

6 Zusammenfassung

6.1 Deutsche Fassung

Das Welsche Weidelgras (*Lolium multiflorum*) wird nur für den ein- bis zweijährigen Anbau genutzt. Die Züchtung erfolgt bisher über die Prüfung von Topcross-Nachkommenschaften selektierter Klone. Die Klone sind jedoch hochgradig heterozygot und viele schwache Allele werden durch den heterozygoten Zustand verdeckt. Wenn über eine erzwungene Selbstung Inzuchtlinien hergestellt werden, sollte durch den Anstieg des Homozygotiegrades das genetische Potential klarer erfassbar sein. In der Züchtung von Weidelgräsern sind Inzuchtlinien noch nicht in größerem Umfang zum Einsatz gekommen. Es könnten jedoch aufwendige und teure Leistungsprüfungen mit Ertragsermittlung eingespart werden, wenn auf der Ebene von Inzuchtlinien eine Selektion erfolgen könnte.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die genetische Variabilität an Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases erfasst. Zusätzlich wurde auch die Variabilität zwischen Abstammungen, aus denen Inzuchtlinien gewonnen wurden, zwischen Topcross-Nachkommenschaften aus der Bestäubung von Inzuchtlinien mit vier Bestäuberpopulationen sowie zwischen Nachkommenschaften aus der Kreuzung von Inzuchtlinien ermittelt. Die Charakterisierung von Inzuchtlinien erfolgte mit phänotypischen, isoenzymatischen und molekularen Merkmalen (AFLPs und genomische Mikrosatelliten). Mit molekularen Markern und phänotypischen Merkmalen wurden Assoziationsstudien durchgeführt. Für Diversitätsstudien mit Inzuchtlinien, zugelassenen Sorten, Genbankakzessionen und aktuellen Zuchtstämmen wurden AFLPs verwendet. Die Übertragbarkeit genomischer Weizenmikrosatelliten und Gerstenmikrosatelliten auf *Lolium* wurde getestet und die selbst entwickelten *Lolium*-spezifischen Mikrosatelliten auf Hafer und Gerste übertragen. Spaltende genomische Mikrosatelliten, selbstentwickelte Mikrosatelliten, STSs und AFLPs wurden kartiert.

Es wurden folgende Ergebnisse erhalten:

- Die Variabilität von Inzuchtlinien innerhalb einer Abstammung war so groß, dass Abstammungen praktisch nicht unterschieden werden konnten. Dagegen lohnt es sich, zwischen Inzuchtlinien aus einer Abstammung intensiv zu selektieren.
- Bei Topcross-Nachkommenschaften und Kreuzungen geht die große Variabilität, wie sie bei den Inzuchtlinien beobachtet wurde, wieder verloren.

- Unterschiede wurden zwischen Topcross-Nachkommenschaften unterschiedlicher Bestäuberpopulationen beobachtet. Dabei waren die Nachkommen von ‚Fastyl‘ im Jahr 2000 bei geringem Stichprobenumfang in den meisten Merkmalen vergleichsweise leistungsstark. Die übrigen Bestäuber erzielten bei größerem Stichprobenumfang in Abhängigkeit vom Merkmal etwas geringere Leistungen. Die Mittelwerte der Topcross-Nachkommen und Kreuzungen waren bei Einzelpflanzenmerkmalen ähnlich und unterschieden sich nur in zwei Merkmalen signifikant. Die Mittelwerte der Parzellenmerkmale von Topcross-Nachkommen waren dagegen höher als die der Kreuzungen, aber bis auf eine Ausnahme nicht signifikant.
- Während die Topcross-Nachkommen den Inzuchtlinien in allen Merkmalen überlegen waren, waren die Kreuzungen in einigen Merkmalen den als Eltern verwendeten Inzuchtlinien unterlegen.
- Der Einfluss der Umwelt auf verklonte, ingezüchtete Pflanzen war sehr groß, so dass eine Selektion auf bestimmte Eigenschaften nur schwer möglich ist. Trotzdem scheinen Inzuchtlinien von hohem Wuchs und großem Umfang für die Erzeugung leistungsstarker Nachkommenschaften besonders geeignet zu sein.
- 2-Komponenten Synthetiks waren in allen Parzellenmerkmalen den 4- und 5-Komponenten Synthetiks unterlegen, so dass die Erstellung neuer Synthetiks auf der Basis von 4 oder 5 leistungsstarken Inzuchtlinien erfolgen sollte.
- Viele Heritabilitätskoeffizienten, die über die Eltern-Nachkommen-Regression geschätzt wurden, waren sehr gering und an den zwei Orten, an denen die Prüfung durchgeführt wurde, von unterschiedlicher Größe. Die Heritabilität war für den Blühtermin am höchsten, für den Umfang war sie nahe Null. Die geringen Korrelationskoeffizienten zwischen den Orten bestätigten die unterschiedlichen Ergebnisse an den beiden Orten.
- Hohe Korrelationen wurden zwischen verschiedenen Parzellenmerkmalen berechnet, so dass theoretisch auf manches Merkmal verzichtet werden kann, weil eine indirekte Selektion möglich ist. Dagegen waren für gleiche Merkmale die Korrelationen zwischen Orten nur moderat, so dass auch hier die starke Umweltabhängigkeit zum Tragen kam.
- Die Leistung der verklonten, ingezüchteten Einzelpflanzen war im Verhältnis zur Vergleichssorte ‚Ligrande‘ in den einzelnen Wiederholungen unterschiedlich und nicht immer geringer als ‚Ligrande‘. Auch fünf Vergleichssorten waren nicht in allen

Merkmale den neun Inzuchtlinien überlegen, so dass Inzuchtdepression bei dem hier untersuchten Material nur in geringem Umfang beobachtet wurde.

- Die Erfassung der Rostanfälligkeit/-resistenz war auf dem Feld stark umweltabhängig und trat nicht in jedem Jahr auf, so dass eine Beurteilung des Materials hinsichtlich dieses Merkmals im Regenschattengebiet des Harzes schwierig ist. Die Rostuntersuchungen im Blattstückentest stellte sich für die Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases als geeignet heraus, für Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases waren die Ergebnisse der Wiederholungen uneinheitlich und somit nicht verwendbar.
- Inzuchtlinien und Kreuzungen wurden mit den Isoenzymssystemen Phosphoglucosomerase und saurer Phosphatase auf Fremdeinkreuzung untersucht. Es konnten Linien mit fremden Allelen entdeckt und eliminiert werden. Dies traf auf 11 von 76 Inzuchtlinien und 28 von 152 Kreuzungen zu.
- Zwei Detektionssysteme für Mikrosatelliten wurden verglichen. Da die resultierenden Phänogramme ähnlich waren, wurden für weitere Mikrosatellitenanalysen fluoreszenz-markierte Primerkombinationen eingesetzt. Mit ihnen war ein höherer Probendurchsatz bei vereinfachter Auswertung im Vergleich zur Silbernitrat-Färbung möglich.
- Mit Mikrosatelliten konnten Einzelpflanzen unterschiedlicher Sorten entsprechend ihrer Sortenzugehörigkeit gruppiert werden. Die Inzuchtlinie 1063 (Abstammung ‚Fastyl‘) gruppierte mit ihrer Sorte zusammen. Sorten- oder linienspezifische Fragmente wurden aber nicht gefunden. Drei Mikrosatelliten-Fragmente waren nötig, um fünf Sorten anhand von Fragmentfrequenzen zu unterscheiden.
- Mit AFLPs wurden die diploiden und tetraploiden Sorten und Zuchtstämme, Genbankmaterial und Inzuchtlinien untersucht. Es stellte sich heraus, dass der Genpool für die Züchtung neuer Sorten groß ist. Um aber das in dieser Arbeit untersuchte Material züchterisch zu nutzen, ist eine Evaluierung der phänotypischen Merkmale erforderlich, die für den Züchter von Interesse sind.
- Die Phänogramme der Inzuchtlinien, die mit AFLPs bzw. Mikrosatelliten erstellt wurden, stimmten gut überein, so dass beide Markersysteme für eine Charakterisierung nutzbar sind. Dagegen bestand keine Übereinstimmung der Phänogramme zwischen AFLPs bzw. Mikrosatelliten und phänotypischen Merkmalen. Auch die Assoziationsstudien zwischen Mikrosatelliten- und AFLP-Fragmenten mit morphologischen Merkmalen zeigten, dass zwar phänotypische Unterschiede zwischen den

Gruppen (Fragment vorhanden/nicht vorhanden) bestanden. Diese Unterschiede waren aber nur von geringer Größe, so dass es sich hierbei wahrscheinlich um falsch positive handelt und eine Selektion auf phänotypische Merkmale über AFLPs und Mikrosatelliten nicht zulassen.

- Genomische Mikrosatelliten aus Weizen amplifizierten in *Lolium* bessere Produkte als Mikrosatelliten aus Gersten-ESTs. Die Mikrosatelliten aus *Lolium*-ESTs amplifizierten in Hafer und Gerste verhältnismäßig gute Fragmente, die häufig von gleicher Größe wie bei *Lolium* waren. Da im Hafer häufiger Fragmente amplifiziert wurden als bei Gerste, scheinen Weidelgräser und Hafer näher miteinander verwandt zu sein als Weidelgräser und Gerste.
- Mit Primerkombinationen für Gersten-SNPs konnten auch bei *Lolium* SNPs aufgedeckt werden. Im weiteren Vorgehen für die Entwicklung von spezifischen SNP-Markern für *Lolium* könnten nun *Lolium*-spezifische Primer abgeleitet werden.
- Die genetische Karte bei *Lolium perenne* konnte zwar mit molekularen Markern gut abgedeckt werden. Viele Marker wiesen aber gestörte Spaltungsverhältnisse auf. Dabei wurde eine zu hohe Anzahl an Heterozygoten beobachtet.

6.2 Englische Fassung

Italian Ryegrass (*Lolium multiflorum*) is a fodder grass for a one to two years cropping system. In breeding programmes clones are tested for general combining ability in topcross tests. Productivity is measured on clones, which are heterozygous so that many weak alleles are covered. Therefore after crossings the heterosis of the clones cannot be used to its full extent. Self progenies of *Lolium multiflorum* can be obtained by temperature treatment of flowering plants. With inbreeding the differentiation of genotypes is improved since the level of homozygosity is increased. This offers the possibility to reduce the number of expensive tests for productivity including field trials.

In this project the genetic variability and heritability were estimated on inbred lines. In addition variability of populations from which the inbred lines were derived, of topcross progenies from pollinated inbred lines and of progenies from the crossings of inbred lines was recorded. Inbred lines were characterised with phenotypical traits, isoenzymes and molecular markers (AFLPs and genomic microsatellites). Molecular markers and phenotypical traits were also used for association studies. AFLP markers were applied for diversity studies

including inbred lines, varieties, gene bank accessions and breeding lines. Genomic microsatellites from wheat and EST-derived microsatellites from barley were tested in *Lolium*. The developed *Lolium*-specific microsatellites were transferred to oat and barley. Segregating molecular markers were used for mapping.

The following results were accomplished:

- The variability of inbred lines within populations was large and they could not be separated clearly. Due to the variability within populations it is worthwhile to select between inbred lines of the same population.
- The large variability that was observed between inbred lines could not be found between topcross progenies and crosses anymore.
- Differences between topcross progenies of different pollinators were observed. Progenies of ‚Fastyl’ in the year 2000 were superior in most traits. The remaining pollinators were not quite that good. Mean values of traits that were measured at single plants were similar for topcross progenies and crosses, while plot traits of the topcross progenies were superior to the plot traits of the crosses.
- For all traits the topcross progenies were superior to their inbred lines, but the crosses were inferior in some traits to the inbred lines used as parents.
- Selection for important traits of inbred clones is hindered because of the strong influence of the environment. Nevertheless selection on inbred plants that are tall and have a big girth seems to be promising candidates to produce highly productive progenies.
- Synthetics that were derived from 2 components were inferior to the synthetics of 4 or 5 components. This means that in a breeding programme four or five well performing inbred lines should be chosen to build up a synthetic.
- Many coefficients of heritability that were estimated as parent-progeny-regression coefficients were very low. Differences were also observed between coefficients for the same trait of two locations. The low correlation between the two locations confirmed this. Estimations for heritability were highest for date of flowering and lowest for plant girth.
- High correlations were calculated between different plot traits, so that in theory some traits can be selected indirectly. On the other hand correlation coefficients between locations for the same traits were only moderate. This indicates the strong influence of the environment.

- The performance of the inbred clones in relation to the standard variety ‚Ligrande’ differed from replication to replication. They were not always inferior. The five control varieties were also not in general superior to the nine inbred lines, so that inbreeding depression was only observed in a few cases in this material.
- The infection with crown rust depended on environmental conditions and could not be observed in each year. This matter raised difficulties to evaluate the plant material for susceptibility or resistance. While the leaf segment test was able to discriminate susceptible and resistant plants from inbred lines of *L. multiflorum*, no clear results were achieved for *L. perenne* (inbred lines and the mapping population). Therefore this testing method was not useful for *L. perenne*.
- Inbred lines and crosses were checked with phosphoglucoisomerase and acid phosphatase for foreign alleles. 11 of 76 inbred lines and 28 of 152 crosses contained foreign alleles and were eliminated.
- Two different detection systems for microsatellites were compared. The resulting phenogrammes were similar. Fluorescent-labelled primer combinations were chosen for further analyses because in comparison with the silver staining method more samples could be screened with an easier and quicker evaluation.
- Single plants of different varieties that were analysed with microsatellites clustered together with the corresponding variety. The inbred line 1063 (derived from the population ‚Fastyl’) also clustered together with the plants of this variety. But in general fragments that were specific for one line or one variety were not found. Three microsatellite fragments were necessary to differentiate five varieties by frequencies of fragments.
- AFLPs were used to discriminate diploid and tetraploid varieties and breeding lines, gene bank material and inbred lines. The gene pool of *L. multiflorum* is large and is not exhausted yet for breeding new varieties. But an evaluation of interesting phenotypical traits has to be done first.
- The resulting phenogrammes of the AFLP and microsatellite analyses of inbred lines were of good congruence so that both marker systems seem to be useful for characterising inbred lines. Association studies between phenotypical and AFLP or microsatellite fragments revealed phenotypical differences between the two groups (fragments present or absent). Since the differences were only low, the observed differences are of no practical value.

- Genomic microsatellites from wheat amplified better products in *Lolium* than microsatellites derived from barley-ESTs. EST-derived microsatellites from *Lolium* amplified comparatively good fragments in oat and barley. These fragments were often of the same size as the fragments in *Lolium*. As more fragments were successfully amplified in oat than in barley ryegrass and oat seem to be closer related to each other than ryegrass and barley.
- Primer combinations for barley SNPs also detected SNPs in *Lolium*. In a next step primer combinations for these *Lolium* specific SNPs should be developed.
- The genetic map of *L. perenne* is covered well with molecular markers. Many markers showed distorted segregation with a too high number of heterozygotes.