

Zuchtmethodische Nutzung von Inzuchtlinien beim Welschen Weidelgras

Der Landwirtschaftlichen Fakultät
der
Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg

als

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor agriculturarum (Dr. agr.)

vorgelegt von

Diplom-Agraringenieurin
Ortrun Kalb

geb. am 01. April 1972
in Bremen

Gutachter: Prof. Dr. W. E. Weber
Prof. Dr. H. Becker
PD Dr. A. Börner

Abgabe: Halle/Saale, den 07. Nov. 2003, verteidigt am 02. Febr. 2004

urn:nbn:de:gbv:3-000006240

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000006240>]

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 Einleitung.....	1
2 Literatur.....	4
2.1 Abstammung und Systematik.....	4
2.2 Verbreitung und Nutzwert.....	6
2.3 Zuchtmethodik und Selektionserfolg.....	7
2.4 Inzucht und Heterosis.....	9
2.5 Zuchtziele.....	10
2.5.1 Futterproduktion.....	11
2.5.2 Ertragssicherheit.....	13
2.6 Merkmale zur Sortenunterscheidung.....	15
2.6.1 Phänotypische Merkmale.....	15
2.6.2 Genetische Marker.....	16
2.7 Kartierungspopulationen in <i>Lolium</i>	18
3 Material und Methoden.....	20
3.1 Material.....	20
3.1.1 Übersicht.....	20
3.1.2 Inzuchtlinien.....	20
3.1.3 Topcross-Nachkommen.....	23
3.1.4 Kreuzungen.....	24
3.1.5 Synthetische Sorten (Synthetiks).....	27
3.1.6 Material für molekulare Analysen.....	28
3.2 Beschreibung der phänotypischen Merkmale.....	29
3.3 Rosttest.....	30
3.4 Isoenzymatische Untersuchungen.....	30
3.4.1 Isoenzymanalysen an Deutschem Weidelgras (<i>Lolium perenne</i>).....	31
3.4.2 Isoenzymanalysen an Welschem Weidelgras (<i>Lolium multiflorum</i>).....	31

3.5 DNA-Analysen.....	31
3.5.1 AFLP (amplified fragment length polymorphism).....	32
3.5.2 Genomische <i>Lolium</i> -Mikrosatelliten.....	33
3.5.3 Mikrosatelliten aus Gersten-ESTs und aus Weizen.....	33
3.5.4 Entwicklung von Mikrosatelliten aus EST-Sequenzen.....	34
3.5.5 STS (sequence tagged sites) – Marker aus anderen Kulturarten.....	35
3.5.6 SNPs (single nucleotid polymorphisms) aus Gersten-ESTs in <i>Lolium</i>	35
3.6 Datenanalyse.....	35
4 Ergebnisse.....	38
4.1 Genetische Parameter.....	38
4.1.1 Inzuchtlinien.....	38
4.1.2 Topcross-Nachkommen.....	41
4.1.2.1 Topcross-Nachkommen von Inzuchtlinien – Abstammungen.....	41
4.1.2.2 Topcross-Nachkommen von Inzuchtlinien – Bestäubervergleich.....	42
4.1.3 Kreuzungen.....	44
4.1.3.1 Phänotypische Variabilität von Kreuzungsnachkommen.....	44
4.1.3.2 Vergleich von Kreuzungen und Topcross-Nachkommen der Abstammung „Fastyl“.....	44
4.1.3.3 Vergleich von Topcrossen und Kreuzungen der selben Inzuchtlinien.....	45
4.1.4 Synthetiks.....	46
4.1.4.1 Varianzen von Parzellenmerkmalen des Jahres 2003.....	46
4.1.4.2 Vergleich von Parzellenmerkmalen – Mehrkomponenten Synthetiks und Kreuzungseltern.....	46
4.2 Inzucht und Heterosis.....	48
4.2.1 Inzuchtdepression in Kreuzungseltern.....	48
4.2.2 Vergleich ausgewählter Inzuchtlinien und fünf Sorten.....	48
4.2.3 Heterosis bei Topcross-Nachkommen.....	50
4.2.4 Heterosis bei Kreuzungsnachkommen.....	51
4.3 Korrelationen zwischen Merkmalen.....	53
4.3.1 Korrelationen zwischen Orten mit Merkmalen der Klone.....	53
4.3.2 Korrelationen zwischen Inzuchtlinien und Topcross-Nachkommen.....	54
4.3.3 Korrelationen zwischen Orten der Kreuzungen und Inzuchtlinien.....	55

4.3.4 Korrelationen der synthetischen Sorten.....	57
4.4 Heritabilität im engeren Sinne.....	58
4.5 Rosttests.....	58
4.6 Isoenzymuntersuchungen.....	59
4.6.1 Inzuchtlinien des Deutschen und des Welschen Weidelgrases.....	59
4.6.2 Kreuzungen bei <i>L. multiflorum</i>	62
4.7 DNA-Analysen.....	65
4.7.1 Mikrosatelliten.....	65
4.7.1.1 Methodischer Vergleich von Detektionssystemen für Mikrosatelliten bei <i>Lolium perenne</i>	65
4.7.1.2 Vergleich der <i>L. perenne</i> - und <i>L. multiflorum</i> -Inzuchtlinien.....	66
4.7.1.3 Vergleich von fünf Sorten des Welschen Weidelgrases mit Mikrosatelliten....	67
4.7.2 AFLP (amplified fragment length polymorphism).....	69
4.7.2.1 AFLPs in Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases.....	69
4.7.2.2 Verwandtschaftsverhältnisse von 96 Weidelgräser-Abstammungen, ermittelt mit AFLPs.....	69
4.7.3 Vergleich von phänotypischen Merkmalen und molekularen Markern in Inzucht- linien des Welschen Weidelgrases.....	71
4.7.4 Assoziationsstudien.....	73
4.7.5 Entwicklung und Charakterisierung von Mikrosatelliten aus <i>Lolium</i> -EST- Sequenzen.....	74
4.7.6 Weizen-Mikrosatelliten in <i>Lolium</i>	77
4.7.7 Mikrosatelliten aus Gersten-ESTs in <i>Lolium</i>	78
4.7.8 Gersten-SNPs in <i>Lolium</i>	79
4.8 Kartierung in der <i>L. perenne</i> -Inzuchtlinie S45.....	81
5 Diskussion.....	83
5.1 Genetische Parameter.....	83
5.1.1 Genetische Variabilität.....	83
5.1.2 Korrelation.....	85
5.1.3 Heritabilität.....	88
5.2 Inzucht und Heterosis.....	90

5.3 Populationstypen.....	92
5.3.1 Kreuzungen.....	92
5.3.2 Synthetische Sorten.....	93
5.4 Kronenrostresistenz.....	94
5.5 Molekulare Marker.....	96
5.5.1 Erfassung der Variabilität zwischen Sorten und Abstammungen.....	96
5.5.2 Vergleichende Untersuchungen zwischen Mikrosatelliten- und AFLP-Markern.....	98
5.5.3 Übertragbarkeit von molekularen Markern zwischen Gattungen und Arten.....	99
5.6 Assoziation zwischen molekularen Markern und Merkmalen.....	100
5.7 Kartierung.....	103
6 Zusammenfassung.....	106
6.1 Deutsche Fassung.....	106
6.2 Englische Fassung.....	109
7 Literaturverzeichnis.....	113

ANHANG

Abkürzungsverzeichnis

Acp	Saure Phosphatase
AFLP	Amplified fragment length polymorphism
AG	Arbeitsgruppe
b	Regressionskoeffizient
B	Belgien
BAZ Groß Lüsewitz	Bundesanstalt für Züchtungsforschung Groß Lüsewitz
BGR	Bulgarien
bp	Basenpaare
BSA	Bundessortenamt
Bulk	Zusammengeführte DNA-Proben zu nur einer zu analysierenden Probe
C	Celsius
cDNA	Komplementäre DNA
CH	Schweiz
cM	Zentimorgan
cm	Zentimeter
CMS	Cytoplasmatische Männliche Sterilität
CSK	Tschechoslowakei
CYR	Kanarische Inseln
D	Deutschland
DDR	Deutsche Demokratische Republik
DK	Dänemark
DNA	Desoxyribonucleinsäure
dNTP	Desoxynucleotidtriphosphat
DSV	Deutsche Saatveredelung Lippstadt-Bremen GmbH
E	Spanien
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EP	Einzelpflanzenprüfung
EST	Expressed tagged sites (ansequenzierte Gene)
E SSR	Von ESTs abgeleitete Mikrosatelliten
F	Frankreich
FAM	Blau fluoreszierender Farbstoff
FG	Freiheitsgrade
GABI	Genomanalyse im Biologischen System Pflanze
GB	Großbritannien
Got	Glutamat-Oxaloacetat-Transaminase
G SSR	Genomische Mikrosatelliten
h	Stunde
ha	Hektar
HEX	Grün fluoreszierender Farbstoff
HT	Hohenthurm (Versuchsfeld des Institutes für Pflanzenzüchtung Universität Halle)
i98	Inzuchtlinien, die 1998 erstellt wurden
i99	Inzuchtlinien, die 1999 erstellt wurden
IGER	Institute for Grassland and Environmental Research, Aberysthwyth, Wales
ILGI	International <i>Lolium</i> Genome Initiative
Inst Cer & Indu Crops	Institute of Cereals & Industrial Crops
IPK	Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung Gatersleben
IR	Irland
kg	Kilogramm
kV	Kilovolt
L	Linie
LG	Kopplungsgruppe

LGSSR	Genomische <i>Lolium</i> -Mikrosatelliten
Lm	<i>Lolium multiflorum</i>
Lw	<i>Lolium multiflorum</i> ssp. <i>westerwoldicum</i>
LOD	Dekadischer Logarithmus des Quotienten aus den Wahrscheinlichkeiten der Rekombinationswerte r und $0,5$.
Lp	<i>Lolium perenne</i>
m ²	Quadratmeter
M13	Sequenz, die am 5' Ende der forward-Primer synthetisiert wurde und an dem sich die Primer der Farbstoffe (FAM, HEX, NED) anlagern
Max.	Maximalwert
Mg(OAc) ₂	Magnesiumacetat
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
Min.	Minimumwert
mM	Millimolar
mm	Millimeter
MQ	(Meansquare), Variabilitätsursache
MW	Mittelwert
µl	Mikroliter
n	Grundgesamtheit
NED	Gelb fluoreszierender Farbstoff
ng	Nanogramm
NIAB	National Institute of Agriculture Botany
NL	Holland
OKssr	Von <i>Lolium</i> -EST abgeleitete mikrosatellitenhaltige Sequenzen
P	Parzellenprüfung
p150/112 F ₁	ILGI-Kartierungspopulation (<i>L. perenne</i>)
PAGE	Polyacrylamidgel-Elektrophorese
PCA	Principal component analysis
PCR	Polymerase Kettenreaktion
pg	Pikogramm
Pgi	Phosphoglucoisomerase
PROC	Prozedurbefehl für statistische Auswertung von Versuchen beim Programmpaket SAS
QTL	Quantitative trait loci
r	Korrelationskoeffizient
RAPD	Random amplified polymorphic DNA
RFLP	Restriction fragment length polymorphism
RO	Rumänien
sec	Sekunden
SNK	Student-Newman-Keuls-Test
SNP	Single nucleotide polymorphism
SSR	Mikrosatelliten
Std Dev	Standardabweichung
STS	Sequence tagged sites
Syn-1, Syn-2	Generation x einer synthetischen Sorte
Synthetik	Synthetische Sorte
t	Tonne
Taq-Polymerase	Thermostabile DNA-Polymerase, gewonnen aus dem Bakterium <i>Thermus aquaticus</i>
TE	Tris-EDTA
TGSSR	Genomische Weizenmikrosatelliten
TH	Thüle (Zuchtstation der DSV)
TKG	Tausendkorngewicht
TM	Trockenmasse
U	Unit
UPGMA	Unweighted pair-group method of arithmetic averages
USA	Vereinigte Staaten von Amerika

UV	ultraviolett
V	Volt
Xgwm	X – Locus, gwm - Gaterslebener Weizenmikrosatellit
$\chi^2_{1:2:1}$	Auf Abweichung vom Spaltungsverhältnis 1:2:1 testender Chi-Quadrat-Wert
*	Signifikant bei 5% Irrtumswahrscheinlichkeit
**	Signifikant bei 1% Irrtumswahrscheinlichkeit
***	Signifikant bei 0,1% Irrtumswahrscheinlichkeit
%	Prozent

Abbildungsverzeichnis

	Seite
Abb. 1: Boxplotdarstellung der Blattfarbenbonitur.....	50
Abb. 2: Darstellung der Leistung der Kreuzungen für Merkmale, ($y=0$ entspricht der Leistung des Elternmittels).....	53
Abb. 3: Isoenzym polymorphismus für Kreuzungsnachkommen (1 – 3 und 4 – 6) und ihre Eltern (E1, E2).....	60
Abb. 4: Mikrosatelliten-Fragmente zweier <i>L. perenne</i> -Eltern (P) und ihre 10 Selbstungsnachkommen, mit Silbernitrat-Färbung (A) und Fluoreszenz-Markierung (B) erfasst.....	65
Abb. 5: Genetische Ähnlichkeiten zwischen Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases, ermittelt mit 31 genomischen Mikrosatelliten.....	66
Abb. 6: Genetische Ähnlichkeit nach Dice zwischen und innerhalb von Inzuchtlinien des Welschen und des Deutschen Weidelgrases, ermittelt mit 31 Mikrosatelliten-Primerpaaren (374 Fragmente).....	67
Abb. 7: Genetische Ähnlichkeit nach Dice zwischen und innerhalb von fünf Sorten des Welschen Weidelgrases (368 Fragmente).....	68
Abb. 8: Minimale Anzahl von Mikrosatelliten-Allelen zur Differenzierung von fünf Sorten.....	69
Abb. 9: Ähnlichkeiten zwischen tetraploiden Sorten und Zuchtmaterial, diploiden Sorten und Zuchtmaterial, Inzuchtlinien und Genbankakzessionen von <i>L. multiflorum</i> und vier <i>L. perenne</i> Sorten.....	70
Abb. 10: Ähnlichkeiten zwischen 12 Inzuchtlinien, ermittelt anhand von AFLP (A) und Mikrosatelliten (B).....	72
Abb. 11: Ähnlichkeiten von neun Inzuchtlinien ermittelt anhand von Mikrosatelliten- (A), AFLP- (B) und phänotypischen Datensätzen.....	72
Abb. 12: Verteilung der 19 genomischen Mikrosatelliten, der 9 STS-Marker, der 18 Mikrosatelliten aus <i>Lolium</i> -ESTs und der 325 AFLP-Marker über die 7 Kopplungsgruppen der Selbstungsnachkommenschaft.....	82

Tabellenverzeichnis

	Seite
Tab. 1: Darstellung des Arbeitsplans für die Feldversuche.....	20
Tab. 2: Beschreibung von Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases, des Welschen Weidelgrases und fünf Sorten.....	22
Tab. 3: Abstammungen und Anzahl von Inzuchtlinien und Topcross-Nachkommenschaften.....	23
Tab. 4: Darstellung der verklonten Kreuzungseltern und der mit ihnen durchgeführten Kreuzungen der Jahre 2000 (2-152) und 2001 (OK1-OK6).....	25
Tab. 5: Übersicht über die erstellten Synthetiks.....	28
Tab. 6: Erfassung phänotypischer Merkmale am untersuchten Material.....	29
Tab. 7: Varianzen der Merkmale zwischen und innerhalb der Abstammungen der 99-er Inzuchtlinien in Hohenthurm (HT) und Thüle (TH).....	38
Tab. 8: Variabilität von Merkmalen zwischen den Jahren 1999 und 2000, zwischen Inzuchtlinien der Abstammungen ‚Fastyl‘ und ‚Meribel‘ und der Interaktion Jahre x Abstammungen.....	39
Tab. 9: Varianzanalyse von 10 auch mit molekularen Markern charakterisierten Inzuchtlinien für die Jahre 2000 und 2002.....	40
Tab. 10: Varianzen von Merkmalen der Klone in den Blöcken 1, 2 und 3 (Jahr 2001).....	40
Tab. 11: Varianzen von Merkmalen der Klone in vier Blöcken.....	40
Tab. 12: Varianzen der Merkmale Fahnenblattlänge, Fahnenblattbreite und Ährenlänge der Klone in den Blöcken 1 und 3 in 2001 und Block 4 in 2000.....	41
Tab. 13: Varianzen der Merkmale zwischen und innerhalb der Abstammungen der Topcross-Nachkommen, geprüft in den Jahren 2000 bzw. 2001.....	41
Tab. 14: Mittelwerte und Varianzen der Topcross-Nachkommen der Abstammungen ‚Fastyl‘ und ‚Meribel‘ von zwei Jahren (2000, 2001).....	42
Tab. 15: Student-Newmann-Keuls-Test für Merkmale.....	43
Tab. 16: Varianzen der Merkmale von Kreuzungen zwischen und innerhalb der Orte.....	44
Tab. 17: Vergleich von Topcrossen und Kreuzungen der Abstammung ‚Fastyl‘.....	45
Tab. 18: Mittelwerte, Minimum- und Maximumwerte sowie Differenzen der Mittelwerte von Topcross- und Kreuzungsnachkommen einzelner Inzuchtlinien.....	45
Tab. 19: Varianzen von Parzellenmerkmalen des Jahres 2003 von Synthetiks und Kreuzungen.....	46
Tab. 20: Relative Mittelwerte, Standardabweichung, Mittelwertdifferenzen, Minimal- und Maximalwerte von Synthetiks (n=1) und ihren Kreuzungen, die in sie eingeflossen sind.....	47
Tab. 21: Leistung (%) der Kreuzungselter im Verhältnis zur Vergleichssorte ‚Ligrande‘.....	48
Tab. 22: Mittelwerte und Varianzen der Merkmale zwischen und innerhalb von Inzuchtlinien (n=10) und Sorten (n=5).....	49
Tab. 23: Mittelwerte und Streuung der Topcross-Nachkommen und der Inzuchtlinien.....	51
Tab. 24: Mittelwerte und Streuung von Kreuzungen (Mittel über beide Orte) und Eltern.....	51
Tab. 25: Korrelationen zwischen Blöcken bei Klonen ingezüchteter Einzelpflanzen.....	54
Tab. 26: Korrelationskoeffizienten nach Pearson zwischen Inzuchtlinien und ihren Topcross-Nachkommen (Einzelpflanzen).....	54
Tab. 27: Ausgewählte Korrelationen zwischen Einzelpflanzenmerkmalen der 99-er Inzuchtlinien und Top- cross-Nachkommen mit relativen Parzellenergebnissen (n=5).....	55
Tab. 28: Korrelationskoeffizienten von Merkmalen zwischen Orten der Kreuzungsnachkommen und zwischen Kreuzungsnachkommen und ingezüchteten Eltern für Hohenthurm (n=84) und Thüle (n=76).....	56

	Seite
Tab. 29: Korrelationen zwischen Merkmalen der Kreuzungen.....	56
Tab. 30: Korrelationskoeffizienten zwischen Parzellenmerkmalen und Orten.....	57
Tab. 31: Korrelationen zwischen Parzellenmerkmalen der 4- und 5-Komponenten Synthetiks und ihren 2-Komponenten Synthetiks, n=7.....	57
Tab. 32: Heritabilität von agronomischen Merkmalen bei <i>L. multiflorum</i> , erfasst über Eltern-Nachkommen-Regression.....	58
Tab. 33: Isoenzymanalysen der Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases mit den Allelkombinationen der Selbstungseltern und der Spaltungsverhältnisse in den Nachkommen.....	60
Tab. 34: Häufigkeiten von Genotypen für Allelkombinationen von Acp2 und Pgi2 innerhalb von Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases.....	61
Tab. 35: Ergebnisse der Isoenzymanalysen für die Kreuzungen und ihre Eltern.....	63
Tab. 36: Assoziationen zwischen phänotypischen und molekularen Merkmalen.....	73
Tab. 37: AFLP-Daten der beiden rostanfälligen Einzelpflanzen (119, 120) und sieben weiterer in mindestens einer Wiederholung anfälligen Einzelpflanzen.....	74
Tab. 38: Mikrosatelliten und die geschätzte Größe (bp) von Fragmenten in unterschiedlichem Material.....	75
Tab. 39: Genomische Weizen-Mikrosatelliten in <i>L. perenne</i> und <i>L. multiflorum</i>	77
Tab. 40: Mikrosatelliten aus Gersten-ESTs in <i>L. perenne</i> und <i>L. multiflorum</i>	78
Tab. 41: Name, Anzahl von SNPs und Anmerkung.....	80