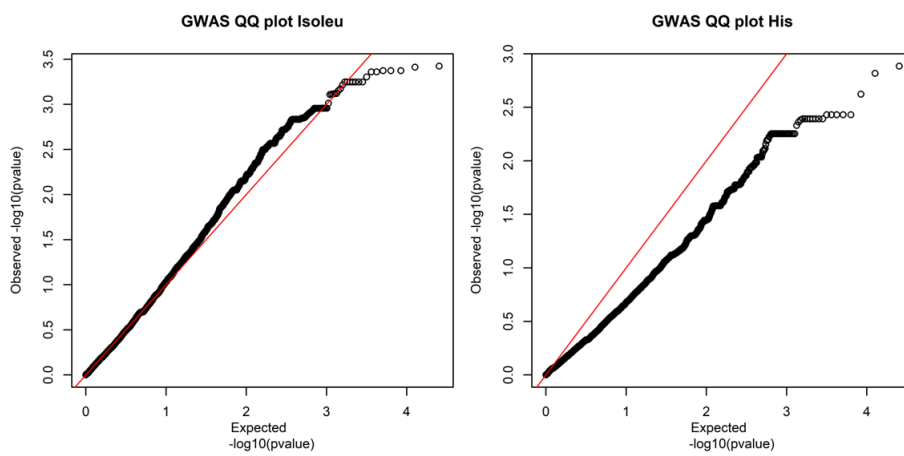


Abbildung 69 GWAS QQ-Plot für das Merkmal Ile (links) und das Merkmal Cys (rechts)

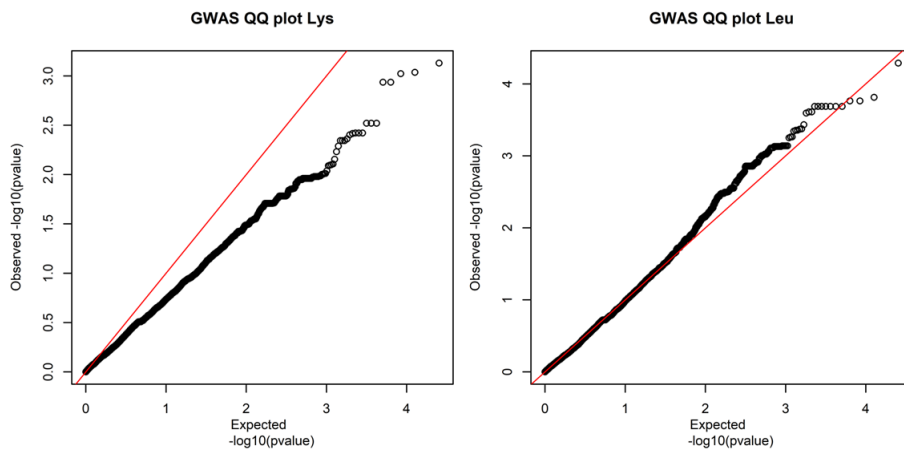


Abbildung 70 GWAS QQ-Plot für das Merkmal Lys (links) und das Merkmal Leu (rechts)

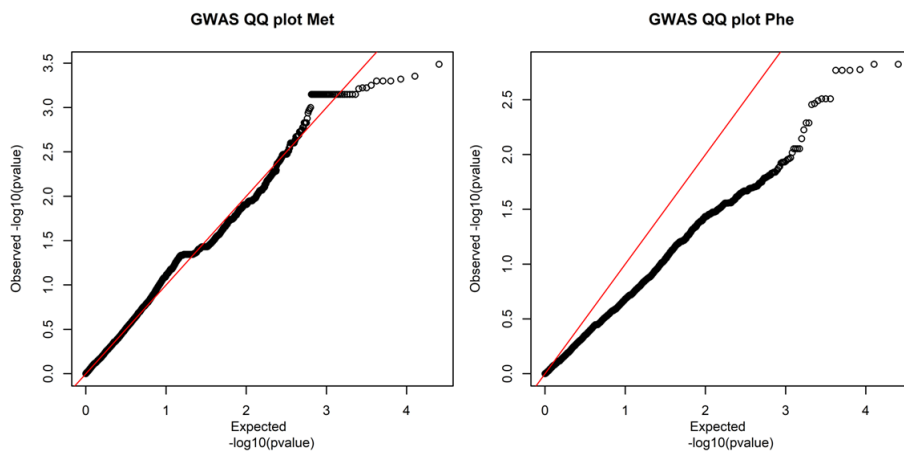


Abbildung 71 GWAS QQ-Plot für das Merkmal Met (links) und das Merkmal Phe (rechts)

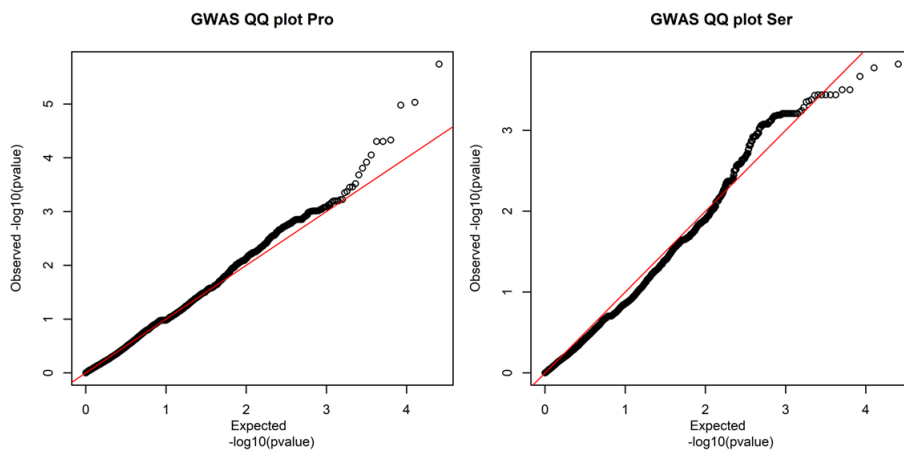


Abbildung 72 GWAS QQ-Plot für das Merkmal Pro (links) und das Merkmal Ser (rechts)

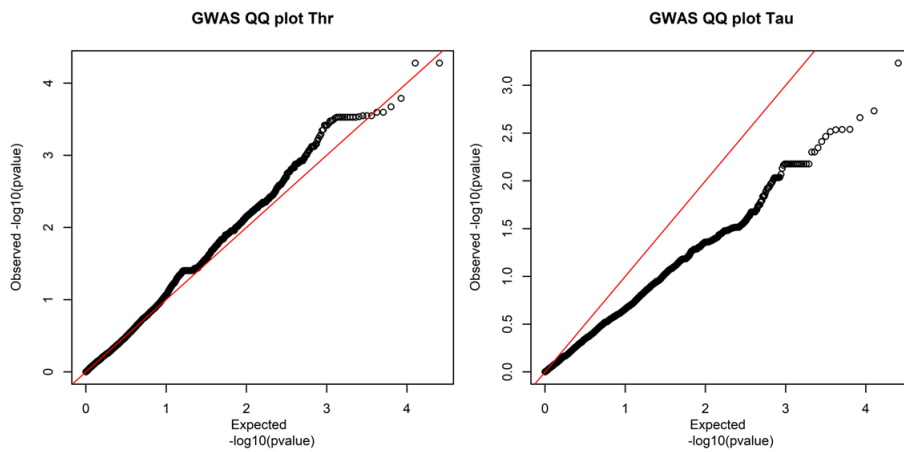


Abbildung 73 GWAS QQ-Plot für das Merkmal Thr (links) und das Merkmal Tau (rechts)

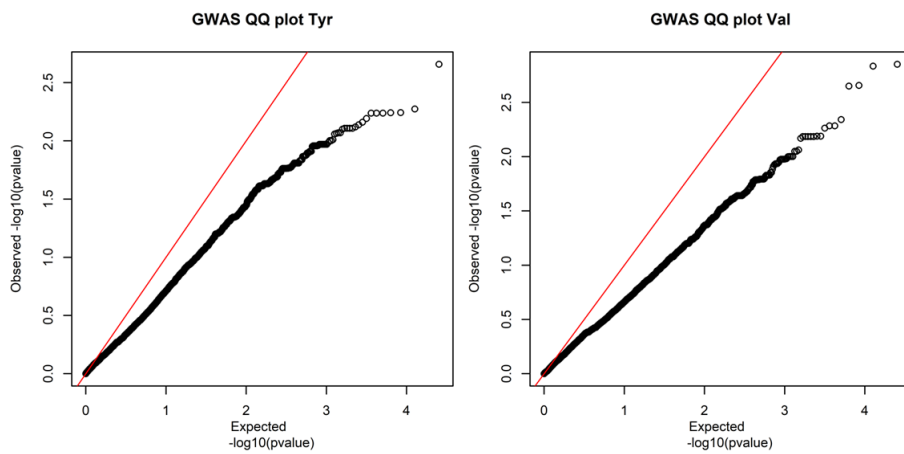


Abbildung 74 GWAS QQ-Plot für das Merkmal Tyr (links) und das Merkmal Val (rechts)

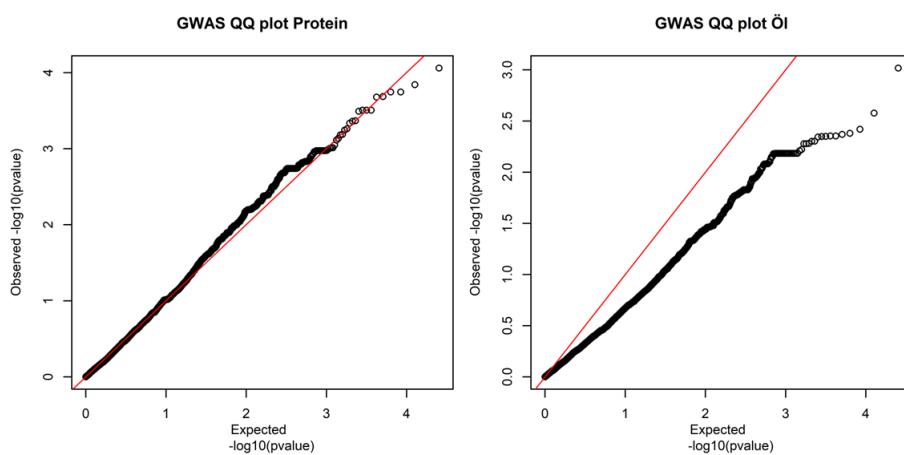


Abbildung 75 GWAS QQ-Plot für das Merkmal Protein (links) und das Merkmal Öl (rechts)

Erklärung von Eides statt

Erklärung gemäß der Promotionsordnung des Fachbereichs 09 vom 07. Juli 2004 § 17 (2)

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Neumarkt i.d. Opf., den 16. Juni 2024

Unterschrift