

5 Diskussion

5.1 Genetische Parameter

5.1.1 Genetische Variabilität

Die Analyse von Inzuchtlinien, Topcrossen, Kreuzungen und Synthetiks bei *L. multiflorum* erfolgte zum Teil mehrjährig und mehrortig, so dass Varianzkomponenten für den Genotyp, das Jahr und die Interaktion Genotyp x Jahr geschätzt werden konnten. Geringe Korrelationen zwischen den Jahren und große Interaktionen zwischen Genotypen x Jahren reflektieren dabei die Variabilität von Merkmalen von einem Jahr zum nächsten. Inzuchtlinien haben den Nachteil, dass sie weniger wüchsig sind (Lonnquist und Lindsey 1964) und größere Interaktionen mit der Umwelt zeigen (Wricke und Weber 1986). Die Varianzen der Inzuchtlinien beim Welschen Weidelgras waren bei den meisten an Einzelpflanzen erfassten Merkmalen an beiden Orten so groß, dass Abstammungen nicht signifikant voneinander unterschieden werden konnten (Tab. 7). Zwischen Inzuchtlinien wurden dagegen signifikante Unterschiede beobachtet, so dass eine Selektion auf Basis von Inzuchtlinien sinnvoll erscheint.

Auch andere Autoren stellten fest, dass die Interaktionen von dem jeweiligen Merkmal bei *L. perenne* abhängig waren. So beobachtete Elgersma (1990a) geringere Interaktionen für das Merkmal TKG als für das Merkmal Samenertrag und Marshall (1985) berichtete, dass die Samengröße relativ konstant über viele Umwelten war. Wurde die Anzahl der Abstammungen der Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases auf ‚Fastyl‘ und ‚Meribel‘ reduziert, war die Abstammung ‚Fastyl‘ der Abstammung ‚Meribel‘ in fast allen Merkmalen überlegen (Tab. 8). Die hier beobachteten signifikanten Unterschiede zwischen den Jahren können auf unterschiedliche Selbstungsnachkommenschaften in beiden Jahren zurückgeführt werden. Beim Vergleich von Sorten und Inzuchtlinien konnte gezeigt werden, dass die mittlere Ährenlänge der Inzuchtlinie 1063 (21,86 cm) nur geringfügig kürzer war als die der heterozygoten Sortenpflanzen der Abstammung ‚Fastyl‘ (Anhang Tab. IV). Kalb und Weber (2000) hatten eine signifikante Korrelation bei $P=0,05$ zwischen Samenertrag und Ährenlänge ($r=0,26$) beobachtet, so dass eine ausreichende Saatgutproduktion sowohl für die Herstellung von Inzuchtlinien als auch für die anschließende Topcrosssaatgutproduktion möglich sein sollte. Die Varianzen der Einzelpflanzenmerkmale der Topcross-Nachkommen von 2000 und 2001 waren in Abhängigkeit von den Merkmalen unterschiedlich. Nur bei den Merkmalen Bestockung und Umfang der Topcross-Nachkommen der Inzuchtlinien von 1999 in 2001 war

die Varianz höher als die der Topcross-Nachkommen der Inzuchtlinien von 1998 in 2000 (Tab. 23). Die Unterschiede zwischen den Inzuchtlinien von 1998 waren größer (Kalb und Weber 2000) als bei den Topcross-Nachkommen in 2000 für die Merkmale Bestockung, Wuchsform und Wuchshöhe. Bei den Inzuchtlinien von 1999 und ihren Topcross-Nachkommen traf dies nur für die Wuchsform und die Wuchshöhe zu. Lonquist und Lindsey (1964) beobachteten für das Merkmal Ertrag bei Mais-Inzuchtlinien ebenfalls größere Varianzen als bei ihren Topcrossen. Die Streuungen um den Testmittelwert für die Inzuchtlinien betragen bis zu 127% und für die Topcrosse 48%, die Genotyp x Jahr-Interaktion war in den Inzuchtlinien höher als in den Topcrossen. In dieser Studie wurden sowohl für die Kreuzungen (Tab. 24) als auch für die Topcrosse (Tab. 23) geringere Streuungen um die Mittelwerte festgestellt als für die Inzuchtlinien. Bei Posselt (1989) waren die genetischen Varianzen der Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases für Trockenmasse etwa dreimal so hoch wie für die Topcrosse.

Die Variabilität der im Rahmen dieser Arbeit verklonten ingezüchteten Pflanzen war sehr groß, aber auch die Interaktion mit Umwelten (Blöcken) (Tab. 10, 11 und 12). Eine hohe Variabilität für die Interaktion bedeutet einerseits, dass eine tatsächliche (realistische) Einschätzung der Klone schwierig ist. Andererseits ermöglicht eine hohe Variabilität zwischen Klonen eine gute Selektion von Kreuzungspartnern. Die teils widersprüchlichen Ergebnisse können verschiedene Ursachen haben. Erstens könnten ausgefallene oder fremde Samen in den Hohenthurmer Klonen gekeimt sein und die Klone überwuchert haben, so dass falsche Pflanzen bewertet wurden. Hier hätte ein erneutes Untersuchen der Klone mit Isoenzymen Klarheit schaffen können, was aber unterblieb. Zweitens waren die Pflanzen bereits Anfang Juli verklont und in Hohenthurm gepflanzt worden. Die Witterungsverhältnisse danach waren günstig, so dass sich die Klone in Hohenthurm im Herbst optimal entwickeln konnten. Sie waren Mitte Oktober bereits so gut entwickelt, dass sie erneut zurückgeschnitten werden mussten. Schöberlein (1970) stellte eine Beeinflussung des Samenertrages durch die Herbstentwicklung, das Vernalisationsbedürfnis und die Bestandesdichte bei *Dactylis*, *Phleum* und *Festuca* fest. Bei Herbstsprossen mit hoher Blattzahl entwickelte sich ein höherer Anteil an generativen Trieben im Folgejahr als bei Herbstsprossen mit geringerer Blattzahl. Folglich dürfte vor allem die zeitige Etablierung auf dem Feld und die daraus resultierende Herbstentwicklung zu den wüchsigen Klonen geführt haben. Klone, die auf dem Kühnfeld bewertet wurden, konnten aufgrund von zu starker Nässe und Nichtbefahrbarkeit des Feldes im Frühjahr erst Anfang Mai 2001 gepflanzt werden, so dass diese Klone sich dort erst recht spät etablieren konnten. In der Literatur sind keine

Angaben über das Verhalten von verklonten ingezüchteten Einzelpflanzen von *L. multiflorum* vorhanden. Reheul und Ghesquiere (1996) beobachteten aber an heterozygoten Klonen sowohl zwischen Jahren als auch zwischen Orten des selben Jahres, dass 40% der Klone sich unterschiedlich gegenüber Kronenrost bei vergleichbaren Infektionsstärken verhielten. Elgersma (1990b) stellte fest, dass neben einer signifikanten Interaktion mit dem Bodentyp bzw. einer Boden x Wasser-Interaktion auch das Alter der Pflanzen einen Einfluss auf den Samenertrag hatte. Diese lagen bei zweijährigen Pflanzen auf Sandböden etwa 30% unter denjenigen von einjährigen.

5.1.2 Korrelation

Schätzungen der genetischen Korrelationskoeffizienten sind selten präzise, weil sie aufgrund der Kovarianz große statistische Schätzfehler enthalten (Falconer und Mackay 1996). Wird eine große Anzahl an Genotypen an mehreren Standorten geprüft, dann sind die an Prüfgliedmittelwerten errechneten phänotypischen Korrelationen den genetischen Korrelationen sehr ähnlich und praktisch genauso aussagefähig (Becker 1993). Meistens sind verschiedene Merkmale genetisch nicht unabhängig voneinander. Das hat zwei Konsequenzen: 1. eine Selektion auf ein Merkmal kann zu unabsichtlichen Änderungen in Form eines korrelierten Selektionserfolges in den anderen Merkmalen führen und 2. ein gewünschtes Merkmal kann indirekt durch Selektion auf ein anderes Merkmal beeinflusst werden. Beruht eine ungünstige Korrelation von Merkmalen auf Pleiotropie, sind die Aussichten für eine Kombination beider Eigenschaften begrenzt (Becker 1993).

In der Gräserzüchtung gelten Resistenzen gegenüber Krankheiten und hohe Futtererträge als negativ miteinander korreliert. In der vorliegenden Arbeit wurden einerseits ähnliche, andererseits abweichende Beobachtungen gemacht. Während die Korrelationen zwischen dem Rostbefall und den Merkmalen Bestockung ($r=0,97$), Umfang ($r=0,88$) und Wuchshöhe ($r=0,89$) der Kreuzungsnachkommen sehr hoch waren, waren sie verhältnismäßig gering zur Frischmasse ($r=0,35$) und zur Trockenmasse ($r=0,28$) (Tab. 29). Geringe Boniturnoten (1) bei Krankheiten (Rost und Mehltau) bedeuten hierbei, dass Pflanzen nicht befallen bzw. hohe Boniturnoten (9), dass Pflanzen stark befallen wurden. Die hohen positiven Korrelationen von Leistungsmerkmalen mit Rostbefall sind nicht erwünscht, weil ertragreiche Pflanzen stärker befallen waren als schwachwüchsige. Der Grund für die geringen Korrelationen zwischen Rostbefall und Parzellenmerkmalen kann auch von der geprüften Generation beeinflusst worden sein. Während die Einzelpflanzenmerkmale an der Syn-1 erfasst wurden, wurde in den Parzellen die Syn-2 geprüft. Moderate Zusammenhänge wurden bei den

Kreuzungsnachkommen zwischen Mehлтаubefall und Bestockung ($r=0,26$), Umfang ($r=0,21$) bzw. Wuchshöhe ($r=0,37$) festgestellt (Tab. 29). Frischmasse und Trockenmasse waren stark negativ mit dem Mehлтаubefall korreliert ($r=-0,49$ bzw. $r=-0,69$). Starkwüchsige Kreuzungsnachkommen waren nur in 20% der Fälle auch anfällig gegenüber Mehлтаu. Die Zwischenvermehrung hatte hier zur Folge, dass Kreuzungsnachkommen, die in der Syn-2 ertragreich waren, in der Syn-1 nur einen geringen Mehлтаubefall aufwiesen. Solche Verhältnisse sind wünschenswert, weil weniger anfällige Pflanzen auch höhere Erträge liefern. Potter (1987) stellte in seinen Untersuchungen einen Zusammenhang zwischen Kronenrostbefall und der Verdaulichkeit fest. Kronenrostbefallenes Futter vertrocknet, wird dadurch ungenussig vom Vieh aufgenommen und kann zu minderer Milchqualität führen. Eine Selektion auf Rostresistenz hat in diesem Fall eine gesteigerte Verdaulichkeit und eine bessere Milchqualität zur Folge.

Von problematischen Beziehungen zwischen Saatgutgewinnung und weiteren Ertragsmerkmalen wird von mehreren Autoren berichtet. Van Wijk (1980) stellte negative Korrelationen zwischen Futterertrag und Saatgutertrag fest, wobei der Saatgutertrag nicht nur von der Kornzahl und -größe, sondern auch vom TKG abhängig war und zwischen Sorten Unterschiede auftraten (Evans und Muncey 1977, Elgersma 1990b). Bei Kalb und Weber (2000) dagegen war die Saatgutmenge von Inzuchtlinien positiv korreliert mit der Frischmasse der Einzelpflanzen ($r=0,42$), so dass von wüchsigen Pflanzen ausreichend Saatgut für die weitere Vermehrung zur Verfügung stehen sollte. In dieser Studie war die Ährenlänge negativ mit dem Ertrag aus dem ersten Schnitt ($r=-0,57$) bzw. aus allen Schnitten ($r=-0,87$) korreliert (Tab. 27). Dies könnte zu Problemen bei der Saatgutgewinnung führen. Sollen Parzellen sowohl der Saatgut- als auch der Futterproduktion dienen, erscheint es aufgrund dieser Ergebnisse sinnvoll, den ersten Schnitt für die Saatgutgewinnung zu nutzen, weil die Korrelation von Ährenlänge und allen Schnitten stärker negativ war.

Sind Merkmale hoch miteinander korreliert, kann die Effizienz der Selektion gesteigert werden, indem die Anzahl der zu bewertenden Merkmale reduziert wird. Eine sogenannte indirekte Selektion ist von Vorteil, wenn das zu verbessernde Merkmal schwieriger zu erfassen ist, erst zu einem späten Entwicklungszeitpunkt ausgeprägt wird oder stark umweltabhängig ist (Wricke und Weber 1986). Die Frischmasse von Einzelpflanzen wird von den Merkmalen Wuchshöhe, Anzahl ährentragender Halme, Blattmasse und Pflanzenumfang beeinflusst. Kalb und Weber (2000) ermittelten hohe Korrelationen zwischen Umfang und Frischmasse ($r=0,85$) bzw. Wuchshöhe ($r=0,51$) bei Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases. Daher wurde in dieser Arbeit auf die Erfassung der Frischmasse an Einzelpflanzen verzichtet und nur der Umfang und die Wuchshöhe gemessen. Für die 2-Komponenten

Synthetiks (Ganzpflanzenkreuzungen) wurden Pflanzen mit überdurchschnittlichen Umfangs- und Wuchshöhenmessung selektiert. Diese unterschieden sich nicht signifikant von den leistungsstarken Standards. Dagegen waren die zufällig erstellten 2-Komponenten Synthetiks (Ährenkreuzungen) den Standards signifikant unterlegen. Die drei Parzellenertragsmerkmale waren sehr hoch miteinander korreliert. Trotzdem wird der Züchter alle drei Merkmale erfassen, weil das Bundessortenamt diese Merkmale mehrmals innerhalb einer Vegetationsperiode erfasst und der Züchter seine Daten mit denen des Bundessortenamtes vergleichen kann.

Selektion an Einzelpflanzenmerkmalen ist nur sinnvoll, wenn Genotypen mit hohen Einzelpflanzenenerträgen in Drillparzellen ebenfalls hohe Erträge bringen. Einige Autoren berichten, dass bei der Selektion auf hohe Futtererträge die Korrelation zwischen Einzelpflanzen- und Parzellenmerkmalen zu gering und somit Einzelpflanzenselektion nicht möglich ist (Carpenter und Casler 1990, Hayward and Vivero 1984, Surprenant et al. 1988). Bugge (1987) fand in *L. perenne* keine Korrelation zwischen der Samenmenge von Einzelpflanzen und ihren in Reihen angebauten Nachkommenschaften. Als Ursache dieser Ergebnisse wird eine zu geringe Stickstoffdüngung und eine dadurch verursachte schlechtere Ähren- und Samenentwicklung genannt. Elgersma (1990a) konnte ebenfalls keine Korrelationen beobachten. Sie begründete dies mit einer heterogeneren Triebbildung bei Einzelpflanzen, hervorgerufen durch eine hohe Lichtpenetration in der Jugendzeit. Während spät geschobene Triebe bei Einzelpflanzen überleben können, werden spät geschobene Triebe in Parzellen überwachsen. Andere Autoren fanden Abweichungen dazu: Knowles (1977) bei *Agropyron intermedium* und Bean (1972) bei *Festuca arundinacea* und *Phleum pratense* konnten hohe Korrelationen für das Merkmal Samenmenge zwischen Einzelpflanzen- und Parzellenversuchen ermitteln. Rognli (1987) beobachtete hohe Korrelationen zwischen Einzelpflanzen und dem Anbau in Drillparzellen für das Merkmal 'Zeitpunkt des Ährenschiebens'. Nguyen und Sleper (1983) stellten bei Rohrschwengel fest, dass die Reifeigenschaften der in einem Polycross-Test geprüften Halbgeschwister-Nachkommenschaften weiter vererbt wurden. Lonnquist und Lindsey (1964) fanden Korrelationen zwischen Inzuchtlinien von Mais und ihren Topcross-Nachkommen für die Merkmale Ertrag, Feuchtigkeitsgehalt zum Erntezeitpunkt, Pflanzenhöhe und Ährenlänge zwischen $r=0,24$ und $r=0,30$. Für die Wuchshöhe wurde bei *Lolium* (diese Arbeit) zwischen Einzelpflanzen und Topcross-Nachkommen eine Korrelation von $r=0,41$ gefunden (Tab. 26). Ein gleich großer Korrelationskoeffizient wurde auch zwischen Inzuchtlinien von 1998 und den Topcross-Nachkommen berechnet (Ergebnisse hier nicht vorgestellt). Wenn in zwei Jahren an unterschiedlichem Material dieselben

positiven Ergebnisse erzielt werden, scheinen Zusammenhänge zwischen Inzuchtlinien und Nachkommen zu bestehen. Eine Selektion auf hohe ingezüchtete Pflanzen als Kreuzungselter oder Testkomponente in Topcross-Anlagen erscheint somit sinnvoll.

5.1.3 Heritabilität

Die Heritabilität erfasst die erblichen Anteile der genetischen Varianz an der Merkmalsausprägung und bestimmt die genetisch bedingte Ähnlichkeit zwischen Verwandten. Sie ermöglicht dem Züchter, die Zuverlässigkeit des Phänotypwertes bei der Beurteilung des Zuchtwertes einzuschätzen (Falconer und Mackay 1996). In dieser Arbeit wurde die Heritabilität über die Eltern-Nachkommen-Regression erfasst. Wenn Nachkommen und Eltern in derselben Umwelt charakterisiert werden, kann eine Kovarianz der Umwelt zwischen Eltern und Nachkommen auftreten und zu einer Überschätzung der Heritabilität führen (Casler 1982, Vogel et al. 1980).

Für die Berechnung der Eltern-Nachkommen-Regressionen von Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases und deren Kreuzungsnachkommen wurden die beiden Orte der Kreuzungen (Hohenthurm, Thüle) getrennt betrachtet (Tab. 32). Dies ermöglichte einen Trend (hoch, niedrig, unterschiedlich) für die Regressionskoeffizienten abzuleiten. In dieser Studie waren die Koeffizienten für einige Merkmale (Umfang und Wuchshöhe) an beiden Orten gleichermaßen niedrig. Aber auch größere Unterschiede zwischen Regressionskoeffizienten an beiden Orten wurden beobachtet (Bestockung, Fahnenblattlänge, Ährenlänge), wobei sie für Hohenthurm höher waren als in Thüle. Extrem waren die Unterschiede für den Rost- und Mehлтаubefall. Hier besteht aber eine Abhängigkeit zum Auftreten des Erregers. Rostbefall tritt epidemieartig Ende Juli und im August auf. In Thüle war das Saatgut der Kreuzungen bereits Anfang Juli geerntet und der Rostbefall zu zeitig bonitiert worden. Daher konnte keine Heritabilität gefunden werden. In Hohenthurm dagegen standen die Kreuzungen bis ins nächste Jahr, so dass hier der optimale Zeitpunkt abgewartet wurde. Trotzdem war auch in Hohenthurm die Heritabilität gering. Die Rostdaten der Eltern und Nachkommen wurden nämlich in unterschiedlichen Jahren erfasst und ein Befall mit Kronenrost tritt nicht in jedem Jahr und nicht mit gleicher Intensität auf. Hinzu kommt, dass der Erreger des Kronenrosts Feuchtigkeit benötigt. Auch andere Autoren schätzten Heritabilitäten im engeren Sinne für Kronenrost. Wilkins (1975) Heritabilitätsschätzung für ein Einsporisolat des Kronenrostes war mit 22% gering, verglichen mit 58% bei Hayward (1977), und zwischen 22 und 64% (Mittelwert 46%) bei Reheul und Ghesquiere (1996) in Deutschem Weidelgras unter Feldbedingungen. Aber ein ähnliches Ergebnis konnte in dieser Arbeit für die ingezüchtete

Elternpflanzen des Welschen Weidelgrases und ihre Kreuzungsnachkommen für Hohenthurm berechnet werden.

Die Eltern-Nachkommenregression für den Mehltau war für die Kreuzungsnachkommen in Hohenthurm mäßig und für Thüle fast Null, wobei in Thüle die Pflanzen teilweise stark befallen waren. Wie beim Rost können die Ursachen in der Anbaumethodik und im Klima liegen. Der Einzelpflanzenabstand der Kreuzungen war an beiden Orten unterschiedlich. In den Vermehrungspartzellen in Thüle war er halb so weit wie in Hohenthurm. Hinzu kommen die dichten Roggenstreifen in Thüle, die neben der Fremdbestäubung auch einen Luftaustausch verhindern und wodurch sich Feuchtigkeit im Bestand gut halten kann. In Hohenthurm dagegen standen die Einzelpflanzen auf dem freien Feld.

Für den Blühtermin wurde an beiden Orten die höchste Heritabilität ermittelt, wobei diese in Thüle höher war. Dieses Merkmal konnte recht zuverlässig geschätzt werden. Elgersma (1990c) bonitierte nicht das Merkmal Blühtermin, sondern das Merkmal Ährenschieben. Sie berechnete einen Regressionskoeffizienten von $b=0,50$ zwischen verklonten Einzelpflanzen aus Sorten des Deutschen Weidelgrases, die frei abgeblüht und anschließend verklont worden waren, und deren Halbgeschwisternachkommen im selben Jahr. Dieses Ergebnis ähnelt den in dieser Arbeit an ingezüchteten Einzelpflanzen von *L. multiflorum* und Vollgeschwistern vorgestellten Ergebnissen. So schätzte Elgersma (1990c) für die Ährenlänge einen Regressionskoeffizienten von ähnlicher Größe ($b=0,44$), wie er hier für *L. multiflorum* ($b=0,52$) berechnet wurde. Während in den eigenen Versuchen eine sehr geringe Heritabilität für das Merkmal Fahnenblattlänge geschätzt wurde, war sie bei Elgersma sehr hoch ($b=0,92$), so dass sie dieses Merkmal als für den Zuchtprozess geeignetes Selektionskriterium bewertete. Die Fahnenblattlänge ist bei der Sortenzulassung auch eines der Registermerkmale. Aastveit und Aastveit (1990) fanden hohe Regressionskoeffizienten für die Merkmale Trockenmasse und Frühzeitigkeit zwischen elterlichen Klonen und Halbgeschwisternachkommen bei *Festuca pratensis*. Letzterer war bei Elgersma (1990c) bei *L. perenne* auch sehr hoch. Für die Fahnenblattbreite war die Heritabilität mit $b=0,54$ bei Elgersma (1990c) etwa doppelt so hoch wie in diesen Versuchen. Wofford und Baltensperger (1985) ermittelten für das selbe Merkmal eine Regression von $b=0,35$ in *Cynodon dactylon*. Für das Merkmal Wuchshöhe wurden in dieser Arbeit an beiden Orten geringe Heritabilitäten geschätzt. Elgersma (1990c) erhielt einen Regressionskoeffizienten von $b=0,58$. In dieser Arbeit wurden sehr geringe Regressionen für den Umfang ermittelt ($b=0,097$ bzw. $b=0,078$), die Regression für dasselbe Merkmal war bei Elgersma (1990c) gleich Null ($b=0,00$). Die Umfangsmessung kann in diesem Versuch mit Fehlern behaftet gewesen sein, weil die Umfänge einiger

Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases im Jahr 2000 von zwei verschiedenen Personen gemessen wurden. Die Umfangsmessung hängt von der Stärke des Zusammenziehens des Maßbandes ab. Dabei können leicht Blätter zerquetscht oder bei flacher Wuchsform nicht fest genug angezogen werden.

5.2 Inzucht und Heterosis

Lolium multiflorum gehört zu den windbestäubten Gräsern mit einem sehr hohen Anteil an Fremdbestäubung. Da Selbstung Inzuchtdepression zur Folge hat, werden entsprechend verringerte Leistungen erwartet. Dies konnte in der vorliegenden Arbeit nicht für alle Merkmale beobachtet werden. Die Stärke der Inzuchtdepression wurde in diesen Versuchen im Vergleich zu ‚Ligrande‘ gemessen und war von Wiederholung zu Wiederholung unterschiedlich. Während in Hohenthurm die Inzuchtlinien (Klone) dem Standard ‚Ligrande‘ bei der Wuchsform, der Wuchshöhe und dem Umfang in einer Wiederholung überlegen waren, waren sie in der anderen Wiederholung dem Standard ‚Ligrande‘ geringfügig unterlegen (Tab. 21). Für das Kühnfeld wurde für die Wuchshöhe 10% Inzuchtdepression festgestellt, für Umfang und Bestockung waren es etwa 25%. Fahnenblattlänge, Fahnenblattbreite und Ährenlänge zeigten eine Inzuchtdepression zwischen 27 und 13% gegenüber ‚Ligrande‘. Die Angaben verschiedener Autoren zur Höhe der Inzuchtdepression für Ertrag sind unterschiedlich. So fand Kobabe (1982) nach Isolierung von Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases in einem Versuch 96%, in einem anderen Versuch 78% der Leistungen dieser Linien im Vergleich zur Sorte ‚Lema‘. Matzk (1974) dagegen fand eine Inzuchtlinienleistung von diploiden *L. multiflorum*-Linien von 45-68% gegenüber den Ausgangsstämmen und -sorten. Bei Wexelsen (1952) äußerte sich Inzuchtdepression in einem verringertem Ertrag, dauerndem Verharren in der vegetativen Phase, geringerem Samenansatz, geringerer Pflanzhöhe, geringerer Halmzahl und Halmstärke, verspäteter Reifezeit, verringerter Winterhärte, reduzierter Blattspreite, Chlorophylldefekten und Zwergformen. Hayman and Richter (1992) fanden bei *Phalaris* nach Inzucht nicht-stäubende Antheren und subvitalen bis toten Pollen. Die Keimrate lag bei *L. perenne* nach Jones und Jenabzadeh (1981) bei 45%, davon überlebten nur 37% das Sämlingsstadium. Ertragsleistungen des Welschen Weidelgrases von 60% gegenüber den Eltern werden bei Simonsen (1976) genannt. Selbstungsnachkommenschaften von Eickmeyer (1994) erreichten Parzellenerträge von 60% im Vergleich zu Standardsorten. Utz und Oettler (1978) verglichen die Leistung von bis zu sieben mal nach einer Selbstung (S_7) angebauten Linien des Deutschen Weidelgrases mit der

Sorte ‚Odengrün‘ und fanden relative Trockenmasseerträge zwischen 37 und 85%. Breese (1966) dagegen hatte Schwierigkeiten, ein Inzuchtminimum für den Ertrag festzulegen, da seine Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases selten die zweite bis dritte Selbstungsgeneration überstanden. Charles (1966) stellte Probleme bei der Vermehrung von Inzuchtlinien unter Feldbedingungen fest, wo 90% der Keimlinge nicht überlebten. Bullitta et al. (1993) beschreiben die Inzuchtdepression der ersten Selbstungsnachkommenschaft von nicht ingezüchteten *L. rigidum*-Pflanzen mit 73% für die Anzahl der Ähren, 63% für die Fahnblattfläche und 56% für den Trockenmasseertrag. Olesen et al. (1988) schlagen vor, das Inzuchtminimum aus Antherenkultur-abgeleiteten Pflanzen zu schätzen, beschreiben aber auch das Problem, dass sich nicht alle erwünschten Genotypen in der Antherenkultur regenerieren, so dass eine Bestimmung des Ertragminimums nur mit eingeschränktem und vorselektiertem Material möglich ist. Auch an Mais ist von Hallauer und Sears (1973) und Cornelius und Dudley (1974) starke Inzuchtdepression in frühen Selbstungsgenerationen beobachtet worden. Wricke (1984) fand eine lineare Beziehung zwischen Inzuchtdepression und Ertrag beim Roggen. Für Selbstungsnachkommen und einen Inzuchtkoeffizient von 0,5 waren die Kornerträge beim Roggen um 35% gegenüber der Ausgangspopulation reduziert. Gertz (1989) bestätigte dies experimentell beim Roggen.

Heterosis ist die Überlegenheit einer Kreuzung gegenüber den Eltern. Über das Kreuzen von Pflanzen, die unterschiedlichen Abstammungen angehören, lässt sich der Heterozygotiegrad gegenüber einer Population im Gleichgewicht, erhöhen (Wricke und Weber 1986). Verschiedene Autoren haben beträchtliche Unterschiede in der Ausprägung von Heterosis in *L. multiflorum* festgestellt. Kobabe (1982) erstellte Inzuchtlinien von Welschem Weidelgras und seine F₁-Hybriden erreichten Leistungen von -31 bis +31% der Elternlinien. Er zog daraus den Schluss, dass der Genpool der *L. multiflorum* ssp. *italicum* genetisch zu eng ist, um beachtlichen Hybridwuchs zu erzeugen. Im Gegensatz dazu beobachtete Eickmeyer (1994), daß die realisierten Heterosiswerte die im Mittel erwartete Leistung von Hybriden zweier ingezüchteter Pflanzen trotz geringer Auskreuzungsraten bei weitem übertrafen. Posselt (1993) nutzte die Selbstinkompatibilität für die Herstellung von Testhybriden beim Deutschen Weidelgras und stellte nur geringe Heterosis fest. Er hatte die Eltern nicht auf Fremdbestäubung überprüft und keine Auskreuzungsraten erfasst. Andere Autoren haben versucht, über die Erstellung von Chance-Hybriden die Heterosis zu erhöhen. Für ihre Erstellung muss das Saatgut von zwei Hybridkomponenten (Eltern) im Mischungsverhältnis 1:1 ausgebracht werden. Das von einem solchen Samenträgerbestand geerntete Saatgut

besteht zu 50% aus Hybridsamen (Bertling et al. 1994), wobei erwartet wird, daß die wüchsigeren Hybriden im Nutzungsbestand die Nachkommen ihrer beiden Eltern mehr oder weniger rasch verdrängen (Forster 1971a). Stelling (1995) beobachtete beim Welschen Weidelgras eine höhere Heterosis bei Chance-Hybriden mit Inzuchtlinien als Elternkomponenten als bei Chance-Hybriden mit Sorten als Elternkomponenten. In der vorliegenden Arbeit wurde die Heterosis an F_1 -Pflanzen von Kreuzungen und an Topcross-Nachkommen ermittelt. Die Topcross-Nachkommen waren in allen Einzelpflanzenmerkmalen den Inzuchtlinien überlegen, wobei in Abhängigkeit vom Merkmal und Jahrgang Mehrleistungen von 7,5% (Bestockung der Topcross-Nachkommen 2000) bis 106% (Umfang der 99-er Topcross-Nachkommen 2001) erbracht wurden. Bei den Kreuzungen hingegen waren die mittleren Mehrleistungsunterschiede über beide Orte (Tabelle 24) nicht für alle Merkmale positiv. Die Leistungen der Kreuzungen waren geringer als die der Inzuchtlinien für die Merkmale Bestockung, Umfang und Wuchsform. Für Fahnenblattlänge, Fahnenblattbreite, Ährenlänge wurden gut 120% vom Elternmittel erreicht. Bei der Wuchshöhe waren es 200%. Forster (1971b) erstellte diallele Kreuzungen mit 6 *L. perenne* Sorten und beobachtete, dass die F_1 im Einzelpflanzenbeet beim Grünmasseertrag den Eltern um 15% überlegen waren. Als er aber das selbe Material in Parzellen testete, betrug die Mehrleistung lediglich 2,6%. Thomson et al. (1973) verglichen die Trockenmasse von Diallelkreuzungen aus fünf ingezüchteten Klonen und fanden eine Überlegenheit der F_1 von 16% gegenüber den Selbstungsnachkommen.

5.3 Populationstypen

5.3.1 Kreuzungen

Um eine hohe Selektionsintensität zu erzielen, sollen synthetische Sorten aus möglichst wenigen Komponenten zusammengesetzt werden (Becker 1993). Die meisten 2-Komponenten Synthetiks waren Kreuzungen, die mit wenigen Ähren zweier ingezüchteter Einzelpflanzen erstellt worden waren. Bei ihnen trat in der Syn-2 verstärkt Inzuchtdepression auf. Die Ganzpflanzenkreuzungen erzielten höhere Leistungen als die Ährenkreuzungen. Unterschiede können einmal durch unterschiedliche Leistungen der nicht-ingezüchteten Standards in den unterschiedlichen Jahren hervorgerufen worden sein. Abhilfe hätten die gleichzeitige Prüfung von zwei weiteren leistungsstarken Standard-Sorten schaffen können, wie dies auch das Bundessortenamt durchführt. Die Entstehung der Kreuzungen war ebenfalls anhand unterschiedlicher Kriterien erfolgt. Während die Ährenkreuzungen aus fünf Ähren zufällig ausgewählter Pflanzen unterschiedlicher Abstammungen hervorgegangen waren,

erfolgte die Auswahl der Eltern für die Ganzpflanzenkreuzungen aufgrund überdurchschnittlicher Einzelpflanzenleistungen (Pflanzenumfang und Wuchshöhe). Es waren bei Ganzpflanzenkreuzungen neben sechs guten auch zwei leistungsschwache Kreuzungen zusammengestellt worden. Während bei der einen Kreuzung von zwei Klonen nur sechs Ähren anfielen, die auch noch taub waren, war der Aufgang der zweiten leistungsschwachen Kreuzung zu gering und wurde ebenfalls nicht zwischenvermehrt. Die Samen, die von den Ganzpflanzen geerntet wurden, waren vermutlich besser ausgereift als die der Ährenkreuzungen, es wurde aber kein TKG erfasst. Ebenfalls nicht erfasst wurde der Keimaufgang oder die Qualität der Keimlinge. Insgesamt fielen bei den Ganzpflanzenkreuzungen erheblich mehr Ähren und damit auch Samen an, so dass theoretisch die Auswahl an Keimlingen größer war. Beim Pikieren werden unbewusst bei ausreichendem Aufgang meistens die am kräftigsten aussehenden Keimlinge weiter geführt, d.h., es wird auf Vitalität selektiert. Dies erlaubt aber keine Aussage über ein Verhalten in der nachfolgenden Generation. Die Ganzpflanzenkreuzungen wurden nicht mit Isoenzymen überprüft, so dass eine Fremdeinstäubung nicht ausgeschlossen werden kann.

5.3.2 Synthetische Sorten

In dieser Arbeit wurden Synthetiks mit 2-, 4-, 5- und 7-Komponenten untersucht, die bis auf den 7-Komponenten Synthetik alle in der Syn-2 geprüft wurden. Die Rangfolge nach absteigender Leistung sortiert lautete: 4-Komponenten Synthetiks, 5-Komponenten Synthetiks, 7-Komponenten Synthetik (Syn-1), 2-Komponenten Synthetiks (Ganzpflanzenkreuzung), 2-Komponenten Synthetiks (Ährenkreuzung). Laut Gilmore (1969) ist bei der Verwendung von heterozygoten Pflanzen (Klone, Einfachhybriden) als Eltern die im Synthetik vorhandene Inzucht nur halb so groß wie bei der gleichen Anzahl homozygoter Eltern. Auch Hill (1971), Gallais (1974) und Scheller (1982) zeigten, dass mit steigender Anzahl an Eltern die mittlere Leistung von Synthetiks zunimmt. Wird die Anzahl der elterlichen Komponenten zu groß, unterscheidet sich die Bewertung und Selektion der Eltern nicht mehr von den anderen populationsverbessernden Methoden (Wricke und Weber 1986). Die optimale Anzahl an Eltern bei Mais wird von Kinman und Sprague (1945) mit 4 - 6 Inzuchtlinien, im Roggen mit 3 – 8 Inzuchtlinien (Wricke und Weber 1978) und beim Deutschem Weidelgras mit 4 Klonen (Breese und Lewis 1960) beschrieben. Beim Welschen Weidelgras (diese Arbeit) wurden wie bei Breese und Lewis (1960) die höchsten Leistungen mit den 4-Komponenten Synthetiks erzielt.

Als weitere Ursache für die Leistungsunterschiede der Synthetiks kommt die Prüfgeneration in Frage. Wegen der Selbstinkompatibilität wird erwartet, dass die Leistung in der Syn-1 über der Leistung der weiteren Syn-Generationen liegt. Während in der Syn-1 bei nicht-verwandten Komponenten keine Inzucht zu erwarten ist, beträgt diese bei n Komponenten in weiteren Generationen $1/(2n)$ (Wricke und Weber 1986). In dieser Arbeit wurde nur der 7-Komponenten Synthetik in der Syn-1 geprüft, bei den anderen Synthetiks diente die F_1 bzw. Syn-1 der Saatgutgewinnung. Der Umfang von nur einem in der Syn-1 geprüften Synthetik ist zu gering, um eine generelle Einschätzung der Leistung zu erlauben. Scheller (1982) erstellte für Lieschgras, Knaulgras und Luzerne 2-Komponenten Synthetiks aus den jeweils leistungsstärksten Klonen, die er aufgrund von Topcross-Ergebnissen ausgewählt hatte. In seine Mehrkomponenten Synthetiks flossen auch weniger leistungsstarke Klone ein. Während die 2-Klon Synthetiks in der Syn-1 den Mehrkomponenten Synthetiks deutlich überlegen waren, stellte Scheller in der Syn-2 einen starken Leistungsabfall fest. Dieser fiel erheblich höher aus als bei den Mehrkomponenten Synthetiks. Schellers 2-Komponenten Synthetik vom Lieschgras erreichte 89% der Leistung der Syn-1 und war damit von ähnlicher Höhe, wie die Ergebnisse der Syn-2-en der Ganzpflanzenkreuzungen dieser Arbeit, die 91% im Vergleich zum Standard betrug. Allerdings waren die Ganzpflanzenkreuzungen aus ingezüchteten Einzelpflanzen erstellt worden und Scheller hatte heterozygote Klone verwendet. Andere Autoren machten gegensätzliche Beobachtungen. Reheul et al. (2003a) stellten beim Vergleich von 20 synthetische Sorten, die aus 3 bis 11 Klonen bestanden und die sowohl in der Syn-1 als auch in der Syn-2 über mehrere Jahre und mehrere Orte (Großbritannien, Deutschland, Holland, Belgien) geprüft wurden, fest, dass signifikante Unterschiede weder bei diploiden noch bei tetraploiden Synthetiks, auftraten. Während die Trockenmasse der diploiden Synthetiks in der Syn-1 durchschnittlich 2% höher war als in der Syn-2, waren die Trockenmasseerträge von tetraploiden Synthetiks der Syn-2 1% höher als die der Syn-1.

5.4 Kronenrostresistenz

Für dieses Merkmal ist ‚Resistenz‘ mit Toleranz gleichzusetzen, da das Wort ‚Resistenz‘ verwendet wird, um den Kontrast zu ‚anfällig‘ klarer hervorzuheben. Es bedeutet, dass Pflanzen nur bedingt mit Kronenrost befallen werden.

Die Vererbung von Resistenz gegenüber Kronenrost ist in der Literatur uneinheitlich beschrieben. In der *L. perenne*-Kartierungspopulation von Muylle et al. (2003) wurden mittels QTL-Analysen mehrere Majorgene für Resistenz gefunden, die von Minorgenen beeinflusst

werden. Lellbach und Wehling (2000) kreuzten Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases und erhielten resistente F₁-en, mit denen anschließend F₂- und BC₁-Nachkommen erzeugt wurden. Sie stellten fest, dass Kronenrostresistenz von zwei Genen gesteuert wird, die von Minorgenen modifiziert werden. Wilkins (1975) untersuchte eine Sorte des Welschen Weidelgrases mit einem Einsporisolat, um die unterschiedlichen Abstufungen der Resistenz aufzudecken. Aufgrund seiner Ergebnisse zog er den Schluss, dass viele Gene an der Ausprägung der Resistenz beteiligt waren. Er konnte aber weder Dominanz noch Epistasie nachweisen und fand auch keine Hinweise auf eine mütterliche Vererbung, wie sie Adams et al. (2000) in Welschem Weidelgras beobachteten. Auch Hayward (1977) konnte keine konkreten Spaltungsklassen aufzeigen.

Für die Bewertung des Rostbefalls sind sowohl künstliche als auch natürliche Infektionsmethoden auf dem Feld für Welsches und Deutsches Weidelgras (Wilkins 1978a und b, Clarke et al. 1997) beschrieben worden. Sie alle verfolgen das Ziel, Zuchtstämme bereits im Zuchtstadium allen Rostisolaten auszusetzen, mit denen eine spätere Sorte in Kontakt kommen kann. Dies ist möglich, wenn die Zuchtstämme in den späteren Anbauregionen oder mit künstlicher Infektion und entsprechend großem Umfang an Rostisolaten getestet werden (Potter et al. 1990). Der Vorteil künstlicher Infektionsmethoden ist, dass Rosttests das ganze Jahr über durchgeführt werden können. Außerdem ist man unabhängig von klimatischen Bedingungen, die eine natürliche Rostinfektion auf dem Feld behindern können. Dadurch sind eine bessere Kontrolle und eine akkurate Einschätzung des Krankheitsbefalls möglich (Griffith und Jones 1987). Dabei kann die Effizienz einer künstlichen Infektion aber durch die Genotyp x Umwelt-Interaktion, das Alter des Testmaterials und die Organspezifität reduziert werden (Fried und Meister 1987, Geiger und Heun 1989, Reheul und Ghesquiere 1996). So stellten Roderick et al. (2000) bei ihren Labortests beispielsweise fest, dass Sorten des Deutschen Weidelgrases bei 10°C weniger anfällig gegenüber Kronenrost waren als bei 25°C. Mehrere Arbeitsgruppen verglichen Feld- mit den Laborergebnissen. Jonnson et al. (1998) gelang es, die Kronenrostresistenz in tetraploidem Deutschem Weidelgras nach drei Zyklen rekurrenter Selektion unter Laborbedingungen zu erhöhen und die Ergebnisse mit Feldtests zu bestätigen. Reheul und Ghesquiere (1996) stellten gute Korrelationen zwischen künstlichen Infektionen und Feldinfektionen beim Welschen Weidelgras fest, beim Deutschen Weidelgras hingegen waren die Korrelationen weniger gut. Lellbach (2003) beobachtete für beide Weidelgras-Arten sehr hohe Übereinstimmungen von Feld- und Labortests. Während die Laborergebnisse bei den Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases (diese Arbeit) deutliche und reproduzierbare Unterschiede in der Anfälligkeit lieferten, war dies weder mit den

Inzuchtlinien noch mit der Kartierungspopulation des Deutschen Weidelgrases möglich. Hier unterschieden sich die Wiederholungen der einzelnen Genotypen und auch die Vergleichsorte war nicht in allen Wiederholungen gleich anfällig, so dass von einem methodischen Problem auszugehen ist. Außerdem wurden im Winter im Gewächshaus an einzelnen Pflanzen der Kartierungspopulation Kronenrostpusteln gefunden, die im Labor als resistent eingestuft worden waren. Dies weist ebenfalls darauf hin, dass die Ergebnisse des Blattstückentests für das Deutsche Weidelgras anzuzweifeln sind. Um die Kartierungspopulation auch unter natürlichen Bedingungen auf Rost zu testen, wurden Klone in Halle (Kühnfeld) und in Asendorf, das als relativ rostsicher gilt, ausgepflanzt. Die Trockenperiode des Jahres 2003 (Lindhoff 2003) führte an beiden Orten zu keiner Infektion, so dass die Laborergebnisse nicht mit Felddaten verglichen werden konnten. Im Jahr 2002 waren bereits dieselben Erfahrungen für die Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases und der Kartierungspopulation auf dem Versuchsfeld in Gatersleben gemacht worden: es konnten keine Infektionen mit Kronenrost beobachtet werden. Folglich ist diese Anbauregion im Regenschatten des Harzes (durchschnittliche Jahresniederschläge von 450 mm) für eine Selektion auf kronenrostresistente Pflanzen bei *Lolium* nicht geeignet.

5.5 Molekulare Marker

5.5.1 Erfassung der Variabilität zwischen Sorten und Abstammungen

Anhand der hier mit AFLPs und Mikrosatelliten erzielten Ergebnisse konnte gezeigt werden, dass bei den Inzuchtlinien des Deutschen und des Welschen Weidelgrases die Variation zwischen den Inzuchtlinien erheblich größer war als innerhalb von Inzuchtlinien (Abb. 5, 6 und 10). Im Gegensatz zu den Inzuchtlinien waren die Einzelpflanzen der fünf Sorten zu einander wenig ähnlich (Abb. 7).

Mittels AFLPs konnten die beiden Gattungen *L. perenne* und *L. multiflorum* deutlich unterschieden werden (Abb. 9). Auch bei Cresswell et al. (2001) bildeten in portugiesischem, mit AFLPs analysiertem Sammlungsmaterial Genotypen von *L. perenne* eine separate Gruppe, die sich von den übrigen beiden Gruppen deutlich unterschied, wobei *Lolium x hybridum* zwei Gruppen bildete und sich eine Gruppe davon mit *L. multiflorum* überschneidet. In dieser Arbeit wurde auf der Basis molekularer Marker festgestellt, dass der Genpool von *L. multiflorum* für die Züchtung neuer Sorten noch nicht ausgeschöpft ist, besonders wenn Genbankakzessionen zum Einkreuzen in Sorten/Zuchtmaterial verwendet werden (Abb. 9). Allerdings steht eine Evaluierung der in Genbankmaterial vorhandenen und für den Züchter

interessanten Merkmale, die über rekurrente Selektion über 5 bis 6 Jahre in leistungsstarkes Material eingekreuzt werden können, noch weitgehend aus. Diploide Sorten und tetraploide Sorten bildeten molekular keine separaten Gruppen. Dies ist nicht überraschend, weil die tetraploiden Sorten aus kolchiziniertem diploidem Material entstanden sind, also einen diploiden Chromosomensatz nur in doppelter Ausführung enthalten. Die Genbankakzessionen waren dem übrigen Untersuchungsmaterial des Welschen Weidelgrases unähnlicher. Ein Großteil dieses Materials stammte von einer Sammlungsreise in Galizien, so dass eine geographische Unterscheidung auch genetisch vorhanden zu sein scheint. Skot et al. (2002) untersuchten 58 Populationen des Deutschen Weidelgrases mit AFLPs. Es gelang ihnen, räumliche Unterschiede auch genetisch zwischen Populationen zu finden. So gruppierte das bulgarische Material nicht mit dem pan-europäischen Material und Gilliland et al. (2000) und Roldan-Ruiz (2000b) beobachteten, dass Sorten, die aus einem Genpool entwickelt worden waren, größere Ähnlichkeiten aufwiesen. Roldan-Ruiz et al. (2000a) konnten mit AFLPs zwar Sorten von *L. perenne*, nicht aber Genotypen aus zwei weiteren *L. perenne*-Genpools unterscheiden. Während der eine Genpool (VdH) aus tetraploiden Futter- und diploiden Rasengräsern bestand, beinhaltete der andere Genpool (DvP) diploide Futtertypen. Cresswell et al. (2001) analysierten bei *Lolium* 765 polymorphe AFLP-Banden und fanden keine Bande, die populationspezifisch war. Guthridge et al. (2001) kamen bei *L. perenne*-Sorten erst zu übereinstimmenden Ergebnissen mit den Pedigree-Vorhersagen, nachdem sie die Einzelpflanzen zu Bulks je Sorte zusammengestellt und erneut mit AFLPs analysiert hatten. Yamada und Kishida (2003) untersuchten zwei *L. perenne*-, drei *Festuca pratensis*- und eine *F. arundinacea*-Akzession(en) mit heterologen RFLP-Markern, die sie aus Reis cDNAs entwickelt hatten. Die Analysen wurden an 25 Einzelpflanzen je Population durchgeführt. Sie publizierten aber keine Ergebnisse auf der Basis von Einzelpflanzen, sondern stellten einen phylogenetischen Baum anhand von Fragmentfrequenzen dar. In dieser Arbeit wurden fünf Sorten von *L. multiflorum* mit 31 Mikrosatelliten untersucht. Dabei waren die zwei französischen Sorten ‚Fastyl‘ und ‚Rustyl‘ einander am ähnlichsten (Abb. 7). Zunächst trat eine Bande nur in Einzelpflanzen der rostresistenten Inzuchtlinie 1063 auf. Als aber diese Linie mit den heterozygoten, mit Mikrosatelliten charakterisierten Pflanzen der Abstammung ‚Fastyl‘ und Einzelpflanzen der französischen Sorte ‚Rustyl‘ verglichen wurde, war dieses Fragment in beiden Abstammungen bei einigen Pflanzen vorhanden und somit nicht sorten- bzw. regionen-spezifisch. Deshalb wurde geprüft, ob Frequenzunterschiede von Fragmenten innerhalb einer Sorte auftraten. In der Tat wurden nur drei Fragmente benötigt, um die fünf Sorten unterscheiden zu können (Abb. 8).

5.5.2 Vergleichende Untersuchungen zwischen Mikrosatelliten- und AFLP-Markern

Mit Mikrosatelliten und AFLPs wurden zunächst Verwandtschaftsverhältnisse an Inzuchtlinien unterschiedlicher *Lolium multiflorum*-Herkünfte untersucht und beide Markersysteme verglichen. Dabei konnte mittels Mantel-Korrelation gezeigt werden, dass die an Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases erzielten AFLP- und Mikrosatelliten-Ergebnisse gut übereinstimmen (Abb. 10), so dass die Vermutung nahe liegt, dass ähnliche genetische Informationen gesammelt wurden. Diese Ergebnisse stimmen nicht mit Beobachtungen von Roldan-Ruiz et al. (2001) überein, die zugelassene Sorten des Deutschen Weidelgrases u.a. mit AFLP- und sechs intronbasierten STS-Markern charakterisierten und die Markersysteme miteinander verglichen. Sie konnten nur einen schwachen Zusammenhang ($r=0,42$) feststellen. Dies kann zum einen auf das unterschiedliche Material zurückzuführen sein (Sorten vs. Inzuchtlinien) - bei einer Inzuchtlinie dürfen nur die Allele des Elters auftreten, bei den heterogenen und interfertilen Sorten des Deutschen und Welschen Weidelgrases ist die Variabilität höher – zum anderen hätte eine größere Anzahl an STS-Markern zu einer besseren Übereinstimmung der molekularen Ergebnisse bei den Populationssorten führen können. Ähnliche Beobachtungen wie die hier vorgestellten konnten hingegen von Maguire et al. (2002) bei vergleichenden genetischen Diversitätsanalysen mit AFLPs und Mikrosatelliten in fremdbefruchtenden Mangroven (*Avicennia marina*) gemacht werden. Sie stellten fest, dass trotz des geringeren Heterozygotiegrades das Auffinden polymorpher Loci mittels AFLPs effizienter war als mittels Mikrosatelliten. Dafür konnten mit Mikrosatelliten genetische Unterschiede zwischen Populationen und Arten besser aufgedeckt werden. Der von ihnen durchgeführte Mantel-Test bestätigte die Kongruenz genetischer Distanzen zwischen, aber nicht innerhalb von Populationen, was konform zu den Ergebnissen dieser Studie ist. Maguire et al. (2002) zogen daraus den Schluss, dass die Marker unabhängig spalten, die abstammungsgeschichtlichen Gruppen aber ähnlich gewesen sein müssen.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass sowohl AFLPs als auch Mikrosatelliten oder die Kombination beider Markersysteme eingesetzt werden können. Dabei sind AFLPs besser zur Identifizierung von Duplikaten in Sammlungsmaterial geeignet, da in einem einzelnen PCR-Ansatz viele Loci gleichzeitig aufgedeckt werden können. Kodominante Mikrosatelliten hingegen sind für Untersuchungen auf Populationsebene besser geeignet, wie z.B. für die Auswahl von Kreuzungseltern.

5.5.3 Übertragbarkeit von molekularen Markern zwischen Gattungen und Arten

In dieser Arbeit wurde unter anderem die Übertragbarkeit von genomischen Weizenmikrosatelliten (Tab. 39), EST-abgeleiteten Gerstenmikrosatelliten (Tab. 40) und Gersten-SNPs (Tab. 41) auf *Lolium* untersucht. Es musste festgestellt werden, dass dies nur sehr eingeschränkt möglich war. So wurde bei den Mikrosatelliten Produkte überhaupt nur nach zum Teil stark veränderten PCR-Profilen erhalten. Vor allem bei den von EST-abgeleiteten Gerstenmikrosatelliten hatte dies multiple Bandenmuster und Schmier zur Folge. Um sicher zu sein, dass in dieser Arbeit die richtigen Fragmente aus den anderen Kulturarten eingeschätzt wurden, hätten Fragmente kloniert und sequenziert werden müssen, wie dies Taylor et al. (2001) taten, als sie STS-Marker aus der Gerste und *Triticum tauschii* auch auf *Lolium* übertrugen. Andere Autoren, wie Erpelding et al. (1996), Talbert et al. (1996), Mano et al. (1999) und Jones et al. (2002a) hatten ebenfalls Probleme, molekulare Marker auf andere Kulturarten zu übertragen. Bei Taylor et al. (2001) amplifizierten STS-Primerkombinationen aus kodierenden Sequenzen erfolgreicher Fragmente (58%) als STS-Primer, die von genomischen DNA-Sequenzen abgeleitet worden waren (44%).

Die in dieser Arbeit entwickelten Mikrosatelliten (OKssr) wurden vor allem zum Screenen von Gräser-Arten eingesetzt. EST-abgeleitete, spezifische *Lolium*-Mikrosatelliten-Primerpaare amplifizierten klare Fragmente im Gegensatz zu den Mikrosatelliten-Primerpaaren aus den anderen Kulturarten (Gerste, Weizen; alle mit dem selben PCR-Programm; Tab. 38). In *L. perenne* und *L. multiflorum* waren viele Produkte monomorph und unterschieden sich nicht. Bei polymorphen Markern hatten beide *Lolium*-Arten neben der differenzierenden Bande häufig ein Fragment, das übereinstimmte (Beispiele von OKssrs: 03, 06, 07, 08) und auch die amplifizierten Produkte in Gerste und Hafer waren meistens von derselben Größe (z.B. OKssr: 08, 19, 27, 29, 33, 35, 36, 42, 43, 46, 60). Dies kann ein Hinweis darauf sein, dass zumindest diese Sequenzen aus Regionen der Genome stammten, die hoch konserviert sind und keine/nur geringe Sequenz-Variationen erlauben. Sie können aber auch ein Hinweis darauf sein, dass nur geringe funktionelle Diversität zwischen den Arten besteht. Cordeiro et al. (2001) beobachteten ebenfalls, dass sich EST-abgeleitete Mikrosatelliten von Zuckerrohr in näher verwandte Arten besser übertragen lassen als in nicht-verwandte Arten, wie dies auch von Wein (Scott et al. 2000) und von Reis (Cho et al. 2000) berichtet wird. Allerdings bedeutet das Fehlen von Amplifikationsprodukten nicht zwangsläufig, dass komplementäre Regionen (Sequenzen) nicht vorhanden sind; geringe Abweichungen in der Primerbindungssequenz können aufgrund von mangelnder Anlagerung bereits eines der beiden Primer zu Ausfällen führen.

In dieser Arbeit wurde bei Hafer bei 53% der *Lolium*-spezifischen Mikrosatelliten Produkte amplifiziert, bei der Gerstensorte ‚Barke‘ waren es 48%. Beide Gattungen gehören der Unterfamilie der Pooideae an. Während *Hordeum* aber dem Stamm Triticeae zugehört, ist *Avena* taxonomisch dem selben Stamm wie *Lolium* zugeordnet, nämlich Poeae, so dass dies durch nähere Verwandtschaft, eine etwas bessere Übertragbarkeit dieser OKssrs auf Hafer erklären könnte und Unterschiede im Genom von *Avena* und *Lolium* erst nach der Divergenz von den Poodae entstanden sein dürften. Andererseits widersprechen diese Aussagen denen von Jones et al. (2002a), die größere Homologien zwischen den Kopplungsgruppen von Triticeae (80% Syntänie) und von *Lolium* feststellten als mit denen von Hafer (50%). In dieser Arbeit wurde beobachtet, dass innerhalb der Gattung *Lolium* entweder in beiden Arten (*L. perenne*, *L. multiflorum*) oder in keiner Art Fragmente amplifiziert wurden (=100% Übertragbarkeit). Thiel et al. (2003) stellten dagegen fest, dass nur 80% der EST-abgeleiteten Mikrosatelliten von *Hordeum vulgare* auch in *H. bulbosum* Fragmente amplifizierten. Diese Unterschiede können auf unterschiedliche Befruchtungsbiologie zurückgeführt werden. Während *L. multiflorum* und *L. perenne* fremdbefruchtend und miteinander kompatibel sind, sind *H. vulgare* und *H. bulbosum* dagegen Selbstbefruchter.

5.6 Assoziation zwischen molekularen Markern und Merkmalen

Assoziationen zwischen molekularen Markern und Merkmalen wurden in dieser Arbeit bei Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases (Tab. 36) und des Deutschen Weidelgrases (Tab. 37) durchgeführt. Bei Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases unterschieden sich 1214 AFLP-Fragmente in ihrer Frequenz signifikant zwischen und innerhalb der Gruppen. Dies weist darauf hin, dass große genetische Unterschiede zwischen den Gruppen existieren. Es waren in Abhängigkeit vom Merkmal aber nur wenige Fragmente vorhanden, bei denen evtl. eine Assoziation zwischen Marker und Merkmal bestehen könnte. Würden weitere SSRs oder AFLP-Primerkombinationen geprüft, würde zwar die Anzahl der möglichen Assoziationen ansteigen, andererseits aber auch das Auftreten falsch positiver Assoziationen. Skot et al. (2002) kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Sie führten Assoziationsstudien mit AFLPs und Frosttoleranz an *L. perenne* mit pan-europäischen Herkünften und Eltern potentieller Kartierungspopulationen von IGER durch. Bei 156 Fragmenten wurden signifikante Frequenzunterschiede für Kältetoleranz identifiziert. Um tatsächliche Assoziationen zu finden, schränkten sie ihre Kriterien weiter ein: sowohl die maximale geographische Distanz der Herkünfte als auch die Höhenlage mussten mit dem Fragment korreliert sein. Es blieben

nur drei Marker übrig, die diese Kriterien erfüllten. In dieser Arbeit wurden Merkmale und Fragmente nur als assoziiert bewertet, wenn die Mittelwerte der beiden Gruppen weit auseinander lagen. Die Frage bleibt bestehen, bis zu welchem Umfang diese Fragmente eine Bedeutung als Indikator für die Merkmale besitzen. Für die hier untersuchten Merkmale wurden Schwellen gewählt, die es einem geübten Züchter ermöglichen sollten, beim ‚Vorbeigehen‘ an einem Bestand den Unterschied zu erfassen. Die Grenzen sind aber nicht immer sehr hoch (z.B. bei der Blattfarbe eine Note Differenz), so dass sie bei extremen Witterungsbedingungen verwischen können. Zur Verbesserung der Aussagefähigkeit dieser Ergebnisse können nur Untersuchungen in einem noch größerem als dem hier vorgestellten Materialumfang (z.B. 84 Sorten) beitragen (Anhang Tab. I). Merkmale, die eine alternative Antwort zulassen (resistent/anfällig), sind als günstig einzuschätzen. Im Gegensatz dazu sind Merkmale, die in mehreren Abstufungen vorkommen und zum Teil auch von Bedeutung sind (z.B. Blattfarbe hell-mittel-dunkel, Wuchshöhe hoch-mittel-niedrig), schwierig mit nur einem Fragment zu erfassen. Bei Kopplungen von kodominanten Markern mit einem Resistenzgen können die Nachkommenschaften eines rekurrenten Elters mit dem Marker auf Anwesenheit oder Abwesenheit dieses Gens getestet werden. Dadurch lässt sich die Anzahl der Generationen reduzieren, die benötigt wird, um Resistenzgene in eine synthetische Sorte einzulagern, und ebenso die Anzahl der zu testenden Individuen pro Generation. Dies ist abhängig vom Spaltungsverhältnis und der Zustandsform (heterozygot oder homozygot) des Marker in den Nachkommen (Tanksley et al. 1981). Gene, die Merkmale wie Ertrag oder Resistenzen beeinflussen, sind auch mit Hilfe genetischer Karten im Weizen lokalisiert worden (Anderson et al. 1992). Bei anderen Kulturarten konnte nachgewiesen werden, dass diverse Arten funktionelle homologe Regionen von Resistenzgenen besitzen (Dangl et al. 1992, Bush und Wise 1998). Simons (1985) stellte Marker für Gene zusammen, die für eine Resistenzausprägung gegenüber *P. coronata* f. sp. *avenae* in Hafer verantwortlich sind und fand vor allem in *Avena sterilis* insgesamt 61 Gene. Es scheint daher sinnvoll zu sein, im Getreide und Gattungen des *Lolium-Festuca*-Komplexes nach sogenannten ‚look-alike‘ Genen Ausschau zu halten und zu prüfen, ob potentielle brauchbare homologe Regionen existieren. Aufgrund der konservierten Struktur einiger Resistenzgene können dann PCR-Primer abgeleitet werden, um Kandidatengene aufzudecken, wie dies in der Kartoffel von Leister et al. (1996) beschrieben wurde. Der Erfolg der Genisolation hängt dabei von dem Grad der Homologie der Regionen ab, in der sich ein erwünschtes Gen befindet. Für die Isolation von Genen aus einkeimblättrigen Kulturarten mit großen Genomen kann es günstig sein, zunächst homeologe Gene aus weniger komplexen Genomen wie dem Reis zu isolieren. Der endgültige Test der genetischen

Kopplung zwischen (AFLP- oder Mikrosatelliten-)Marker und Gen kann aber erst in einer für das Merkmal phänotypisch spaltenden Kartierungspopulation erfolgen (Tanksley 1993). Von Nachteil kann hierbei sein, dass die identifizierten Marker spezifisch für eine Kreuzung sind und sich deshalb nicht allgemein einsetzen lassen (Stam 1998). Neben einem Selektionsmarker („stay green“, Adomako et al. 1997) ist bei *Lolium* diesbezüglich noch nicht viel publiziert worden, vor allem, weil die meisten Merkmale quantitativ vererbt werden und entsprechende Kartierungspopulationen nicht verfügbar sind. Muylle et al. (2003) führten eine BSA (bulk segregant analysis) mit 187 AFLP-Primerkombinationen an zwei Gruppen (resistent/anfällig) durch, um in einer F₁-Population Kronenrostresistenz bei *L. perenne* zu kartieren. Sie konnten 35% der phänotypischen Variation erklären und fanden zwei Haupt-QTL, die auf den Kopplungsgruppen LG1 und LG2 lokalisiert waren. Roderick et al. (2003) untersuchten das Verhalten einer F₂-Kartierungspopulation (Turner et al. 2001) gegenüber vier Rostisolaten zu vier Zeitpunkten nach Inokulation mit dem Erreger. Sie fanden einen Haupt-QTL auf LG5 und viele Kandidaten-QTL, die aber immer nur einen geringen Anteil der Variation erklärten und auch nur für einen Erfassungszeitpunkt zutrafen. Zwischen den Isolaten fanden sie ebenfalls Unterschiede. Für zwei Isolate beobachteten sie stärkere Virulenz und zogen aufgrund ihrer Intervall-Kartierung den Schluss, dass das Merkmal (Kronenrostresistenz) komplexer ist als es aufgrund der Ergebnisse der anderen beiden Isolate zu sein schien. Van Loo et al. (2003) führten QTL-Analysen für Merkmale durch, die die Stickstoffeffizienz beeinflussen. In Abhängigkeit von den Merkmalen konnten sie zwischen 44% (Blattlänge) und 62% (ährentragende Halme) der phänotypischen Varianz erklären. Fünf chromosomale Regionen konnten mit QTL für Stickstoffeffizienz und vier QTL für Verdaulichkeit und Zellinhaltsstoffe identifiziert werden. Humphreys und Turner (2003) führten QTL-Analysen in einer F₂-Kartierungspopulation (Turner et al. 2001) für wasserlösliche Kohlenhydrate und weitere Inhaltsstoffe durch und beobachteten Variationen zwischen 24% und 40%. QTL für wasserlösliche Kohlenhydrate und Rohproteingehalte konnten auf vier Kopplungsgruppen lokalisiert werden, welche 20 bis 25% der Variation innerhalb der Merkmale erklärten. QTL nur für das Merkmal wasserlösliche Kohlenhydrate wurden auf sechs Kopplungsgruppen gefunden. Auf LG1 und LG2 fielen die QTL für wasserlösliche Kohlenhydrate und für Rohprotein zusammen.

Die Suche nach Markern, die mit Merkmalen assoziiert sind, hat in Sammlungsmaterial zwei potentielle Vorteile. Erstens können genetische Marker in einem großen Spektrum an unterschiedlichen Genotypen getestet werden und zweitens ist keine Kartierung erforderlich. Damit steigen der Wert einer solchen Analyse und das Nutzen von Sammlungsmaterial und

pflanzen genetischen Ressourcen immens an, v.a. wenn molekulare Marker anschließend von Pflanzen genetikern und Züchtern eingesetzt werden können.

5.7 Kartierung

Die Karte der S45 hat eine Länge von 744 cM, die sich auf 7 Kopplungsgruppen verteilen (Abb. 12). Sie ist kürzer als die ILGI-Karten von Jones et al. (2002a) und Jones et al. (2002b) mit Längen von 814 cM bzw. 811 cM bei ebenfalls 7 Kopplungsgruppen. Die *Lolium*-Karte von Hayward et al. (1994) war mit 754 cM bei 61 Markern etwa so groß wie die hier vorgestellte Karte (S45), bestand aber aus 13 Kopplungsgruppen. Hayward et al. (1998) kartierten 106 Marker auf 7 Kopplungsgruppen und erhielten eine Gesamtlänge von 692 cM. Die Karte von Bert et al. (1999) war mit 463 kartierten AFLP-Markern und 930 cM verhältnismäßig lang. Armstead et al. (2002) erstellten eine Konsensus-Karte aus einer F₂- und der ILGI-Population mit 38 heterologen RFLP-Markern. Die gemeinsamen Marker deckten in der F₂-Population 447 cM und in der BC₁ 327 cM ab, so dass die Konsensus-Karte geringfügig länger war als die Karte der F₂-Population. Während die sieben Kopplungsgruppen (LG) der S45 in etwa gleich lang waren (98 cM – LG6 bis 122 cM – LG2), betrug die Längen bei Jones et al. (2002b) zwischen 90 cM (LG5) und 148 cM (LG2), Armstead et al. (2002) erhielten mit der integrierten Karte Längen zwischen 65 cM (LG5) und 119 cM (LG2). Bei Jones et al. (2002a) war die kleinste Kopplungsgruppe 90 cM (LG1) und die größte Kopplungsgruppe 136 cM (LG4) lang. Bert et al. (1999) erhielten mit AFLPs eine kleinste Kopplungsgruppe mit 89 cM (Gruppe G), die längste hatte 180 cM (Gruppe A).

Abweichungen von Mendelnden Spaltungsverhältnissen bei Inzuchtlinien sind in vielen Arten festgestellt worden, unter anderem bei Roggen (Wehling 1986). Sie sind meistens unerwünscht und stören die Berechnung von Rekombinationswerten. Gertz (1989) konnte jedoch zeigen, dass gestörte Spaltungsverhältnisse an einem Marker den Rekombinationswert nicht beeinflussen müssen. Wagner et al. (1992) fanden bei der Zuckerrübe 25% gestörte Spaltungen und konnten daraus Informationen über Letal- und Subletalfaktoren gewinnen, die auf Gameten- oder Zygotenebene wirken. In *L. perenne* ließen sich bei Eickmeyer (1994) 21% der Marker aufgrund von gestörten Spaltungsverhältnissen nicht kartieren. Er führte als Ursachen Selektionsmechanismen gegen bestimmte Gameten- und/oder Zygotengenotypen an. Lundquist (1990) fand bei *Ranunculus polyanthemos* ein postzygotisch wirkendes Letalgen, mit dem er abweichende Spaltungsverhältnisse zwischen S-Genotypen erklärte. Hayward

et al. (1998) stellten bei einer interspezifischen Kartierungspopulation von *L. perenne* x *L. multiflorum* fest, dass 20% der Marker gestört spalteten. Jones et al. (2002a) berichten über 15% gestört spaltende kodominante Marker, wobei die meisten auf der Kopplungsgruppe 3 (LG3) lokalisiert waren. Armstead et al. (2002) fanden ebenfalls gestörte Spaltungsverhältnisse auf LG3, und zwar um den dort von Thorogood et al. (2002) phänotypisch kartierten S-Locus. Im Vergleich mit der Karte von Jones et al. (2002a) konnten sie noch weitere gestörte Spaltungen auf anderen Kopplungsgruppen finden, so dass sie dies als Indikator für physiologisch wichtige Gene ansahen, auch in Bezug auf die Überlebensfähigkeit der Nachkommen. In der vorliegenden Kartierungspopulation von *L. perenne* konnten 28% der molekularen Marker nicht kartiert werden. Da diese Population nicht mit dem Isoenzym Got (gekoppelt mit Z-Locus) untersucht wurde und in Pgi (gekoppelt mit S-Locus) monomorph war, konnte nicht festgestellt werden, ob die Störungen in Beziehung zu den Selbstinkompatibilitätsloci stehen.

Mikrosatelliten sind kodominant und in Eukaryoten weit verbreitet. Deshalb sind sie für die Erstellung genetischer Karten gut geeignet (Broun und Tanksley 1996). Mit den hier eingesetzten genomischen *Lolium*-Mikrosatelliten konnten diese Erfahrungen nicht gemacht werden, da sie nicht gleichmäßig auf den sieben Kopplungsgruppen verteilt waren. Dies deutet darauf hin, dass die Anzahl der eingesetzten Mikrosatelliten nicht ausreicht und durch weitere kodominante Marker wie RFLPs, STSs und SNPs ergänzt werden sollte. Werden die hier kartierten STS- und genomischen Mikrosatelliten-Marker mit übereinstimmenden Markern aus der *Lolium*-Referenz-Karte (ILGI-Map; Forster et al. 2001, Jones et al. 2002a) und einer F₂-Population (Armstead et al. 2002) verglichen, so ermöglichen diese Marker in der hier untersuchten Inzuchtlinie des Deutschen Weidelgrases (S45) eine Benennung der Kopplungsgruppen 1 bis 5 und 7 in Analogie zu den beiden anderen Karten.

Die *Lolium*-spezifischen genomischen Mikrosatelliten waren nicht gleichmäßig über die sieben Kopplungsgruppen verteilt, gruppieren aber nicht im Zentromerbereich. Zu vergleichbaren Ergebnissen kamen Thiel et al. (2003), die 61 von 76 Gersten-EST-abgeleiteten Mikrosatelliten in drei unterschiedlichen Kartierungspopulationen kartieren konnten. Jones et al. (2002b) beobachteten in der ILGI-Population Gruppierungen von genomischen *Lolium*-Mikrosatelliten um das Zentromer auf den Kopplungsgruppen LG1, LG2 und LG6. Dies wurde auch bei Gerste (Ramsay et al. 2000) und Tomate (Areshchenkova und Ganal 1999) berichtet.

Die Karte der S45 ist mit molekularen Markern, vor allem AFLPs, gut abgedeckt. Diese sind gleichmäßig über die Kopplungsgruppen verteilt. Bert et al. (1999) stellten dagegen Cluster

bei der ILGI-Population in den Zentromerbereich fest, wie auch Virk et al. (1998) bei Reis und Keim et al. (1997) bei der Sojabohne. Der Grund kann der Einsatz von unterschiedlichen Restriktionsenzymen sein. In den drei genannten Untersuchungen wurden *EcoRI* und *Tru9 I* verwendet, während in dieser Arbeit die S45 Population mit den Restriktionsenzymen *PstI* und dem Isoschizomer von *Tru9 I*, nämlich *MseI*, verdaut wurde. *PstI* als 6-cutter wurde ausgewählt, weil die Restriktionsprodukte im Vergleich zu *EcoRI/MseI* als gleichmäßig über das Genom verteilt gelten (Young et al. 1999). Der Nachteil von AFLPs ist die dominant-rezessive Vererbung und der daraus resultierende reduzierte Informationsgehalt bei der Kartierung solcher Marker in einer Selbstungsnachkommenschaft (Allard 1956). Andererseits haben AFLPs die Feinkartierung von agronomisch wichtigen Merkmalen bei Selbstbefruchtern überhaupt ermöglicht (Schwarz et al. 1999). AFLP-Marker können auch für die marker-gestützte Selektion eingesetzt werden. Besonders vorteilhaft ist es, wenn sie in sequenzspezifische, diagnostische STS-Marker konvertiert werden, wie von Shan et al. (1999) und Meksem et al. (2001) beschrieben.