

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 Selbstungsnachkommen-schaft.....	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 Topcross-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

1 Einleitung

Futterpflanzen werden im Gegensatz zu Getreide erst seit knapp 100 Jahren züchterisch bearbeitet. Sie sind aus diesem Grund dem Wildmaterial viel ähnlicher als Getreide, das seit vielen tausend Jahren gezüchtet wird (Feuerstein 1997). Als Ausgangsmaterial dienen Auslesen aus Populationen (Sorten und Zuchtstämme) und Kreuzungen zwischen diesen, die Sammlung von Ökotypen (Willner 1999) und die Nutzung von Genbankmaterial (Lütke Entrup 1982). Von Sammlungs- und Genbankmaterial sind Formen aus extremen Gebieten von besonderem Interesse. So findet man starkwüchsige Herkünfte vor allem in mediterranen Regionen vor, frühblühende Formen in Regionen mit kurzer Vegetationsperiode wie in den Alpen und Winterhärte im nordosteuropäischen Raum. Wildtypen werden nicht mehr direkt sondern nur zum Einkreuzen erwünschter Merkmale in vorhandene Kultursorten genutzt (Nitzsche 1980). Ein Vorteil der Gattung *Lolium* ist ihre leichte Verklonbarkeit. Die Langlebigkeit des Deutschen und die Kurzlebigkeit des Welschen Weidelgrases haben zu unterschiedlichen Zuchtmethoden geführt. Während das Welsche Weidelgras jährlich neu in Einzeltriebe verklont werden muss, wenn es über mehrere Jahre erhalten werden soll, reicht es beim Deutschen Weidelgras vielfach aus, die Samenbildung durch regelmäßigen Rückschnitt zu unterbinden und so die Klonen über viele Jahre zu erhalten. Die Züchtung von Sorten bei den fremdbefruchtenden Weidelgräsern erfolgt gewöhnlich über die Herstellung synthetischer Sorten als Polycross ausgewählter Genotypen. Diese elterlichen Klone werden aufgrund von phänotypischen Merkmalsausprägungen ausgewählt. In der Beschreibenden Sortenliste des Bundessortenamtes (Bundessortenamt 2001) sind 106 Sorten für das Deutsche, 37 für das Welsche und 28 für das Westerwoldische Weidelgras zur Futternutzung aufgeführt. Wichtige Merkmale sind Frischmasse- und Trockenmasse-Ertrag, Blühzeit, Resistenz gegenüber Krankheiten, Toleranz gegenüber abiotischem Stress wie Kälte und Trockenheit sowie hohe Verdaulichkeit (Wilkins 1991, Camlin 1997).

Wegen der ausgeprägten Selbstinkompatibilität wurden im praktischen Zuchtbetrieb lange Zeit kaum Selbstungen durchgeführt und Merkmale der Eigenleistung von Linien nur an verklontem Material ermittelt. Die Klone sind jedoch hochgradig heterozygot, und viele ‚schwache‘ Allele werden durch den heterozygoten Zustand verdeckt. Das hat ferner den Nachteil, dass die damit verbundene Heterosis bei der Samenerzeugung nach Kreuzung mit anderen Klonen nicht nutzbar ist. Wenn über eine erzwungene Selbstung Inzuchtlinien hergestellt werden, sollte durch den Anstieg des Homozygotiegrades das genetische Potenzial

klarer zu erfassen sein. Eine Bestäubungskontrolle mit Markersystemen, wie Isoenzymen (Hayward und McAdams 1977) ist hierbei wichtig. Eickmeyer (1994) stellte fest, dass bisher überwiegend Halbgeschwisterfamilien in Einzelpflanzen-Nachkommenschaftsprüfungen standen. Werden ‚saubere‘ Inzuchtlinien verwendet, müsste der Selektionserfolg größer sein als in Halbgeschwisterfamilien (Wricke und Weber 1986). Die beträchtliche Variabilität, wie sie von Breese und Tyler (1986) an *Lolium perenne* beschrieben wird, wäre dann durch eine breitere Differenzierung besser nutzbar. Durch die Erhöhung des pseudokompatiblen Samenanatzes wurde es möglich, ausreichend Saatgut von Selbstungsnachkommenschaften nicht ingezüchteter Pflanzen für frühe Beobachtungsprüfungen zu erhalten (Eickmeyer 1994). Ein Test auf hohe Kombinationseignung kann in Topcross-Anlagen erfolgen. Da die Anzahl mit jeweils mindestens 40 Allelen am S- und Z-Locus (Fearon et al. 1983) im Vergleich zum Roggen mit 5 bis 7 bzw. 11 bis 13 (Trang et al. 1982) sehr hoch ist, braucht bei Kreuzungen von nicht zu eng verwandten Linien keine Rücksicht auf die Inkompatibilitätsgenotypen genommen werden. Auskreuzungsraten von über 90% (Wricke 1985) bei Kreuzung von drei oder mehr Komponenten in der Syn-1 dürften für eine hohe Nutzung der Heterosis ausreichen. Bisher sind Inzuchtlinien nicht in einem größeren Umfang zum Einsatz gekommen. Es kann jedoch ein Teil der aufwendigen Leistungsprüfungen mit Ertragsermittlung eingespart werden, wenn auf Inzuchtliniensebene eine Selektion stattfinden kann.

Nachteilig wirkt sich die starke Inzuchtdepression aus. Das Inzuchtminimum für Ertrag schätzt Eickmeyer (1994) auf ca. 30%. Es liegt damit in ähnlicher Größenordnung wie für ältere Linien beim Mais (Cornelius und Dudley 1974) oder Roggen (Wricke 1973). Inzuchtdepression verschiebt die absolute Merkmalsgröße deutlich. Aus züchterischer Sicht ist es wichtig zu wissen, ob bezüglich der Rangfolge ein Zusammenhang zwischen der Eigenleistung von Inzuchtlinien und den mit diesen Linien als Kreuzungspartnern erzeugten synthetischen Sorten oder Hybridsorten besteht. In Hybridsorten und synthetischen Sorten trägt die Heterosis wesentlich zur Leistung bei. Des öfteren ist versucht worden, die zu erwartende Heterosis über den genetischen Abstand der Linien untereinander vorherzusagen. Der genetische Abstand wird in der Hybridzüchtung bei Fremdbefruchtung genutzt. Beispiele sind beim Mais Kreuzungen zwischen den verschiedenen Pools wie *dent* und *flint* oder beim Roggen zwischen den Formenkreisen von Petkus und Carstens (Geiger 1990).

Für synthetische Sorten ist eine allgemeine Kombinationseignung der Linien wichtig. Eine Berücksichtigung der spezifischen Kombinationseignung ist nur in sehr kleinen Synthetiks aus zwei oder höchstens drei Eltern sinnvoll (Becker 1982). Wright (1974) definierte die allgemeine Sorteneignung eines Elters als die mittlere Leistung aller Synthetiks der Größe n,

an denen dieser Elter beteiligt ist. Gallais (1975) weitete dieses Konzept auf Populationsebene aus und fügte das spezifische Synthesevermögen als die Interaktion zwischen 2, 3 bis n Eltern hinzu. Beim Übergang auf Hybridsorten gewinnt ebenfalls die spezifische Kombinations-eignung an Bedeutung. Diese kann nicht an einzelnen Inzuchtlinien erfasst werden. Aber auch die allgemeine Kombinationseignung, die eine generelle Heterosis einschließt, ist an Inzuchtlinien nicht vollständig erfassbar, sondern nur der additive Anteil. Die Saatgutproduktion bei synthetischen Sorten über Zwischenvermehrungen birgt die Gefahr einer Verschiebung hin zu samenreicheren Genotypen, die in der vegetativen Leistung möglicherweise schwächer sind.

Da die Gattung *Lolium* zu den wichtigen Gräsern gehört, besteht ein Interesse, molekulare Markersysteme zu entwickeln, die eine marker-gestützte Selektion ermöglichen und der Unterstützung bei Introgressionsstudien dienen, um den Züchtungsfortschritt zu beschleunigen (Thomas und Humphreys 1991, Hayward et al. 1994, Thomas et al. 1997). Bis vor kurzem sind nur einige Arbeiten zu dieser Thematik publiziert worden (Humphreys 1992, Hayward et al. 1994, 1998, Bert et al. 1999, Kubik et al. 1999, 2001, Jones et al. 2001, Taylor et al. 2001) und nur wenige genetische Karten bzw. Kartierungspopulationen existieren (Turner et al. 2001, Jones et al. 2002a, Muylle et al. 2003, Van Loo et al. 2003).

Es ergeben sich die folgenden Aufgaben:

1. Schätzung der genetischen Variabilität und Heritabilität an Abstammungen, Bestäubern und Inzuchtlinien über Jahre und Orte.
2. Erstellung und Heterosiserfassung von Kreuzungen, Topcross-Nachkommen und synthetischer Sorten in mehreren Umwelten.
3. Charakterisierung von Inzuchtlinien mit phenotypischen, isoenzymatischen und molekularen Merkmalen (AFLPs, genomische Mikrosatelliten), Entwicklung von Mikrosatelliten und Identifizierung von Genpools beim Welschem Weidelgras mit Inzuchtlinien, zugelassen Sorten, Genbankakzessionen und aktuellen Zuchtstämmen mit AFLPs.
4. Untersuchungen zur Übertragbarkeit von genomischen Weizenmikrosatelliten, EST-abgeleitete Gerstenmikrosatelliten und Gersten-SNPs auf *Lolium* bzw. Übertragbarkeit der selbstentwickelten Mikrosatelliten auf Hafer und Gerste.
5. Assoziationsstudien.
6. Kartierung molekularer Marker bei *Lolium*.

2 Literatur

2.1 Abstammung und Systematik

Weidelgräser (*Lolium* spp.) gehören zur Familie der Poaceae, Subfamilie Pooideae, Tribus Poeae (www.csdl.tamu.edu/FLORA/taes/tracy/610/lolium.html), den echten Gräsern. An ihren natürlichen Standorten sind sie diploid mit $2n=2x=14$ Chromosomen. Zusätzlich können bis zu 8 B-Chromosomen auftreten (Hovin und Hill 1966). Weidelgräser (*Lolium* spp.) sind die wichtigsten Futtergräser der gemäßigten Zonen. Es werden 40 Arten unterschieden, die sich aufteilen lassen in selbstbefruchtende und fremdbefruchtende Arten. Zu den Fremdbefruchtern gehören *L. perenne* L. (Deutsches Weidelgras), *L. multiflorum* Lam. (Welsches Weidelgras) und *L. rigidum* Gaud. (Steifer Lolch) (Terrell 1968). Einjähriges Weidelgras (*L. multiflorum* Lam. ssp. *gaudini* [Parl.] Schinz et Kell.) wird als Unterart des Welschen Weidelgrases und Bastardweidelgras (*L. hybridum* Hausskn.) als Kreuzungsprodukt von Deutschem und Welschem Weidelgras betrachtet. Selbstbefruchtend sind *L. temulentum* L. (Täumel-Lolch) und *L. remotum* Schrank. (Lein-Lolch). Sie sind als Kreuzungspartner für die Gräserzüchtung von Interesse, weil sie als Ressource für Selbstkompatibilitätsgene dienen. Thorogood und Hayward (1992) stellten erfolgreich selbstkompatible Formen über Rückkreuzung mit diesen Arten her. Die fremdbefruchtenden Arten *L. perenne*, *L. multiflorum* und *L. rigidum* sind interfertil (Naylor 1960, Jauhar 1993) und einige Autoren betrachten sie deshalb als eine Art (Bulinska-Radomska und Lester 1985). Anhand einzelner morphologischer Merkmale können die Arten nicht unterschieden werden. Auch die Karyogramme des Deutschen und des Welschen Weidelgrases unterscheiden sich nicht (Thomas 1981). Die Chromosomenpaarung ihrer diploiden Bastarde ist vollständig und ein Genaustausch und Gentransfer uneingeschränkt möglich. Chromosomenmorphologisch lässt sich das selbstbefruchtende *L. temulentum* vom fremdbefruchtenden *L. perenne* unterscheiden: *L. temulentum* hat einen 35% höheren DNA-Gehalt im Kern als *L. perenne* (Naylor und Rees 1958). Anhand der Größe des Genoms sind die Weidelgräserarten unterscheidbar. So beträgt der haploide Chromosomensatz des Welschen Weidelgrases 4×10^9 Basenpaare (bp) und der des Deutschen Weidelgrases 5×10^9 bp (<http://www.rbgekew.org.uk/cval/searchguide.html>).

Zwischen Deutschem Weidelgras und Wiesenschwingel (*Festuca pratensis* Huds.) treten häufig Hybridisierungen auf. Natürliche diploide Gattungsbastarde sind fast immer in der F_1 steril (Jenkin 1959). King et al. (1998), Canter et al. (1999) und Armstead et al. (2001) gelang

es Chromosomensegmente von *F. pratensis* nach *L. perenne* zu übertragen und euploide Nachkommen zu erzeugen. Oertel und Matzk (1999) integrierten erfolgreich Kronenrost-resistenz (*Puccinia coronata*) aus *Festuca* ssp. in *L. multiflorum*.

Über die phylogenetischen Abstammungsverhältnisse der Weidelgräser, die sehr eng mit der Gattung *Festuca* verwandt sind, herrschte lange Zeit Uneinigkeit. Malik und Thomas (1966) argumentierten, dass *Lolium* evolutionsgeschichtlich jünger ist als *Festuca*, weil seine Verbreitungsgebiete enger sind und keine natürliche Polyploidie in *Lolium* gefunden wurde. Clayton und Renvoize (1986) betrachteten *Festuca* und *Lolium* aufgrund von blütenmorphologischen Studien als unterschiedliche Genera. Naylor (1960) sowie Bulinska-Radomska und Lester (1985) waren aufgrund von zytologischen und morphologischen Daten sowie der Fertilität der Meinung, dass *Lolium* eine monophyletische Untergruppe innerhalb *Festuca* darstellt. Mit Analysen von Samenproteinen (Bulinska-Radomska und Lester 1985), Isoenzymen (Emoto 1985, Charmet und Balfourier 1994, Loos 1993, Bennet et al. 2000), RAPDs (random amplified polymorphic DNAs; Stammers et al. 1995) und RFLPs (restriction fragment length polymorphisms; Xu und Sleper 1994, Charmet et al. 1997, Balfourier et al. 1998, Gaut et al. 2000) wurden die phylogenetischen Verwandtschaftsverhältnisse des *Festuca-Lolium* Komplexes näher beleuchtet. Alle diese Studien unterstützen die Annahme, dass die Gattung *Lolium* eine Untergruppe innerhalb der Gattung *Festuca* darstellt und eine besondere Affinität zu der *Festuca*-Sektion *Bovinae* besitzt. Charmet et al. (2000) führten RFLPs mit der mütterlich vererbten Chloroplasten-DNA durch und versuchten die Kolonisationswege der Gattung *Lolium* zurückzuverfolgen sowie phylogenetische Abstammungen zu rekonstruieren. Es bestätigten sich die Ergebnisse von Charmet und Balfourier (1994) und Charmet et al. (1997), dass die selbstbefruchtenden Arten sich vor den fremdbefruchtenden Arten von einer Stammform differenziert haben und dass *L. rigidum* mit großer Wahrscheinlichkeit der Stammvater der Gattung *Lolium* ist, zumindest für die fremdbefruchtenden Arten. Besonders *L. multiflorum* scheint vor nicht allzu langer Zeit aus *L. rigidum* hervorgegangen zu sein (Bulinska-Radomska und Lester 1985, Charmet et al. 1997). Für die geographischen Unterschiede innerhalb von *L. perenne* wird ein Flaschenhals von *L. rigidum* Populationen angenommen, der im Mittleren Osten vor einigen tausend Jahren aufgetreten ist. Zwei Szenarien der Ausbreitung der Gattung *Lolium* sind denkbar: einerseits könnte eine Kolonialisierung vor der letzten Eiszeit Europas vom Mittleren Osten aus erfolgt sein, wobei die Eiszeit zu einem Aussterben von *L. perenne* im nördlichen und zentralen Europa führte. Die derzeitigen Verbreitungsgebiete müssten durch Rekolonialisierung aus Refugien erfolgt sein (Balfourier et al. 1998), wie dies auch bei europäischen Bäumen wie Rotbuche und Eiche

angenommen wird (Demesure et al. 1996, Dumolin-Lapegue et al. 1997). Da dieses Szenario nicht mit einem monophyletischen Ursprung von *L. perenne* übereinstimmt, wird andererseits von Charmet et al. (2000) favorisiert, dass die Verbreitung von *L. perenne* bis nach Europa parallel mit der menschlichen Migration während des Neolithikums vor 10000 Jahren vom Mittleren Osten über die Nord-Ost-Route (Danubische Bewegung), einer Süd-West-Route (mediterrane Bewegung) und einer Nordafrikanischen Route nach Marokko erfolgte, so dass der Fruchtbare Halbmond als Ursprungsort der Gattung *Lolium* angenommen werden kann. Dort sind heute noch die selbstbefruchtenden *Lolium*-Arten als Wildgräser zu finden.

2.2 Verbreitung und Nutzwert

Aufgrund ihrer hohen Verdaulichkeit bei gleichzeitig hohem Nährwert haben zwei Arten als Futtergräser in Ländern mit intensiver Viehhaltung eine besondere Bedeutung erlangt, nämlich das Deutsche Weidelgras (*L. perenne* L.) und das Welsche Weidelgras (*L. multiflorum* Lam.). Beide werden vor allem in Europa, Neuseeland, Australien und anderen gemäßigten Zonen der Welt angebaut. *L. perenne* ist das einzige mehrjährige Gras dieser Gattung, das auch in kühleren Regionen heimisch ist. Es macht häufig den größten Anteil in Dauerwiesen und mehrjährig genutzten Weiden aus. Schwachwachsende Formen werden als Rasengräser nachgefragt und haben die Futterformen in ihrer wirtschaftlichen Bedeutung übertroffen. Das Welsche Weidelgras ist ein- bis zweijährig. Seine Verbreitung ist ähnlich der des Deutschen Weidelgrases. Es erbringt aber eine bessere Leistung im mediterranen Klima und ist Bestandteil des ‚Landsberger Gemenges‘ zusammen mit Rotklee und Inkarnatklee. Beim Reinanbau sind hohe organische und mineralische Stickstoffgaben (80-100 kg N/ha) nötig. Bei optimaler Wasser- und Nährstoffversorgung sind 3-5 Schnitte im Jahr möglich (Nösberger und Opitz von Boberfeld 1986). Die Aussaat erfolgt im August/September und der erste Aufwuchs des Folgejahres ist im Mai silierreif. Zur Sicherung des Ertrages empfiehlt es sich, früh- und spätblühende und di- und tetraploide Sortenmischungen zu verwenden. Sehr gut geeignet ist das Welsche Weidelgras aufgrund seiner Wüchsigkeit für kurzfristige Feldgrasweiden, ungeeignet hingegen für Dauergrünlandausaaten und die Begrünung von Straßenrändern und Böschungen (Klapp und Opitz von Boberfeld 1990). Als einjährige Form, dem Westerwoldischem Weidelgras (*L. multiflorum* var. *westerwoldicum*), wird es im Zwischenfruchtanbau und als Unter- oder Stoppelsaat genutzt (Klapp und Opitz von Boberfeld 1990). *L. rigidum* ist ebenfalls einjährig und im südlichen Europa, im Mittelmeerraum und in Australien als Winterweide weit verbreitet.

2.3 Zuchtmethodik und Selektionserfolg

Bei den zugelassenen Sorten der Weidelgräser handelt es sich überwiegend um synthetische Sorten (Vogel und Pedersen 1993). Eine allgemein gültige Definition der synthetischen Sorten ist bis heute in der Literatur nicht vorhanden. Becker (1993) definiert eine synthetische Sorte folgendermaßen: ‚Eine synthetische Sorte entsteht durch offene Bestäubung oder gezielte Kreuzung einer eingeschränkten Anzahl von selektierten elterlichen Erbkomponenten und anschließender Vermehrung über einige Generationen offenes Abblühen‘. Die Züchtung synthetischer Sorten erfolgt nach Schnell (1982) in fünf Schritten:

1. Entwicklung potentieller Eltern
2. Selektion überlegener Eltern
3. Rekombination der besten Eltern (Syn-0)
4. weitere Vermehrung durch offenes Abblühen
5. Erhaltung der synthetischen Sorte.

Die zugelassenen synthetischen Sorten bestehen aus 4 bis 20 Komponenten (Van Bockstaele 1998). Aufgrund der leichten vegetativen Vermehrbarkeit werden als Eltern oft heterozygote Klone verwendet. Die optimale Anzahl an Komponenten ist materialabhängig, wobei von Vorteil ist, wenn möglichst viele Eltern in die synthetische Sorte eingegangen sind. Solche Sorten zeigen eine bessere Ertragssicherheit (Lowe et al. 1974) und führen zu geringeren Problemen hinsichtlich Homogenität und Beständigkeit (Scheller 1976). Bei ihnen kann notfalls ein Klon eher durch einen anderen ersetzt werden, ohne dass sich das Sortenbild wesentlich verändert (Becker 1982). Die erwartete Leistung einer synthetischen Sorte aus n Komponenten lässt sich anhand der Wright'schen-Formel (Wright 1922) berechnen:

$$Y = F_1 - (F_1 - S_1) / n.$$
 Dabei ist F_1 die mittlere Leistung aller Kreuzungen zwischen den beteiligten Komponenten und S_1 die mittlere Leistung aller Selbstungen der Komponenten. Bei homozygoten Komponenten entspricht S_1 ihrer Eigenleistung (Allard 1999).

Zwei methodische Wege beschreiten die Züchter für der Herstellung von neuen Weidelgrassorten: Die meisten Züchter selektieren phänotypisch charakterisierte Klone und testen die Nachkommen, die aus freier Abblüte zwischen nicht wiederholten Klonen oder Topcross- bzw. Polycross-Tests erhalten werden, individuell an einem Ort. Eine bestimmte Anzahl von überlegenen Klonen wird anschließend zu synthetischen Sorten zusammengestellt. Ein anderer Weg ist die Durchführung von Vollgeschwisterkreuzungen. Die Nachkommen-schaften (F_1) werden einzeln in Isolierparzellen zur Gewinnung von F_2 -Saatgut angebaut.

Parallel zu den Isolierparzellen können Einzelpflanzen der F_1 auf spezielle Merkmals-eigenschaften wie auf Rostanfälligkeit geprüft werden. Das F_2 -Saatgut wird für die Leistungsprüfung und Beobachtungsversuche an mehreren Orten verwendet und überlegene Pärchenkreuzungen werden dann zu synthetischen Sorten zusammen gestellt (Reheul 2000).

Für die Schätzung des Zuchtwertes in Form der allgemeinen Kombinationseignung werden Halbgeschwisterfamilien, und zwar bevorzugt Nachkommenschaften von Genotypen aus der Massenselektion oder von Klonen aus Polycross- oder Topcross-Anlagen, geprüft. Beim Topcross-Test werden die Testkandidaten in gedrillten Bestäuberblöcken („Pollenüber-gewichtskreuzung“) reihenweise angebaut, das Saatgut von den Testkandidaten geerntet und die Nachkommen im folgenden Jahr geprüft. Der Polycross-Test wird u.a. bei Futterpflanzen wie Deutschem Weidelgras eingesetzt (Lütke Entrup 1982). Bei ihm werden in einem isolierten „Polycrossblock“ Komponenten mit jeweils 10-30 Pflanzen, von denen aber nie zwei Pflanzen einer Komponente nebeneinander stehen, durch offenes Abblühen miteinander rekombiniert. Jede Pflanze wird gekennzeichnet und einzeln geerntet. Die Samen von allen Pflanzen der gleichen Komponente dienen dann als Saatgut für die Prüfung. Topcross- und Polycross-Tests sind genetisch völlig identisch, wenn im Topcross-Test als Tester eine Mischung aller zu testenden Kandidaten verwendet wird (Allison und Curnow 1966). Der Unterschied zwischen Massenselektion und Polycross liegt in der relativ geringen Anzahl an Klonen im Polycross. Während vom Polycross große Mengen an Saatgut gewonnen werden und die Halbgeschwisternachkommen an vielen Orten geprüft werden können, ist bei der Massenselektion das Saatgutaufkommen der einzelnen Pflanzen gering und Nachkommen-schaftsprüfungen können häufig nur in kleinen Parzellen oder als Einzelpflanzen angebaut und geprüft werden (Aastveit und Aastveit 1990).

Die Schätzung des Selektionserfolges setzt Kenntnisse über die Größe und Zusammensetzung der genetischen Variation für unterschiedliche Zuchtziele und deren genetische Verwandtschaft voraus. Dieses lässt sich mit statistischen Parametern wie phänotypischer und genetischer Varianz, genetischen und umweltbedingten Korrelationen, Genotyp x Umwelt-Interaktionen und Selektionsintensität ausdrücken. Die Selektionsintensität ist bei der Massenselektion größer als bei Topcross oder Polycross, weil bei der Massenselektion einige Tausend Genotypen beurteilt werden und nur wenige Prozent davon selektiert werden. Bei den Topcrossen und Polycrossen hingegen können in den arbeitszeitaufwendigen Tests auf allgemeine Kombinationseignung nur wenige Genotypen, diese dafür aber sehr gründlich, geprüft werden. Gegensätzliches gilt für die Heritabilität. Sie ist bei der Massenauslese am geringsten, da die Beurteilung von Einzelpflanzen nur an einem Standort möglich ist. Bei

Topcross und Polycross ist die Heritabilität sehr viel höher, weil die Komponenten mehrjährig beobachtet werden können und Testkreuzungen in umfangreichen Leistungsprüfungen angebaut werden (Becker 1993).

2.4 Inzucht und Heterosis

Hybridsorten verbinden hohe Erträge mit natürlichem Sortenschutz, da die höchste Heterosis in den F₁-Hybriden zu erwarten ist und im Nachbau teilweise verloren geht. Bei geeigneten Elternlinien sind die Hybridsorten homogener als Populationssorten und Resistenzen lassen sich leichter kombinieren. Die Blütenbiologie der Weidelgräser ermöglicht keine Massenkastation zur Hybridsaatguterzeugung im technischen und wirtschaftlichen Maßstab, wie sie etwa bei Mais angewendet wird. Gaue (1981) und Posselt (1984) schlugen in den 80er Jahren vor, die gelegentlich gefundene zytoplasmatische männliche Sterilität (CMS), die die Ausbildung fertiler Pollen verhindert (Nitzsche 1971), als Mechanismus zur Erzeugung von F₁-Hybridsaatgut zu nutzen. Bei vielen fremdbefruchtenden Gramineen, wie Mais (Mangelsdorf 1951), Sorghum (Kaul 1988), Roggen (Geiger und Schnell 1970) und Hirse (Rajeshwari et al. 1994), wird CMS erfolgreich für die Erzeugung von Hybridsaatgut eingesetzt. Bei diesem System wird aber ein Restorer gen benötigt, um im Anbau die Pollenproduktion zur Sicherung des Kornertrages zu gewährleisten. Demgegenüber steht bei den Weidelgräsern die vegetative Wuchsleistung im Vordergrund und für die Futtererzeugung wird kein Restorer benötigt. Gaue et al. (2003) testeten drei CMS-Linien mit sechs Bestäuber-Linien und verglichen die Trockenmasseerträge der F₁-Hybriden mit den Erträgen der Bestäuber, der CMS-Linien und von zugelassenen Sorten bei unterschiedlich hoher Stickstoffversorgung. Sie stellten fest, dass mit diesem System eine Hybridsaatgutproduktion lohnend ist, und zwar sowohl auf di- als auch auf tetraploider Ebene. Die F₁-Hybriden waren leistungsstärker als ihre Eltern, besonders bei geringer Stickstoffversorgung. Bei der molekularen Charakterisierung der CMS-Linien (Gaue et al. 2003) und ihrer Maintainer-Linien mittels RFLPs (Ruge et al. 2003) zeigte sich, dass CMS-Linien mit hoher Stabilität mit einem Marker assoziiert sind und damit die von Gaue et al. (2003) gefundene stabile Sterilität von anderen instabileren CMS-Typen unterscheidbar ist.

Ein weiterer genetischer Mechanismus zur Erzeugung von Hybridsaatgut ist die Nutzung der Selbstinkompatibilität. Diese definierte Brewbaker (1957) als die Unfähigkeit einer Pflanze, die männliche und weibliche Gameten bildet, nach einer Bestäubung mit dem eigenen Pollen Samen anzusetzen. Sie ist bei fremdbefruchtenden Weidelgräsern unterschiedlich stark

ausgeprägt. Die Selbstinkompatibilität erhält die genetischer Diversität in natürlichen und agronomisch genutzten Populationen (Roldan-Ruiz et al. 2000a). Verantwortlich für die Selbstinkompatibilität ist bei *Lolium* das 2-Locus Selbstinkompatibilitätssystem, das erstmals von Lundqvist (1956) im Roggen aufgeklärt wurde. Cornish et al. (1979) wiesen es auch bei *L. perenne* und Fearon et al. (1983) bei *L. multiflorum* nach. Thorogood et al. (2002) kartierten die zwei Loci S und Z auf der Kopplungsgruppe 1 bzw. 2 in *L. perenne* (Turner et al. 2001) und stellten fest, dass die Loci den S und Z Loci des Roggens entsprechen, die ebenfalls auf den Kopplungsgruppen 1 bzw. 2 lokalisiert sind (Voylokov et al. 1994). Die Wirkung der Inkompatibilitätsreaktion der zwei Gene mit jeweils 40 Allelen je Locus (Fearon et al. 1983) besteht darin, dass lediglich Pollen auf der Narbe keimen und durchwachsen kann, der mindestens an einem der beiden Loci ein Allel trägt, welches nicht im Narbengewebe vorkommt. Dabei spielt der Sporophyt keine Rolle, allein der haploide Genotyp des Pollens ist für die Inkompatibilitätsreaktion entscheidend. Trotz dieses effektiven Mechanismus, der eine Selbstbestäubung verhindert, kann vor allem bei erzwungener Selbstung gelegentlich ein geringer Anteil an Selbstungsansatz, auch als Pseudokompatibilität bezeichnet, beobachtet werden (Elgersma et al. 1988). In der Natur spielt sie bei den Weidelgräsern keine Rolle, da durch Pseudokompatibilität entstandene Pflanzen Inzuchtdepression zeigen und wenig konkurrenzfähig sind.

In der Züchtung von Weidelgräsern sind bisher Inzuchtlinien nicht in größerem Umfang zum Einsatz gekommen. Dabei kann dieser pseudokompatible Ansatz für die Züchtung von größter Bedeutung sein, da über Selbstungsnachkommenschaften Inzuchtlinien entwickelt werden können. Es könnten eine Menge aufwändiger Leistungsprüfungen mit Ertragsermittlung eingespart werden, wenn bereits auf Inzuchtlinien-Ebene eine Selektion erfolgen könnte. Durch Kreuzung verschiedener Inzuchtlinien lässt sich die Vitalität und Fertilität zurückgewinnen und als Mittel zur Leistungssteigerung benutzen. Um den pseudokompatiblen Samenansatz zu erhöhen, führten Elgersma et al. (1988), Wilkins und Thorogood (1992) sowie Eickmeyer (1994) Selbstungen unter geeigneten Zellglastüten (McAdams et al. 1987) bei spezieller Wärmebehandlung an *L. perenne*, *L. multiflorum* und *L. temulentum* erfolgreich durch.

2.5 Zuchtziele

Bei der Beurteilung von *Lolium*-Stämmen kommt es darauf an, die Formen zu finden, die bei einem hohen Blattanteil gerade noch so viele Halme liefern, dass eine Samenproduktion

rentabel ist. In diesem Zusammenhang treten entwicklungsphysiologische Fragen auf, weil früh schossende Typen im allgemeinen einen verhältnismäßig geringen Blatt- aber hohen Halmanteil haben und nicht ausreichend winterfest sind. Ziel ist es, ein leistungsfähiges Weidelgras zu finden, dass trotz früher Jugendentwicklung und guter Bestockung spät in die generative Phase eintritt (Hoffmann et al. 1970). Maßgebliche Faktoren sind die Anzahl ährentragender Halme, Halmlänge, Halmdurchmesser, Blattzahl und Blattdimension. Daraus ergeben sich die zwei wesentlichen Zuchtziele für Gräserzüchtung:

1. Die Erwirtschaftung eines qualitativ hochwertigen Futters bei ausreichender Samenproduktion und
2. Ertragsicherheit.

2.5.1 Futterproduktion

Entscheidend für ein hochwertiges Futter sind der Ertrag und die Qualität. Beever et al. (2000) definierten den Futterwert als die Kapazität eines Futters, die tierische Masse zu erhöhen. Sie hängt ab von der Menge an Futter, die ein Tier freiwillig aufnimmt, dem Gehalt an Nährstoffen und dem Adsorptionsvermögen der Nährstoffe. Die Zusammensetzung der Inhaltsstoffe bzw. die chemischen und physikalischen Eigenschaften des Futters verändern sich dynamisch in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium des Grases, der Sortenwahl, Licht, Wasser, Nährstoffversorgung und weiteren Umwelteinflüssen. Um die chemische Zusammensetzung der Trockenmasse möglichst genau erfassen zu können, unterteilten Van Soest und Wine (1967) diese in die Zellwandbestandteile und die Zellinhalte. Die Zellwandbestandteile bestehen aus pektinhaltigen Substanzen, strukturellen Polysacchariden (Hemizellulose und Zellulose) und Ligninen, die Zellinhalte aus Zellkern, Cytoplasma und einem Großteil an Proteinen, Peptiden, Nukleinsäuren, Lipiden, Zuckern und Stärke. Das Verhältnis der Zellwandbestandteile und Zellinhalte verändert sich kontinuierlich. Im zeitigen Wachstum machen die Zellinhaltsstoffe zwei Drittel der Trockenmasse aus, wobei Proteine den Hauptanteil bilden. Mit dem Altern der Gräser verändert sich die Zusammensetzung der Trockenmasse hin zu einem höheren Anteil an Zellwandbestandteilen bei gleichzeitiger Abnahme der Zellinhaltsstoffe. Parallel kommt es zu einer Abnahme an Proteinen, einerseits aufgrund eines erhöhten Halmanteiles und andererseits in einigen Fällen durch eine Konzentrationszunahme von Zuckern. Stärkegehalte (α -Glucose-Polymere) machen 3-4% der Trockenmasse aus (Beever et al. 2000). Mit Zuchtprogrammen lässt sich zwar der Rohproteingehalt in Futterpflanzen erhöhen, ebenso wichtig ist aber die Proteinqualität. Allgemein nehmen Proteine mit einem hohen Molekulargewicht mehr als 80% des Rohproteins ein. Bei

zunehmendem Alter der Futterpflanzen nimmt der Anteil an hoch-molekularen Proteinen ab, während der Anteil nicht-proteinhaltiger Stickstoffverbindungen wie Nitraten, Aminen und Amiden zunimmt. Beim Grünfutterschnitt zur Zeit des Schossens haben die Blätter einen Rohproteingehalt von etwa 10%, während die Halme knapp 5% und die Blütenstände etwa 13% besitzen. Daneben spielen der Gehalt an Zucker, Spurennährstoffen, Alkaloiden, Saponin (Bócsa 1990) u.a. Giftstoffen und die Siliereignung (Wilkinson und Stark 1992) eine Rolle. Den größten Einfluss auf die chemische Zusammensetzung hat das Blatt:Halmverhältnis, welches entscheidend vom Entwicklungsstadium abhängt, aber auch durch die Bestandesführung, z.B. über Düngung, stark beeinflussbar ist. Wird das Blatt: Halmverhältnis aller Futtergräser verglichen, dann weist das Welsche Weidelgras das höchste Blatt:Halmverhältnis auf. Dagegen sind für *Phleum pratense*, *Festuca pratensis* und *Dactylis glomerata* ein ungünstigeres Blatt:Halmverhältnis und damit höhere Anteile an Zellwandbestandteilen charakteristisch. Günstig ist eine Kombination des Blatt:Halmverhältnisses mit morphologischen Ertragsfaktoren wie guter Bestockung, hohem Wuchs und reicher Blattbildung, auf die leicht selektiert werden kann.

Der Trockensubstanz-Gehalt für die einzelnen Sorten ist verschieden. Nach Untersuchungen von Adler (1964) ist die Verdaulichkeit der organischen Masse bei tetraploidem Welschem Weidelgras höher als bei diploiden Sorten. Während die Trockensubstanz-Gehalte bei tetraploiden Sorten zwischen 21,0% und 23,5% betragen, liegen die Gehalte von diploiden Sorten durchschnittlich zwischen 24,0% und 26,0%. Seit 2003 ist eine tetraploide Sorte des Deutschen Weidelgrases („Roy“) mit den Trockensubstanzgehalten von diploiden Sorten in mehreren Ländern Europas verfügbar. Diese war über Kolchizinierung einer diploiden trockensubstanzreichen Sorte von Reheul et al. (2003b) erzeugt worden.

Da der Futterbedarf mehr oder weniger gleichmäßig über das gesamte Jahr verteilt ist, Futter dagegen aber recht unregelmäßig zur Verfügung steht, sollte die Schnittverteilung berücksichtigt werden. Die Beurteilung der Pflanzen erfolgt daher nicht nach den höchsten Erträgen im ersten Schnitt sondern nach dem Gesamtertrag aus allen Schnitten (Hoffmann et al. 1970, Parsons und Chapman 2000).

Zur Ermittlung der Qualität können neben Rohfasergehalt und Eiweißgehalt auch die Verdaulichkeit herangezogen werden. Für das Vieh stellen wasserlösliche Kohlenhydrate die am schnellsten zugängliche Energie dar. Sie entstehen während der Photosynthese und werden für Wachstumsprozesse gebraucht oder als Reserven angelegt. Die Balance dieser Prozesse kann leicht durch Umweltfaktoren wie Trockenheit (Thomas und James 1999) oder kühle Temperaturen (Harrison et al. 1997) gestört werden. Humphreys (1989a, b) beobachtete eine

beträchtliche Variation im Gehalt von wasserlöslichen Kohlenhydraten innerhalb von *L. perenne*, was eine Auswahl von Kreuzungspartnern erleichtert. Andere Autoren bestimmten die Felderträge von Sorten und erfassten gleichzeitig die Gehalte von wasserlöslichen Kohlenhydraten. Während Smith et al. (1998) bei einigen Sorten gleichbleibende Futtererträge im Vergleich zu Standardsorten bei hohen Gehalten an wasserlöslichen Kohlenhydraten feststellten, fanden Humphreys (1989c) und Radojevic et al. (1994) bei einigen Sorten hohe Futtererträge bei gleichzeitig hohen Gehalten an wasserlöslichen Kohlenhydraten. Sowohl Radojevic et al. (1994) als auch Smith et al. (1998) fanden Sorten, bei denen die Futtererträge geringer waren als bei den Standard-Parzellen.

2.5.2 Ertragssicherheit

Die Ertragssicherheit erfasst die Ausdauer der Gräser, d.h. Toleranz gegenüber Kälte (Van Wijk und Reheul 1990), Trockenheit, Nässe, Befahren und Nutzungsintensität (Schnitte, Düngung). Konkurrenzkraft, Standfestigkeit und Resistenzen gegenüber Herbiziden und Krankheiten sind wünschenswert.

Zu den wichtigsten Krankheitserregern gehört der Schneeschimmel (*Fusarium culmorum*), der Gräserkeimlinge befällt (Holmes 1983). Ungenügende Bodenfeuchtigkeit oder zu tiefe Aussaat begünstigen die Ausbreitung des Pilzes (Lewis 1989) und können zur Auswinterung ganzer Bestände führen (Börner 1998). Pilzliche Blatterkrankungen treten an allen Futtergräsern auf. Am häufigsten und in ihrer Bedeutung am wichtigsten sind bei den Weidelgräsern zwei Erreger von Blattflecken, nämlich *Drechslera* ssp. und *Rhynchosporium* ssp., Mehltau (*Blumeria graminis*) und Kronenrost (*Puccinia coronata* f. sp. *lolii*) (Lam 1983, Lewis 1992). Während Kronenrost verstärkt im Spätsommer auftritt, haben die anderen drei Erreger ihre größte Bedeutung im Frühjahr vor dem ersten Schnitt. Rost und Mehltau gelten als Krankheiten trockenerer Gebiete, die beiden Blattfleckenerreger treten häufiger in feuchteren Regionen auf. Zu Rostepidemien kommt es nach warmen und trockenen Tagen, wenn die orangefarbigten Sporen verbreitet werden, in Verbindung mit feuchten Nächten, in denen die Sporenkeimung und eine Infektion der Blätter gefördert wird. Rostinfektion hemmt die Funktion der Blätter und führt zu schneller Seneszenz (Kimbeng 1999). Die Folgen sind Verluste an Grünmasse von bis zu 94% und Verluste an Trockenmasse von bis zu 37% (Price 1987), verminderte Wurzelgewichte, reduzierte Blattflächen, eine verringerte Anzahl an ährentragenden Halmen (Plummer et al. 1990) und ein zusätzlicher Befall mit Saprophyten von durch Rostbefall abgestorbenem Material (McKenzie 1971). Zu solchen Saprophyten zählen z.B. *Pithomyces chartarum* (Berk. & Curt) M.B. Ellis, das zu Ekzemen bei Schafen

führt (Lancashire und Latch 1966) und *Fusarium* ssp., die oestrogenische Mycotoxine (Skipton und Hampton 1996) produzieren. Ein Befall mit Mehltau ist als weißgrauer Belag auf der Blattoberfläche zu erkennen. Vor allem Infektionen bei dichten Beständen und nachfolgende Trockenheit begünstigen seine Ausbreitung und können sowohl eine reduzierte Qualität als auch Quantität der Schnitte zur Folge haben (Thomas 1991). Die beiden Blattfleckenerreger treten das ganze Jahr über auf, sind aber von untergeordneter Bedeutung, obwohl auch von schweren Qualitätseinbußen beim Welschen Weidelgras bei einem kalten und feuchten Frühjahr bzw. Herbst berichtet wird (Lam 1985). Mit einem Einsatz von Fungiziden wie Propiconazolen lassen sich alle vier Erreger unter Kontrolle halten. Lewis et al. (1996) stellten nach einer Behandlung außerdem eine geringere Neuinfektion fest. Da Kronenrost die wichtigste Blatterkrankung in Europa ist und physiologische Rassen mit unterschiedlicher Virulenz existieren (Wilkins 1978a, b, Potter et al. 1990, Schubiger et al. 2003), ist er bei vielen Züchtern Bestandteil von Zuchtprogrammen.

Im Gegensatz zu Blattkrankheiten sind Viruserkrankungen systemisch und Pflanzen bleiben lebenslang infektiös. Huth (1994) hat 26 Gräser-infizierende Viren identifiziert. Ökonomisch für die Weidelgräser von Bedeutung sein können das *Ryegrass Mosaic Virus* und das *Barley Yellow Dwarf Virus*. Heard et al. (1974) beobachteten, dass sich das *Ryegrass Mosaic Virus* sehr schnell im Welschen Weidelgras ausbreitete, Holmes (1980) stellte hohe Ertragsverluste fest. Eine Infektion erfolgt über Milben (*Abacarus hystrix*) in Neuanlagen. Heute sind Sorten mit verbesserten Resistenzeigenschaften in Großbritannien verfügbar (NIAB 1998). Das *Barley Yellow Dwarf Virus* verursacht im Deutschen Weidelgras größere Schäden als im Welschen Weidelgras, verhält sich damit konträr zum *Ryegrass Mosaic Virus* (Catherall 1987). Die Übertragung erfolgt über verschiedene Aphiden und verläuft häufig symptomlos. Es gibt noch keine Sorten, die resistent gegenüber *Barley Yellow Dwarf Virus* sind. Außerdem wird auf Toleranz gegenüber Bakterienwelke (*Corynebacterium* ssp.) und Insekten (*Sipha maydis*, *Oulema* ssp., *Oscinella frit*) selektiert (Mühle 1971).

Viele Gräsergattungen werden auch von nicht-pathogenen Pilzen, die zu der Gattung *Neotyphodium* gehören, infiziert. Diese Pilze sind Endophyten und leben in einer Symbiose mit dem Gras, obwohl *Neotyphodium* von der Gattung *Epichloe* abstammt (Wilkinson und Schardl 1997), von denen einige Arten zu der ‚Choke‘-Krankheit in Gräsern (Erstickungsschimmel) führen. Die Symbiose hat einen Anstieg von unterschiedlichen Alkaloiden in den Pflanzen zur Folge (Powell und Petroski 1992). Während Ergovaline und LolitremB bei Tieren toxische Reaktionen hervorrufen, sind Peramine und Loline Detergenzien gegen nahrungssuchende Insekten (Latch 1997). Endophyten sind in Europa weit verbreitet (Lewis

et al. 1997), haben hier aber keine weitere Bedeutung, da bisher keine Ertragsvorteile festgestellt wurden.

Die Züchtung auf Samenertrag ist bei den Weidelgräser bisher wenig berücksichtigt worden (Griffiths 1965, Elgersma 1985). Nur 15 bis 20% der Ährchen produzieren Samen, der geerntet werden kann. Für die Saatgutproduktion bedeutsame Merkmale sind die Anzahl der Samentriebe, die Anzahl der Ährchen, die Anzahl der Körner, das TKG und die Vitalität. Verluste können durch sterile Blüten (Knowles und Baenzinger 1962) oder Nicht-Befruchtung bei ungünstiger Witterung während der Blütezeit auftreten. Blüten können bestäubt werden, aber aufgrund von Inkompatibilität oder ungünstiger Witterung unterbleibt die Pollenkeimung und die Pollenschlauchentwicklung (Elgersma und Śniezko 1988). Burbidge et al. (1978) und Hill (1980) berichten, dass Embryos oder sich entwickelnde Samen unreif abgestoßen wurden. Radatz (1973) und Elgersma et al. (1989) begründen eine geringe Ausfallfestigkeit während der Reife durch eine frühzeitige Ausbildung einer Trennzone. Ein weiterer Teil der potentiellen Erträge geht durch Samenausfall vor (Anslo 1964) und bei der Ernte (Stoddart 1964, Jensen 1976) sowie bei der Aufbereitung (Meijer 1985) verloren. Für den Samenansatz ist die Fertilität und ein einheitliches Blühen und Abreifen eines Bestandes bedeutsam (Elgersma 1985). Bei anderen Gräser-Gattungen (*Dactylus*, *Phleum* und *Festuca*) beeinflussten die Herbstentwicklung, das Vernalisationsbedürfnis und die Bestandesdichte den Samenertrag (Schöberlein 1970).

Die jährlichen Verluste betragen mindestens 15% (Hoffmann et al. 1970). Bei einem Saatgutverbrauch bei *L. multiflorum* in Deutschland von 6500 t/Jahr, aber nur 5500 ha Inlandsvermehrungsflächen für zugelassene Sorten (1999-2001) und Saatguterträgen von mindestens 1 t/ha, müssen jährlich aus Vertragsstaaten der EU und Drittländern 1000 t Saatgut importiert werden (Bundessortenamt 2001).

2.6 Merkmale zur Sortenunterscheidung

2.6.1 Phänotypische Merkmale

Eine genetische Analyse der Heterogenität zwischen und innerhalb synthetischer Sorten spielt eine große Rolle in der Sortenidentifikation und Saatgutzertifizierung. Neue Futterpflanzen-sorten dürfen erst innerhalb Europas vertrieben werden, wenn sie sich in mindestens einem Merkmal von den schon aufgelisteten Sorten unterscheiden (Ostergaard und Nielsen 1981). Nach dem Internationalen Nomenklatur-Code (1969) lassen sich Pflanzen einer Sorte durch eine umfassende botanische Beschreibung anhand prägnanter Merkmale, die auch nach der

geschlechtlichen oder ungeschlechtlichen Vermehrung wieder diese Identifizierungsmerkmale zeigen, beschreiben. Nach Siebert (1975) befinden sich grundsätzliche Hinweise über Merkmale und ihre Ausprägung im Blatt für Sortenwesen. Die Merkmale können morphologischer, physiologischer, zytologischer oder chemischer Natur sein. Sie werden in der Registerprüfung durch das Bundessortenamt (BSA) erfasst und bei Unterscheidbarkeit, Homogenität, Beständigkeit und Neuheit einer Sorte in die ‘Beschreibende Sortenliste Gräser, Klee, Luzerne’ aufgenommen. Die Summe der Anbau-, Ertrags-, Resistenz- und Qualitätseigenschaften einer Sorte wird in der Wertprüfung auf den landeskulturellen Wert geprüft (Fischer-Weyer und Freudenstein 1995, Klemm 1999). Die Registerprüfung auf Unterscheidbarkeit, Gleichheit und Stabilität (DUS) für eine Anmeldung von Sorten des Welschen Weidelgrases erfolgt derzeit an phänotypischen Merkmalen wie Zeitpunkt des Ährenschiebens, Blühbeginn, Fahnenblattlänge und -breite, Anzahl der Ährchen, Abstand des Fahnenblattes bis zur Ährenspitze, Blattfarbe, Pflanzenhöhe, Wuchsform und Krankheitsanfälligkeit. Diese Merkmalsausprägungen werden alle sehr stark von der Umwelt und dem Entwicklungsstadium beeinflusst. Dies führt zu Schwierigkeiten in einer gleichmäßigen Beurteilung von Sorten. Deshalb wird die Registerprüfung an 1 bis 2 Versuchsstandorten über 2 bis 3 Jahre durchgeführt und Merkmale wie Blattfarbe, Wuchsform und Wuchshöhe zu mehreren Zeitpunkten der Vegetationsperiode erfasst.

2.6.2 Genetische Marker

Phänotypische Marker können auch als genetische Marker nutzbar sein. Im Gegensatz zu den phänotypischen Merkmalen ist die Anzahl der genetischen Marker nahezu unbegrenzt. In der Literatur sind unterschiedliche Definitionen in Abhängigkeit von ihrem Gebrauch vorhanden. Biochemische und molekulare Marker, deren Positionen auf den Chromosomen nicht bekannt sein müssen, können für die Identifizierung von Sorten eingesetzt werden (Preston et al. 1999, Roldan-Ruiz et al. 2000a).

Seit 1972 bestehen Internationale Nomenklaturempfehlungen für Isoenzyme (IUPAC-IUB 1972). Danach werden Enzyme, die natürlich in einer Spezies vorkommen und eine gleichartige katalytische Aktivität zeigen, als ‘multiple molekulare Formen’ eines Enzyms bezeichnet. Isoenzymmarker wurden bei *Lolium* zur Identifizierung von Sorten verwendet (Hayward und McAdams 1977, Ostergaard und Nielsen 1981, Gilliland et al. 1982, Kennedy et al. 1985, Nielsen et al. 1985, Quaite und Camlin 1986a, b, Fernando et al. 1997, Bennett et al. 2002). Hayward et al. (1978) und Bullitta et al. (1993) bestimmten den Anteil aus Selbst- und Fremdbefruchtung in *Lolium*-Populationen. Coleman (1977) führte eine genetische

Analyse von Isoenzymloci von fünf Isoenzymen durch. McAdams et al. (1984) und Charmet und Balfourier (1994) ermittelten Allelfrequenzen verschiedener Isoenzymloci bei unterschiedlichen *Lolium*-Arten. Eickmeyer (1994) optimierte die Techniken der Isoenzymanalysen, so dass sie für Routineuntersuchungen in Gräserzuchtbetrieben einfach und kostengünstig eingesetzt werden können.

Markersysteme, mit denen die genetische Variation auf der Basis von DNA-Sequenzen erfasst werden können, haben sich ebenfalls für die Unterscheidung von *Lolium*-Populationen als brauchbar erwiesen (Morell et al. 1995). RFLP sind kodominant. Warpeha et al. (1998) verwendeten sie für Populationsstudien und Sato et al. (1995) für Untersuchungen zur cytoplasmatische Variation innerhalb einer Sorte von *L. perenne*. Der Nachteil der RFLPs ist die sehr zeitintensive technische Durchführung. Seit der Entwicklung der PCR-Technik für die Amplifikation von Fragmenten (Saiki et al. 1988) sind weitere Markertechniken, die auf der PCR- (polymerase chain reaction) Technik basieren, entwickelt worden. Mit RAPDs (random amplified polymorphic DNA) lassen sich die technischen Nachteile der RFLPs umgehen. Der große Nachteil der RAPDs ist aber, dass sie dominant-rezessiv vererbt werden und sehr sensitiv gegenüber Reaktionsbedingungen aufgrund von Mismatches bei der Anlagerung des Oligoprimers reagieren (Neale und Harry 1994). Vergleichende Analysen von RAPDs mit anderen Markersystemen wie RFLPs, AFLPs und Mikrosatelliten (s.u.) zeigten häufig nur geringe Übereinstimmung der Datensätze mit anderen Markersystemen (Powell et al. 1996, Jones et al. 1997, Pejic et al. 1998). Sweeney und Danneberger (1994), Sweeney und Danneberger (1997), Huff (1997), Barker und Warnke (1998) und Kölliker et al. (1999) setzten RAPDs erfolgreich für die Unterscheidung von Sorten ein. In der AFLP-Technik (Vos et al. 1995) werden charakteristische Eigenschaften von RFLPs, PCR und RAPDs kombiniert. Die Technik basiert auf selektiver PCR-Amplifikation von Restriktionsfragmenten von komplett verdauter genomischer DNA. In ihr sind die Verlässlichkeit der RFLP-Technik und die technische Einfachheit der PCR-Technik vereint (Jones et al. 1997). Deshalb können AFLPs auch mit jeglicher Art von DNA durchgeführt werden, ohne dass irgendwelche Sequenzinformationen benötigt werden, spezifische Primer synthetisiert oder zunächst Bibliotheken erstellt werden müssen (Zabeau und Vos 1993). Polymorphismen von AFLP-Fragmenten können auf SNPs (single nucleotide polymorphism), Insertionen oder Deletionen (Indels) und/oder Mikrosatelliten beruhen (Bradeen und Simon 1998, Wei et al. 1999). Wie die RAPDs sind die AFLPs in der Regel dominant-rezessiv. Der Vorteil der AFLPs gegenüber anderen, auf kurze Oligonukleotid-Primer zurückgreifende Methoden wie den RAPDs ist, dass viele hoch reproduzierbare Bandenprofile mit vielen Polymorphismen

erhalten werden. Somit kann der Arbeitseinsatz reduziert werden bei gleichzeitiger Zunahme des Datenumfanges (Maguire et al. 2002). Bei den Weidelgräsern wurden AFLPs vor allem für Verwandtschaftsanalysen (Roldan-Ruiz et al. 1997, 2000a, Guthridge et al. 2001, Cresswell et al. 2001) aber auch Assoziationsstudien (Roldan-Ruiz et al. 2001, Skot et al. 2002) und Untersuchungen zur Verteilung von Fragmenten unterschiedlicher Größen (Vekemans et al. 2002) eingesetzt.

Mikrosatelliten, auch simple sequence repeats (SSRs) genannt, sind kurze DNA-Sequenzen, die aus 1-6 Basenpaaren bestehen und unterschiedlich häufig wiederholt werden. Die Allele der Mikrosatelliten sind das Ergebnis einer Veränderung der Zahl an Wiederholungen. Nullallele kommen durch Polymorphismen in der Primer-Bindungsstelle zustande (Stachel et al. 2000). Mikrosatelliten sind gut reproduzierbar, Locus-spezifisch und kodominant (Weissenbach et al. 1992). Der Nachteil ist ihre arbeitsintensive und kostspielige Herstellung (Powell et al. 1996). Beim Deutschen Weidelgras sind bisher lediglich 31 polymorphe Mikrosatelliten publiziert (Kubik et al. 1999, 2001; Jones et al. 2001). Aus diesem Grund testeten unterschiedliche Forschergruppen alternative Methoden für das Auffinden von Mikrosatelliten.

Eine weitere Markerklasse stellen SNPs dar. Der Polymorphismus eines SNP-Markers basiert auf einem einzelnen Basenaustausch innerhalb des Genoms (Lin et al. 1999). SNPs sind hoch abundant und neigen weniger stark zu Mutationen als Mikrosatelliten (Giordano et al. 1999). Über SNPs sind bis heute bei *Lolium* noch keine Publikationen verfügbar.

2.7 Kartierungspopulationen in *Lolium*

Ein Zuchtprogramm lässt sich verbessern, wenn Informationen über die Anzahl und die Verteilung der Genorte, die an der Ausprägung eines wichtigen Merkmals beteiligt sind, vorliegen. Um solche Informationen zu erhalten, ist es notwendig, zuvor eine genetische Karte zu erstellen in Populationen, die an möglichst vielen Loci spalten. Anschließend werden die interessanten Merkmale in die Karte integriert. Bei fremdbefruchtenden Arten werden für die Herstellung solcher Kartierungspopulationen zwei multiple heterozygote Individuen miteinander gekreuzt, sofern eine ausreichende Populationsgröße nicht über die Selbstung einer Einzelpflanze erzeugt werden kann. Die Nachkommenschaft hat dann bis zu vier Allele pro Genort. Eine Vereinfachung der Methode stellt die Kreuzung einer heterozygoten Pflanze mit einem homozygoten oder nahezu homozygoten Bestäuber dar. In einer solchen Nachkommenschaft können je Genort maximal zwei unterschiedliche Allelkombinationen an

einem Ort und vier an zwei Genorten auftreten. Die erste genetische Karte für *Lolium* (Hayward et al. 1994, 1998) wurde mit einer Nachkommenschaft erstellt, dessen einer Elter eine interspezifische Hybride aus *L. perenne* x *L. multiflorum* und dessen anderer Elter eine künstlich über Antherenkultur erzeugte homozygote *L. perenne* Pflanze war. Diese Population überlebte nicht sehr lange Zeit und es wird vermutet, dass die *L. multiflorum* Gene dafür die Ursache waren. In der International *Lolium* Genome Initiative (ILGI; Forster 1999) haben sich Forschungsgruppen zusammengeschlossen, um das Genom von *L. perenne* detailliert zu analysieren. Die entsprechende ILGI-Kartierungspopulation (<http://ukcrop.net/perl/ace/-search/FoggDB>), auch p150/112 F₁ Population genannt, entstand aus der Kreuzung einer hochgradig heterozygoten Pflanze von *L. perenne*, die einen sehr komplexen Stammbaum hatte, und einem doppelt haploiden Bestäuber. Eickmeyer (1994) erstellte Kartierungspopulationen mit Welschem Weidelgras, indem er hochgradig heterozygote Pflanzen selbstete und Spaltungsanalysen mit den Nachkommenschaften (entsprechen bei Selbstbefruchtern einer F₂) durchführte.

Der Einsatz von RFLP-Sonden hat gezeigt, dass viele Poaceae-Arten, wie Reis, Mais, Hirse, Sorghum, Zuckerrohr, Weizen, Gerste und Roggen (Gale und Devos 1998) Genome haben, die verwandt in Bezug auf ihre segmentalen Strukturen der genetischen Karten (konservierte Syntanie) und der Reihenfolge von Genen (konservierte Kolinearität) sind. Taylor et al. (2001) leiteten von drei Gerstengenomen, einem Rohrglanzgrasgenom und je zwei Gersten- und Hafer-cDNA-Klonen Primer ab. Sie fanden bei den Primern in *L. perenne*, die dort ein Fragment amplifizieren konnten, Homologien von 52%. Ein hoher Grad an konservierter Syntanie und Kolinearität wurde zwischen den genetischen Karten von Weizen, Gerste und Hafer gefunden (Namuth et al. 1994, Van Deynze et al. 1995, Dubcovsky et al. 1996), die alle derselben Unterfamilie (Pooideae) angehören wie *L. perenne* (Soreng und Davis 1998). Deshalb ist zu vermuten, dass zwischen den Karten dieser Spezies und *L. perenne* ebenfalls Syntanie und Kolinearität existieren. Der Vorteil hierbei wäre, dass Informationen über die Kontrolle chemischer, physiologischer und agronomischer Prozesse von anderen Genomen (Weizen, Gerste und Hafer) auf *Lolium* übertragen werden könnten.

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Übersicht

Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases wurden 1999 von der DSV (Deutsche Saatveredelung Lippstadt-Bremen GmbH) erstellt und für dieses Projekt zur Verfügung gestellt. Mit ausgewählten Einzelpflanzen dieser Inzuchtlinien wurden Pärchenkreuzungen durchgeführt und einige dieser Kreuzungen dienten der Herstellung synthetischer Sorten (Synthetiks). An einem anderen Ort standen weitere Genotypen dieser Inzuchtlinien in einer Topcrossanlage, von denen Topcrosssaatgut geerntet wurde. Inzuchtlinien, Kreuzungen und Topcross-Nachkommenschaften wurden einzelpflanzenweise und in Parzellen zum Teil mehrortig geprüft. Von Inzuchtlinien, die 1998 erstellt worden waren (ebenfalls DSV), wurden die Topcross-Nachkommen analysiert. Eine Übersicht über die durchgeführten Arbeiten in den einzelnen Jahren ist in Tab. 1 dargestellt.

Tab. 1: Darstellung des Arbeitsplans für die Feldversuche

Jahr	Inzuchtlinien (1998)	Inzuchtlinien (1999)			Kreuzung
	Topcross- Nachkommen	Inzuchtlinien	Topcross- Nachkommen	Kreuzung	Synthetiks
2000	- EP (1) - P (1)	- EP (2) - Verklonung von Kreuzungseltern	-	- Ährenkreuzungen mit Inzuchtlinien (ÄK)	-
2001	-	- Isoenzymtest - EP der Klone (3)	- EP (1)	- Vermehrung (ÄK) - Isoenzymtest - EP (2) - Ganzpflanzen- kreuzungen (GK)	- Zusammen- stellung aus Kreuzungen
2002	-	- EP ausgewählter Inzuchtlinien (1)	- P (1)	- P (ÄK; 1) - Vermehrung (GK)	- Vermehrung
2003	-	-	-	- P (GK; 2)	- P (2)

EP – Einzelpflanzenprüfung, P – Parzellenprüfung, (1)..(3) – Anzahl Orte, an denen Merkmale erfasst wurden

3.1.2 Inzuchtlinien

76 potentielle Inzuchtlinien (Selbstungsnachkommenschaften von Einzelpflanzen) von 16 Abstammungen, bei denen es sich um Zuchtstämme und Sorten des Welschen Weidelgrases (*Lolium multiflorum* L.) mit 8-19 Einzelpflanzen handelte, wurden von der DSV im Herbst 1999 übernommen. 65 Inzuchtlinien (Nr. 30 – 1304 und 2 – 76), auch als 99-er Inzuchtlinien

bezeichnet, sind in Tab. 2 aufgeführt. Ebenfalls in Tab. 2 stehen ‚Avance‘, ‚Baltimore‘, ‚Dasas‘, ‚Fastyl‘ und ‚Rustyl‘, die keine Inzuchtlinien sind. Außerdem gibt es die Inzuchtlinien S5 bis S45, bei denen es sich um Selbstungsnachkommenschaften von *L. perenne* handelt. Neben der Kennzeichnung des Materials über Bezeichnung (Inzuchtlinien) und der Abstammung (Sorte, Zuchtstamm), der die Inzuchtlinie angehörte, sind die Art, Ploidiestufe, Züchter und das Herkunftsland angegeben. Ebenfalls ist die Anzahl an Einzelpflanzen aufgeführt, die je Linie bzw. Sorte mit Isoenzymssystemen, molekularen Markern (AFLPs, STS, genomischen (G ssr) und EST-abgeleiteten (E ssr) Mikrosatelliten), phänotypischen Merkmalen und/oder auf Rostanfälligkeit im Labor getestet wurden. Aus den letzten drei Spalten wird ersichtlich, welche Inzuchtlinien in Thüle (Versuchsstation der DSV) in einer Topcross-Anlage (abgekürzt: TH) standen. Von welchen Inzuchtlinien Topcross-Saatgut geerntet und Einzelpflanzen geprüft wurde, ist in Spalte Topcross - EP mit einem X gekennzeichnet. Die fünf Topcross-Nachkommenschaften, die auch in Parzellen geprüft wurden, stehen in der letzten Spalte ebenfalls mit einem X markiert unter Topcross - P.

Im Oktober 1999 wurden die von der DSV gelieferten 76 Inzuchtlinien mit 8-19 Einzelpflanzen, in Hohenthurm auf dem Versuchsfeld ausgepflanzt (Reihenabstand: 40 cm, Einzelpflanzen-abstand innerhalb der Reihe: 25 cm) und im folgenden Jahr phänotypisch charakterisiert. Diese 76 Inzuchtlinien wurden zu Beginn des Jahres 2001 mit Isoenzymen auf fremde Allele untersucht und unreine Linien verworfen, so dass 65 Inzuchtlinien für die Analysen zur Verfügung standen. Weitere Genotypen dieser Inzuchtlinien standen in Topcross-Anlagen in Thüle und blühten gemeinsam entweder mit den Bestäuberpopulationen ‚Fastyl‘ oder ‚Ligrande‘ ab.

Ingezüchtete Einzelpflanzen, die Kreuzungseltern gewesen waren, wurden im Juli 2000 verklont und jeweils zwei Klone in zwei Wiederholungen (Einzelpflanzenabstand: 40 x 40 cm) in Hohenthurm ins Feld gepflanzt. Ein weiterer Klon je Kreuzungselter wurde aus Sicherheitsgründen getopft, aufgrund der Wüchsigkeit aber im Oktober 2000 erneut verklont. Diese zwei Klone je Kreuzungselter konnten im April 2001 auf einem weiteren Versuchsstandort (Kühnfeld in Halle) ausgepflanzt werden (Einzelpflanzenabstand: 50 x 50 cm).

Tab. 2: Beschreibung von Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases, des Welschen Weidelgrases und fünf Sorten

Inzuchtlinien														Topcross	
Na-me	Abstam-mung	Art	Ploi-die	Züchter	Her-kunft	Isoen-zym	AF-LP	STS	G ssr	E ssr	Rost	Phäno-typ	TH ¹	EP	P
S5	„Gilford“	Lp	2x	Dani	IR	11	.	.	11	.	30	.	.	.	.
S8	„Orleans“	Lp	2x	Cebeco	NL	11	.	.	11	.	30	.	.	.	.
S10	„Tyrone“	Lp	2x	Dani	IR	11	.	.	11	.	30	.	.	.	.
S12	„Umbria“	Lp	2x	Cebeco	NL	11	.	.	11	.	30	.	.	.	.
S16	„Nelson“	Lp	2x	DLF	DK	11	.	.	11	.	27	.	.	.	.
S26	„Lasso“	Lp	2x	DLF	DK	11	.	.	11	.	24	.	.	.	.
S45	„Magyar“	Lp	2x	Zelder	NL	11	96	96	96	96	30 (84)	84	.	X	.
30	50107	Lm	2x	DSV	D	10	8	.	8	.	20	16 (6)	X	X	.
64	„Meribel“	Lm	2x	IGER	GB	10	8	.	8	.	20	20 (5)	X	X	.
116	„Trajan“	Lm	2x	RvP	B	10	8	.	8	.	20	20 (8)	X	X	X
221	41215	Lm	2x	DSV	D	10	8	.	8	.	20	20 (6)	X	X	.
286	40400	Lm	2x	DSV	D	10	8	.	8	.	20	15 (5)	X	.	.
398	40400	Lm	2x	DSV	D	10	8	.	8	.	20	18 (3)	.	X	.
423	41214	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	8	.	20	19 (4)	X	.	.
472	„Trajan“	Lm	2x	RvP	B	10	.	.	8	.	20	19	.	.	.
634	403a	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	8	.	20	19	X	X	.
1063	„Fastyl“	Lm	2x	RAGT	F	10	.	.	8	.	20	20 (7)	X	X	.
1073	„Cavour“	Lm	2x	Carneau	F	10	.	.	8	.	20	14 (5)	X	X	.
1304	40400	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	8	.	20	20 (8)	X	X	.
2	41214	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	19	X	X	.
4	403a	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	18	X	X	.
6	40400	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	18	X	.	.
9	„Silor“	Lm	2x	Semunion	F	10	.	.	.	.	.	19	.	X	.
10	40400	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	20	X	X	.
11	„Cavour“	Lm	2x	Carneau	F	10	.	.	.	.	.	18	X	.	.
14	41813	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	14	.	X	.
15	40107	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	18	X	X	.
16	50107	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	19	X	X	.
17	50404	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	20	X	X	.
19	„Gordo“	Lm	2x	Zelder	NL	10	.	.	.	.	.	19	X	.	.
20	„Gordo“	Lm	2x	Zelder	NL	10	.	.	.	.	.	20	X	X	.
22	403a	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	16	X	.	.
25	„Fastyl“	Lm	2x	RAGT	F	10	.	.	.	.	.	19	.	X	.
27	411a	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	20	18	X	X	.
28	411a	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	20	19	X	.	.
29	„Trajan“	Lm	2x	RvP	B	10	.	.	.	.	.	15	X	.	.
30m	„Meribel“	Lm	2x	IGER	GB	10	.	.	.	.	.	19	.	X	X
31	41215	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	19	X	X	.
32	41214	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	17	X	.	.
33	41215	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	19	.	X	X
34	40400	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	13	X	X	.
35	„Meribel“	Lm	2x	IGER	GB	10	.	.	.	.	.	19	X	X	.
36	41215	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	18	X	X	.
37	41215	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	20	X	X	.
39	„Gordo“	Lm	2x	Zelder	NL	10	.	.	.	.	.	19	X	X	.
40	„Gordo“	Lm	2x	Zelder	NL	10	.	.	.	.	.	20	X	X	.
41	411a	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	16	X	X	.
42	„Gordo“	Lm	2x	Zelder	NL	10	.	.	.	.	.	19	X	X	.
43	40400	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	20	X	X	.
45	„Gordo“	Lm	2x	Zelder	NL	10	.	.	.	.	20	19	X	.	.
48	„Fastyl“	Lm	2x	RAGT	F	10	.	.	.	.	.	15	.	.	.
49	„Fastyl“	Lm	2x	RAGT	F	10	.	.	.	.	.	20	.	X	.
50	„Gordo“	Lm	2x	Zelder	NL	10	.	.	.	.	.	19	X	X	.
53	„Cavour“	Lm	2x	Carneau	F	10	.	.	.	.	.	18	X	X	.
54	„Total“	Lm	2x	Cebeco	NL	10	.	.	.	.	.	17	X	X	.
55	„Trajan“	Lm	2x	RvP	B	10	.	.	.	.	.	19	X	.	.
56	„Total“	Lm	2x	Cebeco	NL	10	.	.	.	.	.	20	.	.	.
58	„Jericho“	Lm	2x	Jouffray	F	10	.	.	.	.	.	19	X	.	.
59	403a	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	19	.	X	.
61	„Gordo“	Lm	2x	Zelder	NL	10	.	.	.	.	.	19	X	.	.
62	403a	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	15	.	X	.
63	„Gordo“	Lm	2x	Zelder	NL	10	.	.	.	.	.	16	X	X	.
64	„Gordo“	Lm	2x	Zelder	NL	10	.	.	.	.	.	18	X	.	.
65	50404	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	20	.	X	X

Tab. 2: Forts.

Inzuchtlinien														Topcross	
Na-me	Abstam-mung	Art	Ploi-die	Züchter	Her-kunft	Isoen-zym	AF LP	STS	G ssr	E ssr	Rost	Phäno-typ	TH ¹	EP	P
67	50107	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	19	X	.	.
68	50107	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	18	X	X	X
69	„Fastyl“	Lm	2x	RAGT	F	10	.	.	.	.	.	9	X	.	.
70	„Jericho“	Lm	2x	Jouffray	F	10	.	.	.	.	.	8	.	X	.
71	50107	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	16	X	X	.
72	50107	Lm	2x	DSV	D	10	.	.	.	.	.	14	X	.	.
73	„Jericho“	Lm	2x	Jouffray	F	10	.	.	.	.	.	13	.	.	.
76	„Fastyl“	Lm	2x	RAGT	F	10	.	.	.	.	.	12	.	.	.
	„Avance“	Lw	4x	DLF	DK	.	16	.	19	.	.	.	.	.	.
	„Baltimore“	Lm	2x	DLF	DK	.	16	.	19	.	.	.	.	.	.
	„Dasas“	Lm	2x	DLF	DK	.	16	.	19	.	.	.	.	.	.
	„Fastyl“	Lm	2x	RAGT	F	.	16	.	19	.	.	.	.	.	.
	„Rustyl“	Lm	2x	RAGT	F	.	16	.	19	.	.	.	.	.	.

¹TH: von Inzuchtlinien wurde in Thüle Topcross-Saatgut geerntet; Lm – *L. multiflorum*, Lp – *L. perenne*, Lw – *L. multiflorum* ssp. *westwoldicum*; EP – 10 Topcross Nachkommen wurden in Hohenthurm phänotypisch charakterisiert; P – Parzellenprüfung (= Leistungsprüfung) der Topcross-Nachkommen in Thüle; X Daten wurden erfasst; . keine Daten wurden erfasst; () Anzahl der Pflanzen, die mit AFLPs und Mikrosatelliten charakterisiert wurden (Spalten Rost und Phänotyp)

3.1.3 Topcross-Nachkommen

19 Einzelpflanzen von 163 Topcross-Nachkommenschaften (Bestäuber waren „Fastyl“ und/oder „Gordo“) der Inzuchtlinien von 1998 (in dieser Arbeit nicht näher untersucht) wurden im Herbst 1999 in Hohenthurm ins Feld gepflanzt und phänotypisch (Tab. 6, S. 29) charakterisiert. In Thüle wurden die Parzellenprüfungen gedreht mit „Ligrande“ als Standard. Im Jahr 2000 erfolgte in Hohenthurm und Thüle die phänotypische Merkmalerfassung. Die Anzahl der Topcross-Nachkommenschaften je Abstammung der 98-Inzuchtlinien ist in Tab. 3 aufgeführt.

Tab. 3: Abstammungen und Anzahl von Inzuchtlinien und Topcross-Nachkommenschaften

Abstammung	Anzahl der Inzuchtlinien und ihrer Topcross-Nachkommenschaften
„Fastyl“	13
„Rustyl“	11
„Fortyl“	18
„Vertyl“	2
„Meribel“	4
„Bellem“	2
„Baltimore“	4
„Orlando“	8
„Ligrande“	42
Ökotyp Müller Aulendorf	31
Stamm P4	1
„Activ“	7
„Axis“	15
Li9025	5
Li9125	7

Die 99-er Inzuchtlinien standen in Thüle in einer Topcross-Anlage mit den Bestäubern „Fastyl“ oder „Ligrande“. Von diesen Inzuchtlinien wurde Topcross-Saatgut geerntet. 10

Einzelpflanzen wurden angezogen, im Oktober ins Feld gepflanzt (Einzelpflanzenabstand: 50 x 50 cm) und 2001 phänotypisch (Tab. 6, S. 29) charakterisiert. In Thüle wurden die Parzellenprüfungen im März 2001 (10,5 m² je Parzelle) in einer Wiederholung an einem Ort angelegt und im Jahr 2002 bewertet. Topcross-Saatgut konnte von 44 der 49 Inzuchtlinien aus 1999 für Einzelpflanzenprüfungen in Hohenthurm angezogen werden (Tab. 2, Topcross - EP). Ausreichend Saatgut für Parzellenprüfungen (Aussaatmenge: 300 Körner/qm) war nur von 5 Topcrossen vorhanden (Tab. 2, Topcross - P).

3.1.4 Kreuzungen

Einzelpflanzen der in Tab. 2 aufgeführten Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases wurden für Kreuzungen verwendet. In Tab. 4 sind die bearbeiteten Kreuzungen einschließlich ihrer Eltern (Inzuchtlinie / Einzelpflanze) mit den Abstammungen, denen die Eltern angehörten, aufgeführt. In den Spalten Isoenzym, Hohenthurm und Thüle ist die Anzahl der untersuchten Einzelpflanzen angegeben. Ein X in der Spalte Leistungsprüfung besagt, dass die Kreuzungen auch in Parzellen geprüft wurden. Ein X in der Spalte Klonsynthetik weist darauf hin, aus welchen Kreuzungen ein Genotyp verklont und mit weiteren Klonen in einer kleinen Roggenkabine gemeinsam abblühte. In der Spalte Synthetikzusammenstellung stehen bei den Kreuzungen die Bezeichnungen von Synthetiks, in die sie eingeflossen bzw. welche Kreuzungen zusammen abgeblüht sind.

Die Auswahl der Eltern für eine Kreuzung orientierte sich am Entwicklungsstadium der Ähren und am allgemeinen Gesundheitszustand der Pflanzen. Fünf Ähren je Kreuzungselter wurden abgeschnitten. Diese blühten und reiften unter Zellglastüten bei 20-25°C für 3 bis 4 Wochen ab, wurden anschließend bei Raumtemperatur getrocknet und Mitte Juli in Thüle ausgelegt. Im August wurden die Kreuzungsnachkommen pikiert, vorausgesetzt, dass genügend Nachkommen je Kreuzung (60 Pflanzen) vorhanden waren, d.h. von jeder Kreuzung wurden 40 Einzelpflanzen für die Saatgutvermehrung in kleinen Roggenkabinen, 10 Einzelpflanzen für die Charakterisierung mit Merkmalen und das Durchführen von Selbstungen in Hohenthurm (Einzelpflanzenabstand: 50 x 50 cm) und 10 Einzelpflanzen für isoenzymatische Untersuchungen im Winter benötigt. Insgesamt ergaben sich 112 Kreuzungen (2 - 152 in Tab. 4). Sie wurden im Oktober 2000 in Thüle zur Zwischenvermehrung in kleine Roggenkabinen gepflanzt (30 x 30 cm). Jeweils die ersten 10 Einzelpflanzen, die am Rand standen, wurden phänotypisch charakterisiert. Im Juli 2001 wurde das Saatgut geerntet und im Herbst für die Parzellenprüfungen in Thüle gedrillt. Die

Prüfung erfolgte im Jahr 2002. Als Vergleichsorten fungierten die Sorten ‚Ligrande‘ und ‚Lemtal‘.

Im Jahr 2001 wurden erneut Kreuzungen erstellt (OK1 - OK6 in Tab. 4). Dieses Mal wurden verklonte Kreuzungspflanzen des Vorjahres, die überdurchschnittlich in den Merkmalen Wuchshöhe und Umfang abgeschnitten hatten und unterschiedlichen Abstammungen angehörten, als ganze Pflanzen kurz vor Blühbeginn aus dem Versuchsfeld entnommen. Diese Pflanzen wurden paarweise eingetütet und ins Gewächshaus gepflanzt. Nach Abreife der Ähren wurden diese in Thüle ausgelegt, pikiert und in kleine Roggenkabinen zur Zwischenvermehrung gepflanzt. Mit dem dort geernteten Saatgut wurden Parzellenprüfungen im Herbst 2002 in Thüle/D und Serexpro/F mit Vergleichssorten (‚Ligrande‘ (D) bzw. ‚Fastyl‘ (F)) gedrillt.

Tab. 4: Darstellung der verklonten Kreuzungseltern und der mit ihnen durchgeführten Kreuzungen der Jahre 2000 (2-152) und 2001 (OK1-OK6)

Kreuzung	Abstammung der Eltern	Kreuzungseltern	Erstellungsjahr	Isoenzym	Hohenthurm	Thüle	Leistungsprüfung	Klon-synthetik	Synthetik
2	403a*50107	4/9;72/6	2000	6	10	10	X	.	.
6	50404*411a	17/6;41/1	2000	6	10	10	X	.	.
7	50404*41215	17/11;221/1	2000	6	10	10	X	.	Syn2,6,7
10	‚Fastyl‘*,Meribel‘	66/4;30/5	2000	6	10	10	X	.	.
11	‚Fastyl‘*41215	25/7;33/9	2000	6	10	.	.	.	.
17	‚Trajan‘*50107	55/12;67/15	2000	6	10	10	X	X	Syn6
20	41215*50107	221/2;71/13	2000	6	10	10	X	.	Syn6, 7
21	‚Gordo‘*41214	39/6;32/17	2000	6	10	10	X	.	Syn3, 5
25	‚Cavour‘*50107	11/10;71/4	2000	6	10	10	.	.	Syn1, 7
26	‚Cavour‘*40400	11/13;10/7	2000	6	10	10	X	.	Syn1
27	‚Total‘*50404	54/8;17/4	2000	6	10	.	.	.	.
30	403a*,Gordo‘	62/3;45/14	2000	6	10	10	X	.	Syn5
35	41215*,Trajan‘	33/8;29/9	2000	6	10	10	X	.	Syn6
36	40400*,Cavour‘	10/11;11/10	2000	6	10	10	X	.	Syn2
37	50404*40400	17/2;43/15	2000	6	10	10	X	X	Syn4
38	50107*40400	16/12;43/15	2000	6	10	10	X	.	Syn1
40	‚Fastyl‘*,Gordo‘	25/16;20/19	2000	6	10	10	.	.	.
41	‚Fastyl‘*,Jericho‘	1063/2;70/1	2000	6	10	10	X	.	.
42	‚Cavour‘*403a	11/15;22/1	2000	6	10	10	X	.	Syn1, 7
43	40400*,Fastyl‘	286/1;48/1	2000	6	10	.	.	.	.
46	41813*,Fastyl‘	14/2;49/4	2000	6	10	10	.	.	.
47	411a*,Fastyl‘	41/10;25/14	2000	6	10	10	X	.	.
48	411a*,Cavour‘	41/3;1073/7	2000	6	10	.	.	.	.
49	‚Total‘*411a	54/14;41/3	2000	6	10	10	X	.	.
53	41813*411a	14/3;41/4	2000	6	10	.	.	.	.
54	41215*411a	221/3;41/8	2000	6	10	10	X	.	.
55	41215*41214	221/3;32/10	2000	6	10	10	X	.	Syn6
56	41214*,Meribel‘	32/10;30/10	2000	6	10	10	X	.	Syn3, 5
57	‚Gordo‘*,Trajan‘	39/6;55/10	2000	6	10	.	.	.	.
60	‚Jericho‘*41214	70/7;32/17	2000	6	10	10	X	.	.
61	403a*41214	4/7;32/16	2000	6	10	10	X	.	Syn5
62	‚Meribel‘*403a	35/18;65/15	2000	6	10	10	X	.	Syn5
65	403a*403a	59/4;634/6	2000	6	10	10	X	.	.
66	‚Meribel‘*,Cavour‘	30/10;11/2	2000	6	10	10	X	.	.
70	403a*,Meribel‘	59/4;30/10	2000	6	10	.	.	.	.

Tab. 4: Forts.

Kreuzung	Abstammung der Eltern	Kreuzungseltern	Erstellungsjahr	Isoenzym	Hohenthurm	Thüle	Leistungsprüfung	Klonsynthetik	Synthetik
71	„Gordo“*,Meribel’	39/7;30/4	2000	6	10	10	X	.	Syn3, 5
72	50107*,Meribel’	68/5;30/6	2000	6	10	10	X	.	Syn3
73	„Trajan“*,Meribel’	55/12;30/12	2000	6	10	10	X	X	.
74	„Trajan“*,Cavour’	55/12;11/13	2000	6	10	10	X	.	.
76	50404*403a	65/18;59/11	2000	6	10	10	X	.	Syn4, 7
77	„Total“*403a	54/12;59/4	2000	6	10	10	.	.	.
78	50107*,Gordo’	39/5;68/5	2000	6	10	10	X	.	Syn3
79	50107*403a	68/5;59/4	2000	6	10	10	X	.	Syn1, 7
80	41214*50107	32/7;68/5	2000	6	10	10	.	.	Syn3, 6
81	50107*50404	68/5;65/14	2000	6	10	10	.	.	Syn6, 7
82	41813*50107	14/11;68/5	2000	6	10	10	X	.	.
83	„Jericho“*50107	58/3;68/5	2000	6	10	10	X	.	.
84	41215*,Gordo’	37/9;50/17	2000	6	10	10	X	X	.
85	41813*,Gordo’	14/11;50/8	2000	6	10	10	X	.	.
88	41813*,Cavour’	14/13;11/18	2000	6	10	10	X	.	.
89	„Cavour“*41215*	11/8;31/13	2000	6	10	.	.	.	Syn7
90	50404*,Cavour’	17/1;11/2	2000	6	10	10	X	.	Syn7
91	50404*,Jericho’	17/17;70/3	2000	6	10	10	X	.	Syn4
92	50404*41214	17/16;32/3	2000	6	10	10	X	.	Syn2, 6
98	„Jericho“*41215*	58/3;31/18	2000	6	10	10	X	.	.
99	40400*41215	1304/15;37/5	2000	6	10	10	X	.	.
100	403a*41215	59/8;37/8	2000	6	10	10	X	.	Syn7
102	403a*,Jericho’	59/10;58/15	2000	6	10	10	X	.	Syn4
103	40400*403a	34/7;59/10	2000	6	10	10	X	.	Syn1, 4
104	„Gordo“*40400	39/6;1304/6	2000	6	10	10	X	.	.
105	40400*,Jericho’	34/12;58/3	2000	6	10	10	X	.	Syn4
107	41813*40400	14/11;34/12	2000	6	10	10	.	.	.
108	„Trajan“*40400	55/12;286/13	2000	6	10	10	X	.	.
110	„Trajan“*50404	55/6;17/1	2000	6	10	10	X	.	Syn2, 6
111	41813*50404	14/3;17/16	2000	6	10	10	X	.	.
113	41214*41813	32/14;14/4	2000	6	10	10	X	.	Syn2
114	41214*,Trajan’	32/14;55/10	2000	6	10	10	.	.	Syn2, 6
118	„Silor“*,Fastyl’	9/17;49/18	2000	6	10	10	.	.	.
119	„Trajan“*,Jericho’	55/16;73/7	2000	6	10	10	.	.	.
121	„Silor“*50107	9/17;68/14	2000	6	10	10	X	.	.
122	„Trajan“*41813	55/16;14/2	2000	6	10	10	.	.	.
123	„Trajan“*411a	55/4;41/7	2000	6	10	10	X	.	.
125	„Jericho“*,Meribel’	58/7;35/9	2000	6	10	10	X	.	.
126	„Jericho“*,Gordo’	58/13;50/8	2000	6	10	10	X	.	.
128	„Jericho“*,Total’	58/13;54/11	2000	6	10	10	X	.	.
129	40400*411a	398/9;28/2	2000	6	10	10	X	.	.
130	„Silor“*,Meribel’	9/18;30/1	2000	6	10	10	X	.	.
131	„Silor“*,Cavour’	9/18;53/7	2000	6	10	10	X	.	.
135	41813*,Silor’	14/14;9/7	2000	6	10	10	.	.	.
138	50404*,Jericho’	65/6;58/7	2000	6	10	10	X	.	.
146	403a*,Silor’	59/10;9/2	2000	6	10	10	X	.	.
150	„Jericho“*50404	58/7;17/17	2000	6	10	10	X	.	.
151	„Fastyl“*,Jericho’	1304/17;58/7	2000	6	10	10	X	.	.
152	„Fastyl“*,Jericho’	76/7;8/13	2000	6	10	10	X	.	.
OK1	50107*50404	71/11;17/17	2001	.	.	.	X	.	.
OK2	„Fastyl“*50404	76/1;17/17	2001	.	.	.	X	.	.
OK3	41214*50404	32/17;17/16	2001	.	.	.	X	.	.
OK4	50107*,Fastyl’	68/5;25/7	2001	.	.	.	X	.	.
OK5	411a*,Fastyl’	41/8;76/7	2001	.	.	.	X	.	.
OK6	„Jericho“*50107	58/7;71/6	2001	.	.	.	X	.	.

Von jeder Kreuzung wurde eine Einzelpflanze für isoenzymatische Untersuchungen geselbstet: 10 Ähren je Einzelpflanze wurden abgeschnitten. Diese sollten bei 30°C unter Zellglastüten abblühen. Unkontrollierbare Klimabedingungen im Gewächshaus führten zu erheblich höheren Temperaturen, so dass Pollen und Narben verbrannten. Der Aufgang der ausgelegten Ähren lag bei max. 5 Einzelpflanzen/Selbstung. Dieser Umfang war für die Ermittlung von isoenzymatischen Spaltungsverhältnissen zu gering, so dass diese Pflanzen verworfen wurden.

3.1.5 Synthetische Sorten (Synthetiks)

Die Zusammenstellung der synthetischen Sorten (fünf gute und zwei schlechte Synthetiks aus jeweils sechs Linien unterschiedlicher Abstammungen) mit Inzuchtlinien aus 1998 sollten in Thüle erfolgen. Aufgrund ungünstiger Witterung wurde die Zusammenstellung erst im dritten Aufwuchs in Thüle des Jahres 2000 durchgeführt. Der Aufgang war zu gering, d.h. weniger als 40 Einzelpflanzen, so dass diese Synthetiks verworfen werden mußten.

Im Juli 2001 (zweiter Aufwuchs) wurden erneut sieben Synthetiks (fünf Synthetiks mit vier Komponenten und zwei mit fünf Komponenten), dieses Mal mit Kreuzungsnachkommen in Hohenthurm, zusammengestellt (siehe Tab. 4), die gemeinsam abblühten. Die Voraussetzung für die Auswahl der Kreuzungen war das Vorhandensein von 10 Pflanzen je Kreuzung, von denen jeweils eine Ähre für die Zusammenstellung der Synthetiks abgenommen wurde, und der gleiche Entwicklungszustand der Ähren. Außerdem sollten möglichst viele Abstammungen, aus denen die Kreuzungen entstanden waren, in die Synthetiks einfließen, um Inzucht zu vermeiden. Die Syn-1 wurde in Thüle in kleine Roggenkabinen zur Zwischenvermehrung gepflanzt und mit dem Syn-2 Saatgut die Parzellenprüfungen angelegt.

Im Sommer 2001 wurden je ein Genotyp aus den vier Kreuzungen 17, 37, 73 und 84 (insgesamt sieben Komponenten) aufgrund ihrer Isoenzymergebnisse (*Pgi2*- und *Acp2*-Loci einheitlich heterozygot, wobei Eltern unterschiedlich homozygot gewesen waren) ausgewählt und verklont (Tab. 4 - ‚Klonsynthetik‘). Diese verklonten vier Pflanzen blühten im Jahr 2002 (zeitgleich wie die anderen Synthetiks) gemeinsam in kleinen Roggenkabinen ab. Das in dieser Kabine geerntete Syn-1 Saatgut wurde für die Parzellenprüfungen im Jahr 2003 verwendet. Als Vergleichssorten der Parzellen dienten in Thüle/D die Sorte ‚Ligrande‘ und in Serexpro/F ‚Fastyl‘.

Fünf Synthetiks aus jeweils sechs Kreuzungsnachkommen (entspricht vier Komponenten, Gruppen in Tab. 5) und zwei Synthetiks aus jeweils 10 Kreuzungsnachkommen (entspricht fünf Komponenten) wurden in der Generation Syn-2 und ein weiterer Synthetik aus 7

Komponenten gleichzeitig in der Syn-1 in Parzellen an den zwei Orten Thüle/D und Serexpro/F geprüft. Die Zusammensetzung der Synthetiks ist in Tab. 4, Spalte ‚Synthetik‘ zu finden. Die Gruppen der Synthetiks unterschieden sich in der Anzahl der Komponenten und in den Syn-Generationen (Syn-1 oder Syn-2) und Kreuzungen der Jahre 2002 und 2003. In Tab. 5 sind die Synthetiks und Unterschiede zwischen ihnen tabellarisch zusammengefasst. Die zwischenvermehrten Ähren- und Ganzpflanzkreuzungen (beides in Tab. 4) stellten 2-Komponenten Synthetiks dar.

Tab. 5: Übersicht über die erstellten Synthetiks

Gruppe	Anzahl der Komponenten	Syn-Generation	Art des gemeinsamen Abblühens	Beobachtungsjahr	Anzahl Synthetiks	Bezeichnung in Tab. 4
1	4	2	Ährenkreuzung	2003	5	Syn1 – Syn5
2	5	2	Ährenkreuzung	2003	2	Syn6, Syn7
3	2	2	Ganzpflanzkreuzung	2003	6	Leistungsprüfung
4	7	1	Klonkreuzung	2003	1	Klonsynthetik
5	2	2	Ährenkreuzung	2002	64	Leistungsprüfung

3.1.6 Material für molekulare Analysen

Sechs Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases (S5, S8, S10, S12, S16 und S26 - jeweils 11 Einzelpflanzen einschließlich Eltern), eine Kartierungspopulation des Deutschen Weidelgrases (S45 - 95 Einzelpflanzen zuzüglich Elter) und 12 Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases (30, 64, 116, 221, 286, 398, 423, 472, 634, 1063, 1073 und 1304 - jeweils acht Einzelpflanzen) wurden mit molekularen Markern charakterisiert (Tab. 2). Auf Sortenebene wurde die DNA von fünf Sorten des Welschen (Lm: ‚Baltimore‘, ‚Dasas‘, ‚Fastyl‘ und ‚Rustyl‘, Tab. 2) bzw. Westerwoldischen Weidelgrases (Lw: ‚Avance‘) mit jeweils 19 Einzelpflanzen untersucht. 84 Abstammungen (Anhang Tab. I) wurden mit jeweils 16 Einzelpflanzen (*L. perenne*, *L. multiflorum*: di- und tetraploid) untersucht, nämlich 80 di- und tetraploide Sorten und Zuchtstämme und diploide Genbankakzessionen des Welschen Weidelgrases und vier Sorten des Deutschen Weidelgrases. Eine nähere Beschreibung (Art des Materials, Ploidiestufe, Züchter bzw. Sammler des Genbankmaterials (GR-Nummern), Herkunftsland und Anzahl der untersuchten Genotypen) des untersuchten Materials ist ebenfalls im Anhang Tab. I aufgeführt.

Die 84 Abstammungen wurden nach der Verdünnung von 16 einzelnen DNAs auf einheitliche Konzentrationen zu zwei Bulks von jeweils acht Einzelpflanzen je Sorte, Zuchtstamm bzw. Akzession zusammengestellt. Die 12 Inzuchtlinien wurden mit nur einem Bulk je Linie untersucht. Zum Testen und Optimieren von Amplifikationsbedingungen (für AFLPs, genomische Weizen- und Est-abgeleitete Gersten-Mikrosatelliten, genomische und EST-

abgeleitete *Lolium*-Mikrosatelliten und Gersten-SNPs) wurden Einzelpflanzen der S5, S10, S12, S45 von *L. perenne* und Einzelpflanzen der 99-er Inzuchtlinien 35, 45, 76 und 14 verwendet. Zum Testen der *Lolium*-spezifischen Mikrosatelliten wurden zwei Haferbulks, bestehend aus jeweils 12 bespelzten bzw. unbespelzten Einzelpflanzen unterschiedlicher Abstammungen, und ein Gersten-Bulk, bestehend aus 4 Einzelpflanzen der Sorte ‚Barke‘, verwendet.

3.2 Beschreibung der phänotypischen Merkmale

Im folgenden (Tab. 6) sind die phänotypischen Merkmale mit Definition aufgeführt, die zur Beschreibung von Inzuchtlinien, Topcross-Nachkommen, Kreuzungen und fünf Sorten (Tab. 2 und Tab. 4) verwendet wurden.

Tab. 6: Erfassung phänotypischer Merkmale am untersuchten Material

Merkmal	Definition	I HT	I TH	Klon	Kreuz	TC 2000	TC 1999	Syn	I S
Bestockung	Einschätzung der Anzahl vorhandener Triebe aus denen Klone gewonnen werden können (1 = sehr wenige Klone, 9 = sehr viele Klone)	E	E	E	E	E	E	.	E
Umfang	Etwa 8 cm oberhalb des Vegetationskegels wurde ein Bandmaß um die Pflanze gelegt und der Wert (cm) abgelesen	E	E	E	E	E	E	.	E
Wuchsform	Einschätzung der Abgangswinkel der Triebe von einer gedachten Senkrechten (1 = liegend, 9 = senkrecht)	E	E	E	E	E	E	.	E
Wuchshöhe	Die Höhe (cm) der Einzelpflanzen wurde mit Hilfe eines Zollstockes vom Boden bis zur mittleren Ährenlänge der Pflanze gemessen	E	E	E	E	E	E	.	E
Fahnenblattlänge	Das Fahnenblatt wurde von der Spitze bis zum Ansatz am Halm gemessen (cm)	E	.	E	E	.	.	.	E
Fahnenblattbreite	Die breiteste Stelle des Fahnenblattes wurde gemessen (cm)	E	.	E	E	.	.	.	E
Ährenlänge	Die Länge der Ähre von der Spitze bis zum Ansatz am Halm wurde gemessen (cm)	E	.	E	E	E	E	.	E
Stand nach Winter	Beurteilung des allgemeinen Entwicklungszustandes einer Linie zu Vegetationsbeginn (1 = sehr schlecht, 9 = sehr gut)	L	.	.	L	L	L	.	.
Einheitlichkeit	Bewertung der Einheitlichkeit einer Linie (9 = homogen, 1 = nicht homogen); 05 = Merkmal im Mai erfasst	L	.	.	L	L	L	.	.
Blattfarbe	Visuelle Beurteilung der Blattfarbe (1 – hellgrün, 9 – dunkelgrün)	.	.	.	.	.	.	.	E
Blühtermin	Erfassung des Tages, an dem 50% der Ähren einer Linie bzw. eines Klons voll entwickelt sind und blühen	E	.	L	L	.	.	.	.
Rostbefall	Einschätzung des Rostbefalls: 0 = keine Sporulation, 4 = sehr starke Sporulation; s. Lellbach und Wehling (2000)	L	.	L	L	.	.	.	.

Tab. 6: Forts.

Merkmal	Definition	I HT	I TH	Klon	Kreuz	TC 2000	TC 1999	Syn	I S
Mehltaubefall	Einschätzung des Mehлтаubefalls (1 = kein Befall, 9 = sehr starker Befall)	L	.	.	L	.	.	.	.
Saatgutmenge	Das in den kleinen Roggenkabinen geerntete und gereinigte Saatgut wurde gewogen (g)	.	.	.	L	.	.	.	.
TKG	Tausendkorngewicht; 250 Körner mit Zählmaschine (Contador „E“ Fa. Pfeufer) abgezählt und gewogen (g)	.	L	.	L	.	.	.	.
1. Schnitt	Mit dem Parzellenmäher wurde der 1. Schnitt (Mai) von jeder Parzelle geerntet und gewogen	.	.	.	L	L	L	L	.
Trockenmasse	Differenz zwischen Ein- und Auswaage: 100 g Frischmasse vom 1. Schnitt wurden eingewogen, 48 h getrocknet und erneut gewogen	.	.	.	L	L	L	L	.
alle Schnitte	Von allen (5) in einer Vegetationsperiode durchgeführten Schnitten wurden die gewogene Frischmasse aufsummiert	.	.	.	L	L	L	L	.

I HT – Inzuchtlinien Hohenthurm, I TH – Inzuchtlinien Thüle, Kreuz – Kreuzungen, TC 2000 – Topcross-Nachkommen 2000, TC 2001 – Topcross-Nachkommen 2001, Syn – Synthetiks, I S – ausgewählte Inzuchtlinien und fünf Sorten, die molekular beschrieben wurden, E – Merkmal einzelpflanzenweise erfasst, L – Merkmal linienweise erfasst

3.3 Rosttest

Die Rosttests wurden zusammen mit Dr. H. Lellbach an der BAZ Groß Lüsewitz durchgeführt.

Für den Blattstückentest wurden 3-4 cm lange Blattstücke mit ihrer Unterseite auf 30 ppm Benzimidazol-haltigem Agar ausgelegt, mit Uredosporen eines Kronenrosterregergemisches inokuliert, 24 h im Dunkeln, dann bei Licht aufgestellt und nach 12 Tagen visuell bonitiert (Lellbach und Wehling 2000). Auf jeder Agarplatte befanden sich 72 Proben und acht anfällige Standards der Sorte ‚Aurora‘. Die Tests wurden mit Inzuchtlinien des Welschen und des Deutschen Weidelgrases durchgeführt. In Tab. 2 ist aufgeführt, welche Inzuchtlinien in welchem Umfang geprüft wurden. Besonders zu erwähnen ist die S45 von Deutschem Weidelgras. Hier wurden zunächst 30, später aber noch einmal 84 Klone untersucht. S45 ist eine Kartierungspopulation, die auch mit molekularen Markern charakterisiert wurde und auf ihr Verhalten gegenüber Kronenrost im Blattstückentest untersucht wurde, um einen möglichen Zusammenhang zwischen vorhandenen/fehlenden Banden und anfällig/resistenten Pflanzen aufzufinden.

3.4 Isoenzymatische Untersuchungen

Isoenzymatische Untersuchungen wurden auf der Versuchsstation Thüle (DSV) und am Institut für Acker- und Pflanzenbau, Saatgutwirtschaft (Frau Dr. K. Förster) der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg durchgeführt. Gerätschaften und Hilfsmittel, die einen hohen Probendurchsatz ermöglichten, wurden vom Institut für Angewandte Genetik (PD Dr. E. Esch), Universität Hannover zur Verfügung gestellt.

Der Blattsaft von Einzelpflanzen der 99-er Inzuchtlinien und Kreuzungen wurden mit den Isoenzymsystemen Phosphoglucoisomerase (Pgi), Saure Phosphatase (Acp) und Glutamat-Oxaloacetat-Transaminase (Got) auf Fremdallele untersucht. Die Auftrennung der Allele erfolgte auf 12%-igen Stärkegelelen mit modifizierten Protokollen nach Eickmeyer (1994).

3.4.1 Isoenzymanalysen an Deutschem Weidelgras (*Lolium perenne*)

Von Dr. U. Feuerstein (DSV Asendorf) wurden 10 Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases zur Verfügung gestellt, die durch Selbstung charakteristischer Einzelpflanzen zugelassener Sorten hergestellt worden waren. Mit Pgi und Acp wurden die Blätter von Eltern und von jeweils 10 Nachkommen auf Reinheit geprüft. Sieben von diesen 10 Inzuchtlinien sind in Tab. 2 (S5 – S45) dargestellt. Drei Linien wurden auf Grund von fremden Allelen als sogenannte unreine Linien verworfen und sind dort nicht aufgeführt.

3.4.2 Isoenzymanalysen an Welschem Weidelgras (*Lolium multiflorum*)

Von den 99-er Inzuchtlinien (Nummern zwischen 30 bis 1304 und 2 bis 76, Tab. 2) wurden jeweils die Blätter von 10 Einzelpflanzen getestet und Inzuchtlinien, die fremde Allele aufwiesen, verworfen. Ebenso nicht weiter berücksichtigt wurden Kreuzungen mit fremden Allelen, die nicht in den Eltern gefunden wurden. Zeigten die Kreuzungsnachkommen fremde Allele bei reinen Inzuchteltern (33, 39, 44, 45, 58, 97, 101, 132, 133, 134 136, 137, 141, 148) oder war der Pflanzenaufgang der Kreuzungsnachkommen zu gering (weniger als 60 Pflanzen), wurden die Kreuzungen verworfen. Ihre ingezüchteten Eltern aber wurden als Klone an drei Orten weiter mitgeprüft. Bei den Kreuzungen wurden jeweils sechs Nachkommen und ihre Eltern (mit Wiederholung) auf fremde Allele untersucht.

3.5 DNA-Analysen

Die molekularen Untersuchungen und die Entwicklung von Markern erfolgten am Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) Gatersleben im Labor von Dr. K. J. Dehmer, AG Molekulare Marker der Abteilung Genbank (Leitung von Prof. Dr. A. Graner). Für die molekularen Analysen wurden etwa 100 mg Blattmaterial je Einzelpflanze geerntet, in flüssigem Stickstoff mit einer MM300-Mühle (Retsch/ Haan/D) gemahlen, DNA nach Doyle und Doyle (1990) mit kleinen Modifikationen extrahiert und auf 20 ng/µl verdünnt.

3.5.1 AFLP (amplified fragment length polymorphism)

Zunächst wurden zwei AFLP-Protokolle verglichen (Bert et al. 1999 und Dehmer 2001). Anstatt des von Bert et al. (1999) verwendeten Vier-Basen-Schneiders (4-cutter) *TruI* wurde das Isoschizomer *MseI* verwendet. In beiden Protokollen kam als Sechs-Basen-Schneider (6-cutter) das Restriktionsenzym *EcoRI* zum Einsatz. Die 17 Primerkombinationen von Bert et al. (1999) wurden zum Testen verwendet. Da das Protokoll von Dehmer (2001) zu klareren Ergebnissen (Peaks) führte, diente es für die weiteren Analysen zur Orientierung. Für die eigentlichen Analysen wurde der Sechs-Basen-Schneider *PstI* anstatt *EcoRI* verwendet. Für die AFLP-Analysen wurde genomische DNA (100 ng) mit *PstI* (14 U) und *MseI* (2 U) (New England Biolabs) verdaut und anschließend mit den entsprechenden Adaptern ligiert. Die fertigen Ligations-Ansätze wurden 1:10 mit TE verdünnt und 3,7 µl davon in der Präamplifikation mit *Taq*-Polymerase, dNTPs, MgCl₂, P01-Primern und M02- bzw. M03-Primern, Reaktionspuffer und Wasser auf ein Gesamtvolumen von 15 µl gebracht, im Thermal Cycler (PE9700) amplifiziert und dann für die selektive Amplifikation 1:50 in TE verdünnt. Die Amplifikation erfolgte mit fluoreszenz-markierten *Pst*-Primern (FAM – blau fluoreszierend, HEX – grün fluoreszierend, NED – gelb fluoreszierend). Amplifikationsansätze mit unterschiedlicher Fluoreszenz-Markierung wurden gemischt (FAM - 1,0 µl, HEX – 3,0 µl, NED – 2,0 µl), 1:1 mit einem Ladepuffer/Formamid/Standard-Mix verdünnt und auf 6%-igen PAGEplus Gelen (36 cm) im ABI 377 (PE BioSystems, Weiterstadt/D) aufgetragen. Die Ansätze liefen für 5,5 h bei 2,875 kV. Die Auswertung erfolgte mit GeneScan 3.1, die Umformung in eine binäre Matrix mit Genotyper 2.1 (beide PE BioSystems). 250 Primerkombinationen wurden mit drei *L. multiflorum*- (30, 398 und 634) und einer *L. perenne*-DNA (S45) getestet. Primerkombinationen, mit denen reproduzierbare Ergebnisse erzielt wurden, die polymorph und von guter Qualität waren (saubere und hohe Peaks/Fragmente, die gleichmäßig zwischen 75 und 600 bp verteilt waren), wurden ausgewählt. Bei den 12 Inzucht-

linien handelte es sich um die fünf Kombinationen: P33M16, P33M70, P35M73, P40M54 und P44M75 (Codes nach Keygene, Wageningen/NL). Für die jeweils zwei Bulks der 84 Abstammungen und Genbankakzessionen (einschließlich der 12 Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases) waren die drei Primerkombinationen P39M16, P40M51 und P44M16 für ihre Diskriminierung ausreichend, d.h. die zwei Bulks, die derselben Abstammung angehörten, gruppierten zusammen. In der Kartierungspopulation kamen die Primerkombinationen P33M15, P33M75, P39M16, P39M61, P40M51, P44M15, P44M51, P44M59, P44M70, E33M62, E38M50, E40M50 und E41M47 zum Einsatz.

3.5.2 Genomische *Lolium*-Mikrosatelliten

Die Analysen mit genomischen Mikrosatelliten erfolgten mit modifizierten Protokollen von Kubik et al. (1999, 2001) und Jones et al. (2001) (Anhang Tab. II). Zwei Detektionssysteme wurden verglichen. Im Anhang Tab. III sind die Vorwärts- und Rückwärts-Primersequenzen der genomischen *Lolium*-Mikrosatelliten zusammen mit der Markerklasse und deren Genort aufgeführt.

Bei der Silbernitrat-Färbung wurden Mikrosatelliten-Ansätze auf 10%-igen Polyacrylamidgelen (30 cm) bei 1200 V über 2 h aufgetrennt, anschließend mit Silbernitrat gefärbt (Budowle et al. 1991), eingescannt und mit dem Programm RFLPScan V3.12 Scanalytics Software Inc. (Bullerica, MA, USA) ausgewertet.

Für die automatische Fragmentanalyse (ABI 377, PE BioSystems, Weiterstadt/D) mittels M13-verlängerten Vorwärts-Primern (Oetting et al. 1995) wurden unterschiedlich fluoreszenz-markierte Primerkombinationen (FAM, HEX, NED) zusammenpipettiert und auf 6%-igen PAGEplus Gelen (12 cm) aufgetragen. Nach 2 h bei 0,75 kV erfolgte die Auswertung der Gele, wie bei den AFLPs, mit GeneScan und Genotyper.

3.5.3 Mikrosatelliten aus Gersten-ESTs und aus Weizen

42 Mikrosatelliten-Primerkombinationen aus Gersten-ESTs (Thiel et al. 2003; die Sequenzen dieser Mikrosatellitenprimer sind noch nicht öffentlich zugänglich; Primersequenzen sind zu erfragen bei Prof. Dr. A. Graner, IPK Gatersleben.) wurden auf ihre Übertragbarkeit auf *Lolium* mit *L. perenne*-DNA (S45 bzw. S5, S10) und *L. multiflorum*-DNA (Inzuchtlinien 35, 45 bzw. 76) untersucht. Als Referenz diente die Gerstensorte ‚Barke‘. Mit dem Gersten-Protokoll wurden nur die entsprechenden Mikrosatelliten-Fragmente bei ‚Barke‘ amplifiziert, für *Lolium* mussten die Bedingungen stark verändert werden, um überhaupt Produkte zu

erhalten. Dies geschah durch das Herabsenken der Primer-Bindungstemperatur um 5°C im Vergleich zum Ausgangsprotokoll (Thiel et al. 2003) und die Zugabe von zusätzlichen 2 mM Magnesium²⁺.

23 fluoreszenz-markierte genomische Mikrosatelliten-Primerkombinationen aus Weizen (Röder et al. 1998) wurden mit ‚Chinese Spring‘ als Referenz getestet. Die Vorwärts- und Rückwärts-Primersequenzen der Weizenmikrosatelliten sind zusammen mit der Markerklasse und deren Genort im Anhang (Tab. III) aufgeführt. Die Sequenzen der geprüften Primerkombinationen Xgwm218 und Xgwm638 sind nicht publiziert (Dr. K. J. Dehmer, IPK Gatersleben, persönl. Mitteilung) und somit nicht dort aufgeführt. Für die Weizen-Mikrosatelliten mussten die Primer-Bindungstemperaturen des Ausgangsprotokolls für *Lolium* leicht verändert werden. Einige Mikrosatelliten-Primerkombinationen benötigten zusätzlich Magnesium.

3.5.4 Entwicklung von Mikrosatelliten aus EST-Sequenzen

Von der Datenbank des DKFZ Heidelberg (<http://srs.ebi.ac.uk>) wurden *Lolium*-Sequenzen im FASTA-Format herunter geladen, mit dem Programm MISA (<http://pgrc.ipk-gatersleben.de/misa/misa.html>) Mikrosatelliten-Sequenzen aus der FASTA-Datei herausgefiltert und mit Hilfe des Programmes Primer3 (http://www.genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html) Primer für beide flankierenden Enden der Mikrosatelliten entwickelt. Im Anhang Tab. III stehen die Vorwärts- und Rückwärts-Primersequenzen der EST-abgeleiteten *Lolium*-Mikrosatelliten zusammen mit der Markerklasse und deren Genort. Weitere Angaben über die EST-abgeleiteten Mikrosatelliten-haltigen Sequenzen sind im Anhang (Tab. X) aufgeführt. Der Umfang an publizierten kodominanten genomischen Mikrosatelliten bei *Lolium* ist gering. In öffentlichen Datenbanken wurden 650 frei zugängliche *Lolium*-EST-Sequenzen gefunden. Die Auswahlkriterien für die Anzahl von Wiederholungen eines Mikrosatelliten wurden deshalb auf drei bei Dinukleotid-Motiven gesetzt und Wiederholungseinheiten von einzelnen Basen zugelassen, ebenso unterbrochene/imperfekte Mikrosatelliten (interrupted SSRs).

Die Amplifikationsansätze wurden in einem Gesamtvolumen von 15 µl mit 1x Puffer (mit 1,5 mM Mg(OAc)₂), 2,0 mM Mg(OAc)₂, 0,25 U Taq Polymerase (Eppendorf, Deutschland), 2,5 nM je Primer, 20 ng genomische DNA und 150 pmol je dNTP (MBI Fermentas, St. Leon-Rot, Deutschland) angesetzt. Die Amplifikationen erfolgten unter den folgenden touch-down Bedingungen (Absenken der Primer-Bindungstemperatur pro Zyklus) in GeneAmp Cyclern PE9700 (Perkin Elmer, Weiterstadt): 3 min bei 94°C, 10 Zyklen mit 30 sec bei 94°C, 30 sec

bei 56°C (-0.5°C/Zyklus), 30 sec bei 72°C, 35 Zyklen mit 30 sec bei 94°C, 30 sec bei 49°C und 30 sec bei 72°C und einer Endelongation von 5 min bei 72°C. Die Ansätze wurden auf 1,5%-igen Agarosegelen auf ihren Amplifikationserfolg überprüft und auf 10%-igen Polyacrylamidgelen mit anschließender Silbernitrat-Färbung (Budowle et al. 1991) aufgetrennt. Die Größenbestimmung der Mikrosatelliten-Fragmente erfolgte anhand von 25 bp und 100 bp Standards (Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland) und dem Vergleich mit den vorhergesagten Größen aus dem Programm MISA.

3.5.5 STS (sequence tagged sites) - Marker aus anderen Kulturarten

16 STS-Marker (Lallemand et al. 1998), die aus anderen kultivierten Poaceae-Arten wie Reis, Mais, Gerste und Roggen entwickelt worden sind, wurden auf Polymorphismen in der Kartierungspopulation getestet. Die Auswahl der Primer-Bindungstemperaturen der Primerpaare orientierte sich jeweils an der niedrigeren Schmelztemperatur von beiden Primern. Die Vorwärts- und Rückwärts-Primersequenzen der STS-Marker stehen ebenfalls zusammen mit der Markerklasse und deren Genort im Anhang (Tab. III).

3.5.6 SNPs (single nucleotid polymorphism) aus Gersten-ESTs in *Lolium*

Gersten-SNP spezifische Primerpaare (Kota et al. 2001) wurden an einer *L. multiflorum*-DNA (Inzuchtlinien 14, 35, 45) und zwei *L. perenne*-DNAs (S45, S10 bzw. S12) getestet. Die Amplifikationsprodukte verschiedener Pflanzen, die nach Agarosegelelektrophorese dieselbe Größe hatten, wurden ausgeschnitten und mit einem Gelextraktions-Kit aufgereinigt (Qiagen, Hilden, Deutschland). Die aufgereinigten Fragmente wurden hinsichtlich ihrer Konzentration im Agarosegel überprüft. Pro Sequenzierungsamplifikation wurden für jeden Ansatz (je Vorwärts- und Rückwärts-Primer pro Fragment) 5 µl des aufgereinigten Produktes (Konzentration 100 ng) benötigt. Die Sequenzierung erfolgte mit einem MegaBASETM1000 Sequence Analyser (Amersham Biosciences, Freiburg, Deutschland). Die Sequenzen der Vorwärts- und Rückwärts-Ansätze der einzelnen DNAs wurden mit dem Programm Sequencher Version 2.1 (Gene Codes Corporation, USA) auf Sequenzierfehler untersucht und Polymorphismen zwischen den DNAs einer Primerkombination manuell gesucht. Die aus Gersten-ESTs abgeleiteten Mikrosatelliten und SNPs wurden im Rahmen des GABI-Projekts hergestellt und sind zum Großteil noch nicht öffentlich. Sequenzen sind zu erfragen bei Prof. Dr. A. Graner, IPK Gatersleben.

3.6 Datenanalyse

Alle phänotypischen Merkmale wurden zunächst einzeln verrechnet. Für die Varianzanalysen kamen mehrere Modelle zum Einsatz. Für das Pflanzenmaterial lag eine zweifache hierarchische Klassifikation mit Pflanzen innerhalb der Linien und Linien innerhalb der Abstufungen (Abstammungen) vor. Um Unterschiede zwischen den Abstammungen zu prüfen, wurden die Linien bzw. Kreuzungen als zufällige Stichprobe aufgefasst. Die Pflanzen stellen eine zufällige Stichprobe innerhalb der Linien bzw. Kreuzungen dar. Da das Modell nicht balanciert war, lassen sich die Varianzursachen nicht völlig voneinander trennen. Die F-Tests sind daher nur approximativ. Unterschiede zwischen den Linien, Sorten bzw. Kreuzungen wurden mit gestaffelten Grenzdifferenzen durch paarweisen Vergleich mit dem Student-Newman-Keuls-Test (SNK-Test) bei Merkmalen analysiert, die an Einzelpflanzen in Einzelpflanzenbeeten erfasst worden waren. Zwischen den Merkmalen wurden Korrelationen auf der Basis der Mittelwerte der Linien, Linien- und Topcross-Nachkommen und Kreuzungen berechnet. Um festzustellen, ob einseitige Abhängigkeiten zwischen Kreuzungseltern und ihren Nachkommen bestehen, wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt. Für Mittelwertvergleiche von zwei Gruppen, wie Topcrosse und Kreuzungen kam der t-Test zum Einsatz. Der t-Test wurde bei Assoziationsstudien von molekularen Markern mit morphologischen Merkmalen der 99-er Inzuchtlinien und der Kartierungspopulation verwendet, wobei die Gruppen für jedes Fragment neu gebildet wurden in Abhängigkeit vom Vorhandensein bzw. Fehlen eines Mikrosatelliten- oder AFLP-Fragments. Aus diesen Gruppen resultierten die Mittelwerte für die einzelnen phänotypischen Merkmale. Mit der ANOVA war eine Vorauswahl der für den t-Test sinnvoll erscheinenden Fragmente getroffen worden. Als Programmpaket kam SAS (Statistical Analyses System, Version 6.12, SAS Institute, Cary, NC, USA) zum Einsatz und zwar PROC GLM für unbalancierte Varianzanalysen und den SNK-Test, PROC ANOVA für die Erfassung molekularer Varianzen, PROC MEANS für Mittelwerte und Standardabweichungen, PROC CORR für die Korrelationskoeffizienten, PROC REG für die Regressionsanalyse, PROC TTEST für den Vergleich der zwei Gruppen, z.B. rostresistent und rostanfällig und PROC FREQ für die Häufigkeit der einzelnen Mikrosatellitenfragmente innerhalb einer Sorte.

Die genetische Ähnlichkeit wurde für die Mikrosatelliten nach Dice (1945) und für die AFLPs nach Jaccard (1908) berechnet. Für den Vergleich der AFLP-, Mikrosatelliten- und phänotypischen Daten der 12 Inzuchtlinien wurden alle drei Datensätze zunächst standardisiert, anschließend die Euclidschen Distanzen (Sneath und Sokal 1973) zwischen

allen möglichen paarweisen Kombinationen der Einzelpflanzen berechnet und diese mit dem Mantel-Test (Mantel 1967) verglichen. Die Transformation erfolgte für Inzuchtlinien und fünf Sorten in ein UPGMA (unweighted pair-group method of arithmetic averages) Phänogramm. Die mit AFLPs analysierten 84 Weidelgräser-Abstammungen wurden mit der PCA (principal component analysis) dargestellt. Für diese Analysen wurde das Programmpaket NTSYSpc 2.1 (Exeter Software, Setauket/USA) eingesetzt.

Die Selbstungsnachkommenschaft S45 (Tab. 2) wurde für die Kartierung benutzt. Hier flossen die polymorphen Marker (AFLPs, STSs, EST-abgeleitete und genomische Mikrosatelliten) ein. Die Phase der Marker war unbekannt. Mit den STS-Markern und genomischen Mikrosatelliten, bei denen die beobachteten Spaltungsverhältnisse den erwarteten Spaltungsverhältnissen für kodominante Marker von 1:2:1 entsprachen, wurden bei einem LOD-Grenzwert von 3 sieben Kopplungsgruppen mit Hilfe des Programms Joinmap Version 2.0 (Stam und van Ooijen 1995) erhalten. Die übrigen Mikrosatelliten und AFLPs wurden mit dem Programm Mapmanager QTXb17 (<http://mapmgr.roswellpark.org/mmQTX.html>) mit einem LOD>3 den Kopplungsgruppen zugeordnet. Markerabstände wurden nach Kosambi (Kosambi 1944) berechnet. Die graphische Darstellung der Kopplungsgruppen erfolgte mit dem Programm MapChart Version 2.1 (Voorrips 2002).

4 Ergebnisse

4.1 Genetische Parameter

4.1.1 Inzuchtlinien

Die Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases (Tab. 2) wurden im Jahr 2000 in Hohenthurm und in Thüle untersucht. Hierfür wurden die Daten zunächst hierarchisch klassifiziert. Die Abstammungen der Inzuchtlinien waren fix und die Inzuchtlinien stellten eine zufällige Stichprobe innerhalb der Abstammungen dar, jede Linie bestand aus mehreren Pflanzen. Die Ergebnisse der Varianzanalyse der Merkmale für Hohenthurm und Thüle sind in Tab. 7 aufgeführt.

Tab. 7: Varianzen der Merkmale zwischen und innerhalb der Abstammungen der 99-er Inzuchtlinien in Hohenthurm (HT) und Thüle (TH)

Merkmal	Ort	zwischen Abstammungen			zwischen Linien innerhalb von Abstammungen			Rest	
		FG	MQ	F-Wert	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ
Bestockung	HT	15	4,1	0,86	49	4,9	2,74***	1053	1,8
	TH	14	9,3	1,20	32	7,8	3,40***	681	2,3
Umfang	HT	15	125,9	1,22	49	104,8	3,55***	1052	29,5
	TH	15	86,9	1,28	41	69,4	4,58***	818	15,2
Wuchsform	HT	15	13,3	1,22	49	11,1	13,66***	1053	0,8
	TH	14	9,7	0,99	32	9,2	10,20***	681	0,9
Wuchshöhe	HT	15	1113,8	1,6	49	692,4	9,71***	1043	71,3
	TH	15	3190,9	2,59**	41	1340,1	11,15***	802	120,2
Fahnenblattlänge	HT	15	94,2	1,26	49	76,0	5,34***	1024	14,2
Fahnenblattbreite	HT	15	20,6	2,15*	49	9,7	4,72***	1025	2,1
Ährenlänge	HT	15	310,3	2,87**	49	110,2	7,65***	1025	14,4
Stand nach Winter	HT	15	3,3	3,75	49	4,2	.	.	.
Einheitlichkeit	HT	15	4,2	1,94	49	1,9	.	.	.
TKG	TH	14	0,4	0,90	34	0,5	.	.	.

*, **, *** signifikant bei P=0,05; 0,01 bzw. 0,001

Anhand der Merkmale Bestockung, Umfang und Wuchsform waren die Abstammungen an beiden Orten nicht signifikant zu unterscheiden. Während in Hohenthurm keine signifikante Unterscheidung der Abstammungen mit dem Merkmal Wuchshöhe möglich war, unterschieden sich die Abstammungen in Thüle signifikant. In Hohenthurm ließen sich anhand Fahnenblattbreite und Ährenlänge die Abstammungen signifikant unterscheiden. Dies war mit den Merkmalen Stand nach Winter und Einheitlichkeit nicht möglich. Ebenfalls keine signifikante Unterscheidung der Abstammungen war mit dem TKG in Thüle möglich. Zwischen den Linien innerhalb der Abstammungen wurden mit allen an Einzelpflanzen erfassten Merkmalen an beiden Orten signifikante Unterschiede berechnet.

Für einen Teil der Inzuchtlinien wurden mehrjährige Versuche durchgeführt. Unterschiedliche Inzuchtlinien, die den Abstammungen ‚Fastyl‘ und ‚Meribel‘ angehörten, wurden analysiert. In Tab. 8 sind die Ergebnisse dargestellt, und zwar die Stichprobenumfänge (n) und Mittelwerte (MW) für die zwei Abstammungen in beiden Jahren und die t-Tests für die Mittelwertdifferenzen zwischen Jahren, zwischen Abstammungen und Interaktion Jahr x Abstammung. Die Interaktion zeigt die Differenz der Differenzen der beiden Jahre.

Tab. 8: Variabilität von Merkmalen zwischen den Jahren 1999 und 2000, zwischen Inzuchtlinien der Abstammungen ‚Fastyl‘ und ‚Meribel‘ und der Interaktion Jahre x Abstammungen

Merkmal	Jahre 1999				Jahre 2000				t-Test		
	‚Fastyl‘		‚Meribel‘		‚Fastyl‘		‚Meribel‘		zwischen Jahren	zwischen Abstammungen	Interaktion Jahr x Abstammung
	n	MW	n	MW	n	MW	n	MW			
Bestockung	228	5,3	57	5,3	53	5,4	73	6,0	-2,43*	1,81	1,89
Umfang	228	17,2	57	14,8	22	11,3	37	9,5	6,42***	2,42*	0,39
Wuchsform	228	6,0	57	6,4	52	4,0	72	4,3	14,02***	2,54*	0,24
Wuchshöhe	228	47,7	57	43,7	51	82,7	72	80,2	-25,66***	2,33*	0,57
Fahnenblattlänge	223	15,8	55	15,0	23	25,3	37	18,3	-0,89	3,43***	1,94
Fahnenblattbreite	223	6,9	55	6,3	22	7,7	37	6,0	-0,89	5,05***	2,35*
Ährenlänge	223	23,1	55	20,1	22	16,2	36	12,9	0,28	7,27***	2,89**

*, **, *** signifikant bei P=0,05; 0,01 bzw. 0,001

Für die Merkmale Bestockung, Umfang, Wuchsform und Wuchshöhe wurden signifikante Unterschiede zwischen den Jahren festgestellt, keine signifikanten Unterschiede wurden mit den Merkmalen Fahnenblattlänge, Fahnenblattbreite und Ährenlänge beobachtet. Zwischen den Abstammungen innerhalb der Jahre wurden signifikante Unterschiede in allen Merkmalen bis auf die Bestockung festgestellt. Die Interaktion Jahr x Abstammung war nur bei Fahnenblattbreite und Ährenlänge signifikant.

Zehn Inzuchtlinien, die mit molekularen Markern charakterisiert worden waren und im Jahr 2002 noch existierten, wurden auf das Versuchsfeld des IPK Gatersleben gepflanzt. Für die Erfassung der genetischen Varianz wurden die Merkmalsdaten dieser Linien mit den Werten aus dem Jahr 2000, (es handelte sich hierbei um andere Pflanzen) als zweifaktorielle Varianzanalyse über Jahre verrechnet. Der Rest berechnet sich aus der Variation zwischen Einzelpflanzen der Linien. Die Ergebnisse sind in Tab. 9 dargestellt.

Nur für den Umfang wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Jahren beobachtet. Zwischen Inzuchtlinien konnten keine signifikanten Unterschiede bei den Merkmalen Bestockung und Umfang berechnet werden. Die Interaktion Jahre x Linien war für die Merkmale Wuchsform, Fahnenblattlänge, Fahnenblattbreite und Ährenlänge nicht signifikant.

Tab. 9: Varianzanalyse von 10 auch mit molekularen Markern charakterisierten Inzuchtlinien für die Jahre 2000 und 2002

Merkmal	zwischen Jahren			zwischen Linien			Interaktion Jahre x Linien			Rest	
	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ
Bestockung	1	21,9	13,86***	9	2,0	1,24	9	4,1	2,57***	213	1,6
Umfang	1	89,3	3,24	9	45,7	1,66	9	92,7	3,37***	212	27,5
Wuchsform	1	63,9	88,3***	9	7,0	9,63***	9	0,5	0,7	213	0,7
Wuchshöhe	1	2166,6	34,34***	9	1493,5	23,67***	9	215,9	3,42***	213	63,1
Fahnenblattlänge	1	518,6	37,41***	9	92,0	6,64***	8	18,2	1,31	198	13,9
Fahnenblattbreite	1	167,3	74,50***	9	11,2	5,00***	8	0,9	0,42	198	2,2
Ährenlänge	1	527,7	40,19***	9	83,3	6,34***	8	26,0	1,98	198	13,1

*, **, *** signifikant bei P=0,05; 0,01 bzw. 0,001

Die für Kreuzungen verwendeten Einzelpflanzen der 99-er Inzuchtlinien wurden verklont und die genetische Variabilität von Merkmalen im Jahr 2001 in drei Umwelten (Blöcken) erfasst: Block 1 – erste Wiederholung in Hohenthurm, Block 2 – zweite Wiederholung in Hohenthurm, Block 3 – Kühnfeld, Halle. Als Block 4 wurden die Ergebnisse der verklonten Ausgangspflanzen aus dem Jahr 2000 hinzugefügt. Für die Erfassung der genetischen Variabilität wurden zweifaktorielle Varianzanalysen mit vier, drei bzw. zwei Blöcken durchgeführt. Der Rest errechnet sich aus der Variation innerhalb der einzelnen Klone. Die Ergebnisse für vegetative Merkmale für 2001 sind in Tab. 10 (Block 1 bis 3) und für alle vier Blöcke in Tab. 11 dargestellt. In Tab. 12 stehen die Varianzen der Merkmale Fahnenblattlänge, Fahnenblattbreite und Ährenlänge der Klone (n=195) in den Blöcken 1 und 3 in 2001 und Block 4 in 2000. An Block 2 wurden Fahnenblattlänge, Fahnenblattbreite und Ährenlänge nicht gemessen.

Tab. 10: Varianzen von Merkmalen der Klone in den Blöcken 1, 2 und 3 (Jahr 2001)

Merkmal	zwischen Blöcken			zwischen Klonen			Interaktion Block x Klon			Rest	
	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ
Bestockung	2	221,3	225,90***	199	6,6	6,78***	360	3,1	3,15***	549	1,0
Umfang	2	3670,6	278,25***	199	90,0	6,83***	357	41,7	3,16***	536	13,2
Wuchsform	2	11,8	59,39***	199	13,2	20,54***	355	1,1	5,74***	547	0,2
Wuchshöhe	2	71468,3	1736,34***	199	0,2	13,30***	358	151,2	3,67***	539	41,2

*, **, *** signifikant bei P=0,05; 0,01 bzw. 0,001

Tab. 11: Varianzen von Merkmalen der Klone in vier Blöcken

Merkmal	zwischen Blöcken			zwischen Klonen			Interaktion Block x Klon			Rest	
	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ
Bestockung	3	163,8	167,23***	202	5,7	5,80***	544	2,6	2,62***	549	1,0
Umfang	3	3111,1	235,84***	202	89,7	6,80***	541	35,2	2,67***	536	13,2
Wuchsform	3	20,1	101,36***	202	4,0	20,27***	539	1,0	5,01***	541	0,2
Wuchshöhe	3	92654,4	2251,07***	202	451,0	10,96***	540	132,8	3,23***	539	41,1

*, **, *** signifikant bei P=0,05; 0,01 bzw. 0,001

Tab. 12: Varianzen der Merkmale Fahnenblattlänge, Fahnenblattbreite und Ährenlänge der Klone in den Blöcken 1 und 3 in 2001 und Block 4 in 2000

Merkmal	zwischen Blöcken			zwischen Klonen			Interaktion Block x Klon			Rest	
	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ
Fahnenblattlänge	2	1214,3	148,97***	195	26,3	3,23***	368	15,1	1,85***	352	8,2
Fahnenblattbreite	2	125,2	100,16***	195	3,3	2,65***	368	2,1	1,66***	352	1,3
Ährenlänge	2	760,6	100,81***	195	49,4	6,55***	368	17,2	2,29***	352	7,5

*, **, *** signifikant bei P=0,05; 0,01 bzw. 0,001. F. - Fahnenblatt

Die Ergebnisse der Tab. 10, Tab. 11 und Tab. 12 zeigen, dass die Merkmalsausprägungen signifikant sowohl von den Blöcken, den Klonen als auch von der Interaktion Block x Klon beeinflusst wurden.

4.1.2 Topcross-Nachkommen

4.1.2.1 Topcross-Nachkommen von Inzuchtlinien - Abstammungen

Es wurde geprüft, ob Abstammungen der Topcross-Nachkommen von Inzuchtlinien, in den Jahren 2000 bzw. 2001 analysiert, zu signifikanten Unterschieden in den Merkmalsausprägungen führte.

Tab. 13: Varianzen der Merkmale zwischen und innerhalb der Abstammungen der Topcross-Nachkommen, geprüft in den Jahren 2000 bzw. 2001

Merkmal	Jahr	zwischen Abstammungen			zwischen Linien innerhalb von Abstammungen			Rest	
		FG	MQ	F-Wert	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ
Bestockung	2000	14	3,5	1,26	148	2,8	3,20***	3056	0,9
	2001	15	11,0	2,74***	32	4,1	1,77***	415	2,3
Umfang	2000	14	65,7	0,04	148	36,8	2,84***	2759	13,0
	2001	15	90,5	1,21	32	76,7	1,96***	415	39,1
Wuchsform	2000	14	5,5	0,98	148	5,7	5,17***	3058	1,1
	2001	15	2,2	0,29	32	7,7	1,30***	412	5,9
Wuchshöhe	2000	14	937,7	1,80*	148	524,8	10,47***	3064	50,1
	2001	15	441,1	1,15	32	394,2	2,74***	414	143,8
Ährenlänge	2000	14	247,9	4,37***	144	56,9	4,53***	2936	12,5
	2001	15	31,7	0,66	32	49,0	3,23***	407	15,2
Stand nach Winter	2000	14	2,4	1,50	148	1,6	.	.	.
	2001	15	1,9	2,53	32	2,5	.	.	.
Einheitlichkeit	2000	14	0,8	0,67	148	1,2	.	.	.
	2001	15	3,0	1,29	32	1,3	.	.	.
Rostbefall	2001	12	0,5	3,55	23	3,6	.	.	.
Mehltaubefall	2001	14	0,3	5,17	30	5,2	.	.	.
1. Schnitt	2000	13	55,9	0,62	140	90,6	.	.	.
	2001	3	509,8	2,67	8	190,8	.	.	.
alle Schnitte	2000	13	4,3	1,72	140	2,5	.	.	.
	2001	3	233,5	1,72	8	135,5	.	.	.
Trockenmasse	2000	13	16,7	0,82	140	20,4	.	.	.
	2001	3	402,8	3,22	8	125,1	.	.	.

*, **, *** signifikant bei P=0,05; 0,01 bzw. 0,001

Dafür wurden die Daten hierarchisch klassifiziert, wobei die Topcross-Nachkommenschaften als zufällige Stichprobe innerhalb der Abstammungen (fix) betrachtet wurden. Der Rest ergibt sich aus den Einzelpflanzen der Nachkommenschaften. Die Ergebnisse sind in Tab. 13 dargestellt.

Während signifikante Unterschiede zwischen Abstammungen für die Merkmale Wuchshöhe und Ährenlänge bei den 2000-er Topcross-Nachkommen festgestellt wurden, war dies für die Bestockung bei den 2001-er Topcross-Nachkommen möglich. Bei den übrigen Merkmalen unterschieden sich die Abstammungen nicht signifikant. Zwischen den Linien wurden anhand der Merkmale Bestockung, Wuchsform, Umfang, Wuchshöhe und Ährenlänge signifikante Unterschiede zwischen beiden Topcross-Sätzen festgestellt. Für die übrigen Merkmale liegen nur Mittelwerte für Linien vor.

4.1.2.2 Topcross-Nachkommen von Inzuchtlinien - Bestäubervergleich

Einige Topcross-Nachkommenschaften waren aus Inzuchtlinien der Abstammungen ‚Fastyl‘ und ‚Meribel‘ und den Bestäubern ‚Gordo‘ (1999) bzw. ‚Ligrande‘ (2000) hervorgegangen. Um festzustellen, ob Unterschiede zwischen Bestäubern und Abstammungen bestanden, wurden Merkmalsmittelwerte der beiden Bestäubergruppen und Abstammungen mit dem F-Test auf Signifikanz geprüft. Die Interaktion ist die Differenz der Differenzen von beiden Jahren.

Tab. 14: Mittelwerte und Varianzen der Topcross-Nachkommen der Abstammungen ‚Fastyl‘ und ‚Meribel‘ von zwei Jahren (2000, 2001)

Merkmal	‚Gordo‘				‚Ligrande‘				F-Test		
	‚Fastyl‘		‚Meribel‘		‚Fastyl‘		‚Meribel‘		zwischen Bestäubern	zwischen Abstammungen	Interaktion Bestäuber x Abstammung
	n	MW	n	MW	n	MW	n	MW			
Bestockung	53	5,4	73	6,0	10	4,6	20	6,2	0,85	12,18***	14,06***
Umfang	54	15,0	72	14,9	10	15,8	20	20,9	11,56***	2,49*	2,59*
Wuchsform	59	6,3	80	6,0	10	7,0	20	7,2	14,36***	6,20	6,71
Wuchshöhe	60	58,1	80	61,0	10	108,0	20	102,0	587,09***	0,90	6,25*
Ährenlänge	57	26,7	68	23,3	9	32,2	20	27,8	38,32***	23,72***	0,42

*, **, *** signifikant bei P=0,05; 0,01 bzw. 0,001. MW - Mittelwert

Signifikante Unterschiede zwischen den Bestäubern wurden für die Merkmale Umfang, Wuchsform, Wuchshöhe und Ährenlänge festgestellt. Zwischen den Abstammungen wurden signifikante Unterschiede bei den Merkmalen Bestockung, Umfang und der Ährenlänge beobachtet. Die Interaktion zwischen Bestäubern und Abstammungen beeinflusste die Ausprägungen der Merkmale Bestockung, Umfang und Wuchshöhe signifikant.

Topcross-Nachkommen von Inzuchtlinien waren in zwei Jahren von insgesamt vier Topcross-anlagen (1999 – ‚Fastyl‘ und ‚Gordo‘; 2000 – ‚Fastyl‘ und ‚Ligrande‘) geerntet und in den jeweils folgenden Jahren (2000 bzw. 2001) in Hohenthurm phänotypisch charakterisiert worden. In den Jahren gab es 31 Abstammungen mit unterschiedlich vielen Linien. Nicht von allen Inzuchtlinien konnte ausreichend Topcrosssaatgut geerntet werden, so dass sich die Anzahl von Topcross-Nachkommenschaften im Vergleich zu den Eltern reduzierte (Tab. 2). Mit gestaffelten Grenzdifferenzen wurden die Bestäuber verglichen. In Tab. 15 sind die Ergebnisse des Student-Newmann-Keuls- (SNK-)Tests für Merkmale der vier Bestäuber mit Mittelwerten, Anzahl an Linien und Signifikanzen dargestellt.

Tab. 15: Student-Newmann-Keuls-Test für Merkmale

Merkmal	Mittelwert	SNK-Test	Anzahl Linien	Bestäuber
Bestockung	5,66	A	40	‚Ligrande‘
	5,65	A	65	‚Fastyl‘(1999)
	5,64	A	98	‚Gordo‘
	4,90	B	5	‚Fastyl‘(2000)
Umfang	20,40	A	40	‚Ligrande‘
	19,98	A	5	‚Fastyl‘(2000)
	16,04	B	64	‚Fastyl‘(1999)
	15,38	B	98	‚Gordo‘
Wuchsform	7,10	A	5	‚Fastyl‘(2000)
	6,68	B	40	‚Ligrande‘
	6,39	B	58	‚Fastyl‘(1999)
	6,22	B	98	‚Gordo‘
Wuchshöhe	107,40	A	5	‚Fastyl‘(2000)
	106,40	A	40	‚Ligrande‘
	81,74	B	98	‚Gordo‘
	80,24	B	58	‚Fastyl‘(1999)
Ährenlänge	24,58	A	57	‚Fastyl‘(1999)
	23,88	B	98	‚Gordo‘

(1999) – Topcross-Nachkommen des 1999-er ‚Fastyl‘-Topcrosses wurden bewertet, (2000) – Topcross-Nachkommen des 2000-er ‚Fastyl‘-Topcrosses wurden bewertet

Die Ergebnisse des SNK-Test zeigen, dass bei der Bestockung ‚Fastyl‘(2000) signifikant den anderen Bestäubern unterlegen, dagegen in den Merkmalen Wuchshöhe und Umfang ‚Fastyl‘(2000) und ‚Ligrande‘ den anderen zwei Bestäubern überlegen war. In der Wuchsform unterschied sich ‚Fastyl‘(2000) signifikant von den anderen Bestäubern.

4.1.3 Kreuzungen

4.1.3.1 Phänotypische Variabilität von Kreuzungsnachkommen

In Hohenthurm wurden 84 Kreuzungen phänotypisch charakterisiert, in Thüle standen weitere Genotypen der Kreuzungen in Vermehrungskabinen und wurden ebenfalls phänotypisch

beschrieben. Es wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse berechnet, mit den beiden Orten und den Kreuzungen als Varianzursache. Die Merkmale Blühtermin, Rost- und Mehлтаubefall, Stand nach Winter und Einheitlichkeit wurden nur kreuzungsweise erfasst. Die Ergebnisse stehen in Tab. 16.

Tab. 16: Varianzen der Merkmale von Kreuzungen zwischen und innerhalb der Orte

Merkmal	zwischen Orten			zwischen Kreuzungen			Interaktion Orte x Kreuzungen			Rest	
	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ
Bestockung	1	33,0	26,77***	83	5,3	4,28***	75	2,8	2,30***	1409	1,2
Umfang	1	272,2	11,69***	83	83,2	3,57***	75	51,7	2,22***	1408	23,3
Wuchsform	1	167,2	434,29***	83	5,5	14,39***	75	4,0	10,34***	1407	0,4
Wuchshöhe	1	57,6	54489,9***	83	956,2	16,61***	75	625,3	10,87***	1406	57,6
F.-blattlänge	1	2182,3	158,69***	83	86,5	6,29***	75	22,9	1,67***	1396	13,8
F.-blattbreite	1	0,1	0,01	83	11,2	6,81***	75	2,3	1,40*	1396	1,6
Ährenlänge	1	448,5	48,32***	83	133,5	14,38***	75	26,9	2,90***	1397	9,3
Blühtermin	1	218,4	85,47***	83	6,6	2,57	74	2,6	.	.	.
Rostbefall	1	0,1	0,04	83	3,9	1,60*	74	2,4	.	.	.
Mehltaubefall	1	110,9	10,53**	83	12,5	1,19	74	10,5	.	.	.
StnW	1	316,8	185,82***	83	2,1	1,22	74	1,7	.	.	.
Einheitlichkeit	1	4,5	1,91	83	3,0	1,26	74	2,4	.	.	.

*, **, *** signifikant bei P=0,05; 0,01 bzw. 0,001. StnW – Stand nach Winter, F. – Fahnen

Bestockung, Umfang, Wuchsform, Wuchshöhe, Blühtermin, Fahnenblattlänge, Ährenlänge, Mehлтаubefall und Stand nach Winter der Kreuzungen wurde durch die Orte signifikant beeinflusst, die übrigen Merkmale nicht. Signifikante Unterschiede zwischen den Kreuzungen wurden bei den Merkmalen Bestockung, Umfang, Wuchsform, Wuchshöhe, Fahnenblattlänge, Fahnenblattbreite, Ährenlänge und Rostbefall beobachtet. Die Interaktion war für alle an Einzelpflanzen erfassten Merkmale signifikant.

4.1.3.2 Vergleich von Kreuzungen und Topcross-Nachkommen der Abstammung ‚Fastyl‘

Kreuzungsnachkommen, deren einer Elter der Abstammung ‚Fastyl‘ angehörte, und Topcross-Nachkommen, deren Bestäuber ‚Fastyl‘ gewesen war, wurden mit dem t-Test verglichen. Bei den Pflanzen aus Kreuzungen handelt es sich um die Nummern 10, 11, 40, 41, 43, 46, 47, 151 und 152 (Tab. 4), bei den Pflanzen aus Topcross-Nachkommen um die Nr. 1063 und 69 (Tab. 2). Die Beobachtungen erfolgten im selben Jahr am selben Ort (Hohenthurm). Die Ergebnisse sind in Tab. 17 dargestellt.

Beim Vergleich der Mittelwerte zwischen Kreuzungen und Topcrossen wird deutlich, dass die Kreuzungen höhere Werte in den Merkmalen Bestockung und Umfang erreichten, aber nur anhand der Bestockung Kreuzungen und Topcrosse signifikant unterschieden werden

konnten. Bei der Ährenlänge waren die Kreuzungen den Topcrossen signifikant unterlegen. Die Merkmalsmittelwerte der Wuchsform und Wuchshöhe unterschieden sich praktisch nicht.

Tab. 17: Vergleich von Topcrossen und Kreuzungen der Abstammung ‚Fastyl‘

Merkmal	n	Mittelwerte Kreuzungen	Standard-abweichung	n	Mittelwerte Topcrosse	Standard-abweichung	Mittelwert-differenz	t-Wert
Bestockung	85	5,7	1,2	20	4,8	1,3	0,9	2,94**
Umfang	85	18,2	3,9	20	17,1	5,7	1,1	0,99
Wuchsform	85	6,9	1,0	20	6,9	1,0	0,0	-0,02
Wuchshöhe	85	109,6	12,0	20	110,2	12,3	-0,6	-0,20
Ährenlänge	84	28,2	3,8	19	30,9	3,1	-2,7	-2,85**

*, **, *** signifikant bei P=0,05; 0,01 bzw. 0,001

4.1.3.3 Vergleich von Topcrossen und Kreuzungen der selben Inzuchtlinien

Von vier Inzuchtlinien (221, 31, 34 und 67) wurden sowohl Kreuzungen als auch Topcrosse in Parzellen geprüft, so dass diese den entsprechenden Inzuchtlinien zugeordnet und Mittelwerten gegenüber gestellt werden konnten. Während von allen vier Inzuchtlinien jeweils nur eine Topcross-Nachkommenschaft existierte (n=1), war die Inzuchtlinie 221 in vier Kreuzungen (n=4) eingeflossen. Bei Inzuchtlinie 34 waren es zwei Kreuzungen (n=2) und bei den Inzuchtlinien 31 und 67 jeweils nur eine Kreuzung (n=1). Waren mehr als eine Kreuzung vorhanden, wurden die Mittelwerte mit den Topcrossen im t-Test verglichen. Die Ergebnisse sind für die drei Parzellenmerkmale in Tab. 18 aufgelistet.

Tab. 18: Mittelwerte, Minimum- und Maximumwerte sowie Differenzen der Mittelwerte von Topcross- und Kreuzungsnachkommen einzelner Inzuchtlinien

Linie		n	1. Schnitt			alle Schnitte			Trockenmasse		
			Mittelwert	Differenz	t-Wert	Mittelwert	Differenz	t-Wert	Mittelwert	Differenz	t-Wert
221	T	1	97,0	20,5	1,55	101,0	20,8	2,05	86,0	3,5	0,39
	K	4	76,5			80,2			82,5		
31	T	1	111,0	13,0	.	104,0	6,0	.	118,0	21,0	.
	K	1	98,0			98,0			97,0		
34	T	1	100,0	32,0	18,48*	107,0	25,0	7,22	97,0	26,5	10,12
	K	2	68,0			82,0			70,5		
67	T	1	104,0	2,0	.	108,0	10,0	.	89,0	12,0	.
	K	1	102,0			98,0			101,0		

*, **, *** signifikant bei P=0,05; 0,01 bzw. 0,001. T – Topcross, K – Kreuzung

Generell waren die Werte der Topcrosse denen der Kreuzungen überlegen. Die Differenzen zwischen den Mittelwerten der Merkmale waren, wenn mehr als eine Kreuzung zu einer Inzuchtlinie gehörten, in der Regel entsprechend höher. Nur im 1. Schnitt waren die Kreuzungen den Topcrossen signifikant unterlegen.

4.1.4 Synthetiks

4.1.4.1 Varianzen von Parzellenmerkmalen des Jahres 2003

Im Jahr 2003 erfolgten Parzellenprüfungen von Synthetiks an zwei Orten (Thüle/D) und Serexpro/F). Um festzustellen, ob signifikante Unterschiede zwischen den Orten und zwischen den Gruppen bestanden, wurde das Material zunächst in die Gruppen 1, 2, 3 und 4 unterteilt (siehe Tab. 5). Der Rest ist die Variation zwischen den Synthetiks innerhalb der Gruppen und Orte. Die Trockenmasse wurde nur in Thüle erfasst. Die Ergebnisse der Varianzanalyse sind in Tab. 19 aufgeführt.

Tab. 19: Varianzen von Parzellenmerkmalen des Jahres 2003 von Synthetiks und Kreuzungen

Merkmale	zwischen Orten			zwischen Gruppen			Interaktion Ort x Gruppe			Rest	
	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ	F-Wert	FG	MQ
1. Schnitt	1	108,0	0,81	3	77,3	0,58	3	66,5	0,69	20	133,9
alle Schnitte	1	81,2	1,10	3	49,8	0,68	3	35,1	0,48	20	73,7
Trockenmasse	0	0,0	.	3	41,8	1,93	0	0,0	.	10	21,6

*, **, *** signifikant bei P=0,05; 0,01 bzw. 0,001

Für keines der Merkmale konnten signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen gefunden werden, d.h., die Synthetikgröße spielte keine Rolle.

4.1.4.2 Vergleich von Parzellenmerkmalen – Mehrkomponenten Synthetiks und Kreuzungseltern

Es sollte geprüft werden, wie groß die Unterschiede der relativen Mittelwerte (bezogen auf ‚Ligrande‘) von Parzellenmerkmalen zwischen 4- und 5-Komponenten Synthetiks und den 2-Komponenten Synthetiks sind, die als Kreuzungen in den jeweiligen Synthetik eingeflossen waren. Dafür wurden mit den Parzellendaten der 2-Komponenten Synthetiks Mittelwerte je Synthetik (4- und 5-Komponenten Synthetik) gebildet und diese den Parzellendaten der 4- und 5-Komponenten Synthetiks gegenübergestellt. Von jedem Synthetik war nur ein Beobachtungswert je Merkmal vorhanden (n=1). Bei den Merkmalen der Kreuzungen sind zusätzlich die Anzahl an Kreuzungen, von denen Parzellenergebnisse vorliegen (es wurden nicht alle Kreuzungen in Parzellen geprüft), die Standardabweichungen sowie die Minimal- und Maximalwerte der Kreuzungen angegeben. Die Differenzen sind der Leistungsunterschied zwischen Mehrkomponenten Synthetik und 2-Komponenten Synthetik. Die Ergebnisse sind in Tab. 20 dargestellt.

Tab. 20: Relative Mittelwerte, Standardabweichung, Mittelwertdifferenzen, Minimal- und Maximalwerte von Synthetiks (n=1) und ihren Kreuzungen, die in sie eingeflossen sind

Synthetiks (n = 1) und ihren Kreuzungen, die in sie eingeschlossen sind								
Synthetik	Merkmal	Kreuzungen				Synthetik	Mittelwert-differenz	
		n	Mittelwert	Std Dev	Minimalwert	Maximalwert		Mittelwert
1	1. Schnitt	5	84,8	11,08	68,0	94,0	108,9	24,1
	alle Schnitte		89,6	3,57	84,0	93,0	103,1	13,5
	Trockenmasse		89,61	12,58	69,0	101,0	114,1	24,5
2	1. Schnitt	5	73,0	7,35	66,0	84,0	98,0	25,0
	alle Schnitte		78,4	5,41	72,0	85,0	95,5	17,1
	Trockenmasse		76,4	9,18	65,0	86,0	103,0	26,6
3	1. Schnitt	4	70,2	12,26	54,0	80,0	92,9	22,7
	alle Schnitte		77,2	6,91	66,0	84,0	93,6	16,4
	Trockenmasse		74,8	13,87	54,0	83,0	97,6	22,8
4	1. Schnitt	6	74,3	13,69	56,0	96,0	100,5	26,2
	alle Schnitte		84,2	8,73	70,0	96,0	97,6	13,4
	Trockenmasse		76,5	11,61	61,0	94,0	100,7	24,2
5	1. Schnitt	6	75,8	17,62	54,0	104,0	97,6	21,8
	alle Schnitte		80,3	11,18	66,0	100,0	97,3	17,0
	Trockenmasse		76,0	17,40	54,0	104,0	100,1	24,1
6	1. Schnitt	7	77,0	13,20	62,0	102,0	94,1	17,1
	alle Schnitte		81,0	9,45	69,0	98,0	92,8	11,8
	Trockenmasse		80,9	11,88	65,0	101,0	101,5	20,6
7	1. Schnitt	7	82,7	7,36	76,0	94,0	100,0	17,3
	alle Schnitte		85,1	4,53	79,0	92,0	97,9	12,8
	Trockenmasse		88,6	7,04	81,0	101,0	102,3	13,7

Die Mittelwerte der 4- und 5-Komponenten Synthetiks waren in allen drei Merkmalen höher als die Mittelwerte der 2-Komponenten Synthetiks. Die Standardabweichungen unterschieden sich in Abhängigkeit vom Merkmal und dem Synthetik, waren aber für das Merkmal alle Schnitte in allen Synthetiks am geringsten. Die Mittelwertdifferenzen des ersten Schnittes betrugen zwischen 21,8 und 26,2 für die 4-Komponenten Synthetiks (Synthetiks 1 bis 5). Bei den 5-Komponenten Synthetiks waren sie etwas geringer (Synthetiks 6 und 7). Im Merkmal alle Schnitte waren die Mittelwertdifferenzen von allen Synthetiks ähnlich. Die Mittelwertdifferenzen des Merkmals Trockenmasse waren bei den 5-Komponenten Synthetiks (Synthetiks 6 und 7) wie beim ersten Schnitt geringer, wobei für Synthetik 7 die geringste Differenz berechnet wurde. Werden die maximalen Merkmalswerte der 2-Komponenten Synthetiks mit dem entsprechenden Mittelwert ihres Mehrkomponenten Synthetiks verglichen, so stellt man für die Merkmale erster Schnitt und alle Schnitte fest, dass die Maximalwerte der 2-Komponenten Synthetiks geringer als die der Mehrkomponenten Synthetiks der Nummern 1, 2, 3, 4 und 7 waren. Dagegen waren bei den Mehrkomponenten Synthetiks 5 und 6 die Maximalwerte von 2-Komponenten Synthetiks für 1. Schnitt und alle Schnitte höher. Das selbe gilt für Synthetik 5 für das Merkmal Trockenmasse. Beim 5-Komponenten Synthetik Nr. 6 war die Synthetikleistung geringfügig höher als der höchste Wert des besten 2-Komponenten Synthetiks.

Der 4-Komponenten Synthetik Nr. 1 und der 5-Komponenten Synthetik Nr. 7 (Tab. 4 - letzte Spalte) waren im Vergleich mit den gleichzeitig getesteten 252 diploiden Zuchtstämmen der DSV überdurchschnittlich gut und werden nach erneuter Zwischenvermehrung im Jahr 2004 an weiteren Standorten innerhalb Europas geprüft werden.

4.2 Inzucht und Heterosis

4.2.1 Inzuchtdepression in Kreuzungseltern

Die Inzuchtdepression wurde als Differenz zwischen dem Mittel der Standardsorte ‚Ligrande‘ und dem Mittel der verklonten Kreuzungseltern (ingezüchtete Einzelpflanzen) in jeder Wiederholung erfasst. Die Inzuchtdepression war in den einzelnen Merkmalen unterschiedlich hoch (Tab. 21).

Tab. 21: Leistung (%) der Kreuzungseltern im Verhältnis zur Vergleichssorte ‚Ligrande‘

Merkmal	Hohenthurm, 1. Block	Hohenthurm, 2. Block	Kühnfeld
Bestockung	96	100	76
Umfang	105	92	74
Wuchsform	112	95	103
Wuchshöhe	102	98	90
Fahnenblattlänge	86	.	81
Fahnenblattbreite	87	.	73
Ährenlänge	79	.	87

Am Standort Hohenthurm konnte keine Minderleistung im Vergleich zum Sortenstandard ‚Ligrande‘ in den Merkmalen Bestockung, Umfang, Wuchsform und Wuchshöhe festgestellt werden. Auf dem Kühnfeld wurde hingegen ein Leistungsrückgang von 25% in den Merkmalen Bestockung und Umfang beobachtet. Dort war die Wuchshöhe um 10% geringer als bei ‚Ligrande‘. Während die Fahnenblattlänge und –breite in Hohenthurm um etwa 15% reduziert waren, war die Fahnenblattlänge im Kühnfeld um etwa 20%, die Fahnenblattbreite sogar um 27% kleiner. Die durchschnittlichen Ährenlängen in Hohenthurm erreichten 79% der Ährenlängen von ‚Ligrande‘, auf dem Kühnfeld erreichten sie 87%. Eine Erfassung der Inzuchtdepression erscheint für das Merkmal Wuchsform nicht sinnvoll.

4.2.2 Vergleich ausgewählter Inzuchtlinien und fünf Sorten

Von neun Inzuchtlinien (30, 64, 116, 221, 398, 423, 1063, 1073 und 1304, Tab. 2), die mit AFLPs und genomischen Mikrosatelliten charakterisiert worden waren, und von fünf Sorten (‚Avance‘, ‚Baltimore‘, ‚Dasas‘, ‚Fastyl‘ und ‚Rustyl‘), von denen 19 Einzelpflanzen mit

genomischen Mikrosatelliten und 16 Einzelpflanzen in zwei Bulks mit AFLPs charakterisiert worden waren, wurden noch vorhandene Pflanzen im Frühjahr 2002 ins Feld gepflanzt und phänotypisch charakterisiert (siehe Tab. 2 - Phänotyp). Für die Erfassung der genetischen Variabilität wurden die Daten hierarchisch klassifiziert, wobei die beiden Gruppen ‚Sorten‘ und ‚Inzuchtlinien‘ gebildet wurden (fix) und innerhalb der beiden Gruppen Sorten bzw. Inzuchtlinien eine zufällige Stichprobe darstellten. Der Rest ergibt sich aus den Einzelpflanzen der Linien und Sorten. Die Ergebnisse sind in Tab. 22 dargestellt. Im Anhang Tab. IV werden die Mittelwerte und Standardabweichungen von Sorten und Inzuchtlinien angegeben.

Tab. 22: Mittelwerte und Varianzen der Merkmale zwischen und innerhalb von Inzuchtlinien (n=10) und Sorten (n=5)

Merkmal	Gruppenmittelwerte		Mittelwert-differenz	F-Wert	
	Sorten	Inzuchtlinien		zwischen Gruppen	innerhalb Gruppen
Bestockung	3,2	4,5	-1,3	9,60**	3,88***
Umfang	11,9	12,6	-0,7	0,03	3,73***
Wuchsform	7,8	7,5	0,3	0,22	4,09***
Wuchshöhe	52,0	57,2	-5,2	0,82	3,18***
Fahnenblattlänge	13,4	12,2	1,2	1,31	2,81***
Fahnenblattbreite	6,3	5,1	1,2	5,48*	3,61***
Ährenlänge	20,2	17,3	2,9	5,39*	4,06***
Blattfarbe	6,0	4,4	1,6	7,89*	8,25***

*, **, *** signifikant bei P=0,05; 0,01 bzw. 0,001

Die beiden Gruppen ‚Inzuchtlinien‘ und ‚Sorten‘ unterschieden sich signifikant in den Merkmalen Bestockung, Blattfarbe, Fahnenblattbreite und Ährenlänge bei P=0.05. Mit den übrigen Merkmalen konnten die Gruppen nicht voneinander unterschieden werden. Zwischen den einzelnen Sorten und zwischen den Inzuchtlinien konnten signifikante Unterschiede bei allen Merkmalen beobachtet werden.

Werden die Mittelwerte der einzelnen Sorten und Linien verglichen, fällt bei der Bestockung auf, dass die Sorten, mit Ausnahme von ‚Baltimore‘, geringer bestockt waren als die Inzuchtlinien. Diese Tendenz bleibt auch bei der Umfangsmessung erhalten. Der Korrelationskoeffizient zwischen den beiden Merkmalen beträgt $r=0,71$. Bei der Wuchshöhe waren die Sorten etwa gleich, wobei die Standardabweichung zum Teil sehr groß war. Die Inzuchtlinien 1063 und 116 waren länger (75 cm bzw. 64 cm) als die längste Sorte (‚Baltimore‘) mit 59 cm. Die Sorten waren bezüglich Blattfarbe relativ dunkler als die Inzuchtlinien, von denen die Linien 30, 398 und 423 von sehr hellem Typ waren. In Abb. 1 sind die Ergebnisse der Blattfarbenbonitur als Boxplot dargestellt, die Mittelwerte der Merkmale sind im Anhang (Tab. IV) aufgeführt.

Die Fahnenblätter der Inzuchtlinie 64 waren signifikant kürzer als die Fahnenblätter von 1063, 1073, ‚Avance‘ und ‚Baltimore‘. Signifikant schmaler als ‚Baltimore‘ waren die Fahnenblätter der Inzuchtlinien 1304 und 64. Im allgemeinen waren die Ähren der Sorten länger als die der Inzuchtlinien. Die Sorte ‚Fastyl‘ war mit 22,47 cm am längsten, ihr folgte aber mit 21,86 cm Inzuchtlinie 1063. Einmaliges Selbstes einer ‚Fastyl‘-Pflanze hat in den Nachkommen (1063) zu keiner Inzuchtdepression geführt.

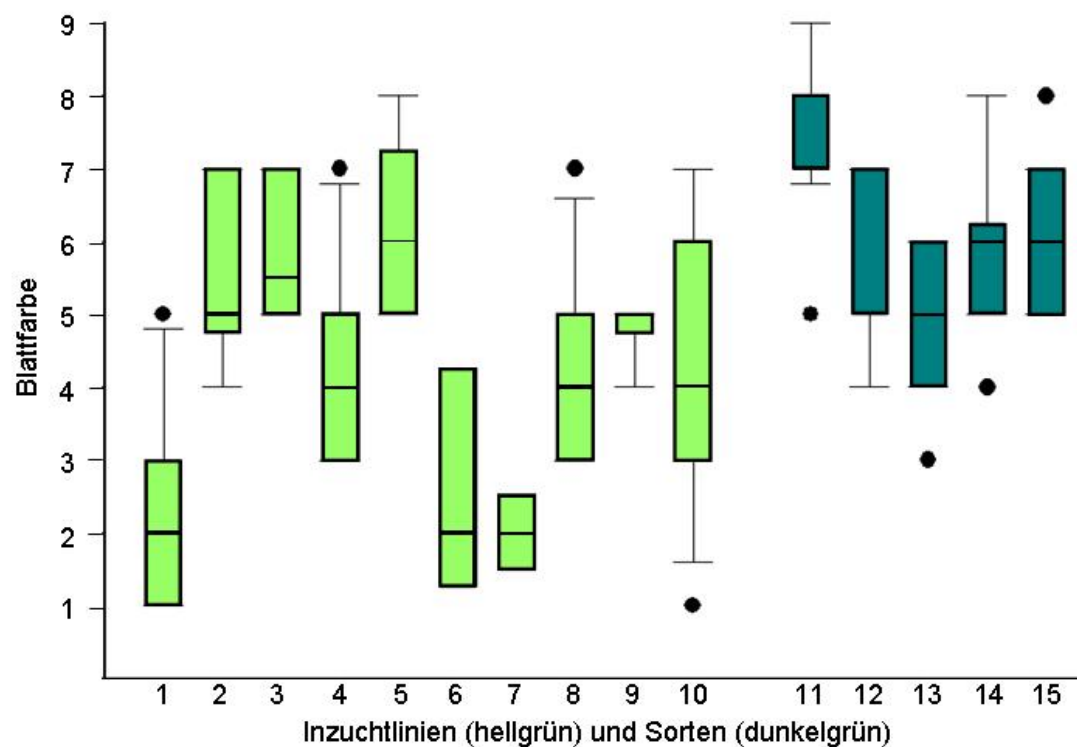


Abb. 1: Boxplotdarstellung der Blattfarbenbonitur

Y-Achse - Boniturnoten (1 – hellgrün, 9 – dunkelgrün), X-Achse – Inzuchtlinien (hellgrün: 1 – 30, 2 – 64, 3 – 116, 4 – 221, 5 – 286, 6 – 398, 7 – 423, 8 – 1063, 9 – 1073, 10 – 1304) und Sorten (dunkelgrün: 11 – ‚Avance‘, 12 – ‚Baltimore‘, 13 – ‚Dasas‘, 14 – ‚Fastyl‘, 15 – ‚Rustyl‘).

4.2.3 Heterosis bei Topcross-Nachkommen

Heterosis wurde erfasst als die Mehrleistung der Nachkommen (F_1) bezogen auf das Elternmittel. Für die Erfassung von Heterosis wurden die Mittelwerte, Spannweiten und Mittelwertdifferenzen von Merkmalen der 98-er ($n=141$) und 99-er ($n=48$) Inzuchtlinien und ihren Topcross-Nachkommen ermittelt und verglichen. Die Ergebnisse sind in Tab. 23 aufgeführt.

Die Topcross-Nachkommen waren in allen Merkmalen den Inzuchtlinien signifikant überlegen. Die Überlegenheit der Topcrosse gegenüber ihren ingezüchteten Eltern wurde auch mit den ausgewählten Abstammungen ‚Fastyl‘ und ‚Meribel‘ festgestellt, obwohl sie nicht für alle

Merkmale signifikant waren. Anschließend wurden die Inzuchtlinien und die Topcross-Nachkommen der unterschiedlichen Jahre zusammengefasst und die Heterosis berechnet. Die höchste Heterosis wurde für das Merkmal Umfang festgestellt, gefolgt von Wuchsform und Wuchshöhe. Die geringste Heterosis wurde für das Merkmal Bestockung beobachtet (Anhang Tab. VI).

Tab. 23: Mittelwerte und Spannweite der Topcross-Nachkommen und der Inzuchtlinien

Merkmal	Topcross		Inzuchtlinie		Mittelwert-differenz	t-Test
	Mittelwert	Spannweite	Mittelwert	Spannweite		
Bestockung (i98)	5,7	4,5-6,8	5,3	3,3-7,6	0,4	4,81***
Bestockung (i99)	5,6	4,4-7,3	4,8	3,4-6,4	0,8	5,14***
Umfang (i98)	15,7	12,6-23,4	9,9	4,9-16,0	5,8	24,40***
Umfang (i99)	20,4	15,2-27,4	9,9	5,7-14,3	10,5	20,43***
Wuchsform (i98)	6,3	4,0-8,8	4,2	1,8-8,1	2,1	18,51***
Wuchsform (i99)	6,8	5,6-7,9	6,3	3,6-7,6	0,5	3,15**
Wuchshöhe (i98)	106,5	92,1-122,5	73,2	47,5-95,8	33,3	25,12***
Wuchshöhe (i99)	81,2	58,7-107,3	60,3	39,7-70,9	20,9	19,44***

*, **, *** signifikant bei P=0,05; 0,01 bzw. 0,001

4.2.4 Heterosis bei Kreuzungsnachkommen

Die Heterosis ergibt sich aus der Differenz zwischen Kreuzungs- und Elternmittel, bezogen auf das Elternmittel. Die Mittelwerte wurden im t-Test auf Signifikanz geprüft. Dies ist in Tab. 24 für die Kreuzungen, die an beiden Orten charakterisiert wurden, dargestellt. Ebenfalls angegeben sind die Minimal- und Maximalwerte (Spannweite) der Kreuzungen und Inzuchtlinien.

Tab. 24: Mittelwerte und Spannweite von Kreuzungen (Mittel über beide Orte) und Eltern

Merkmale	Kreuzungen		Eltern		Mittelwert-differenz	t-Test
	Mittelwert	Spannweite	Mittelwert	Spannweite		
Bestockung	5,5	3-7	6,3	3-9	-0,8	-5,90***
Umfang	18,2	11-24	20,3	7-41	-2,1	-3,22***
Wuchsform	6,6	5-9	6,7	5-9	-0,1	-0,19
Wuchshöhe	101,1	73-119	50,5	30-75	50,6	38,95***
Blühtermin	56,9	55-62	40,6	37-46	16,3	57,37***
Rostbefall	2,6	1-4	2,1	1-4	0,5	3,55***
Mehltaubefall	1,7	1-4	1,3	1-4	0,4	3,13***
Fahnenblattlänge	19,0	14-24	15,4	9-23	3,6	6,81***
Fahnenblattbreite	8,4	7-11	6,9	3-10	1,5	8,50***
Ährenlänge	26,3	4-37	21,4	8-37	4,9	7,26***

*, **, *** signifikant bei P=0,05; 0,01 bzw. 0,001

Für die Merkmale Bestockung und Umfang waren die Eltern den Kreuzungen signifikant überlegen (Korrelationskoeffizient zwischen beiden Merkmalen betrug $r=0,60$). Beim Betrachten der Mittelwerte, Minimal- und Maximalwerte, Standardabweichungen sowie Differenzen der Merkmale von den Kreuzungen in Hohenthurm und in Thüle und ihren

ingezüchteten Eltern stellt man fest, dass die Kreuzungen an beiden Orten geringer bestockt und weniger dick als ihre Eltern waren (Anhang Tab. V). Nur beim Merkmal Wuchsform wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen Eltern und Nachkommen festgestellt, obwohl die Kreuzungsnachkommen in Thüle geringfügig höher waren (Anhang Tab. V). Bei den Merkmalen Wuchshöhe, Ährenlänge, Fahnenblattbreite und Fahnenblattlänge waren die Kreuzungen signifikant besser (leistungsstärker) als die Eltern. Dies gilt im besonderen für die Wuchshöhe, in der die Kreuzungen an beiden Orten ihren Eltern deutlich überlegen waren (Anhang Tab. V). Die Fahnenblattbreite war mit 8,4 cm an beiden Orten gleich breit und den Eltern überlegen. Dagegen waren Rost- und Mehltaubefall in den Kreuzungen höher als in den Eltern. Signifikante Unterschiede traten auch im Blühtermin auf, die Kreuzungen blühten erheblich später als die Eltern. Bei den Merkmalen Fahnenblattlänge und Ährenlänge waren die Nachkommen an beiden Orten den Eltern überlegen, wobei die Thüler Mittelwerte geringfügig höher lagen. Die Standardabweichungen der Eltern waren bei den Merkmalen Bestockung, Umfang, Wuchsform, Fahnenblattlänge, Fahnenblattbreite und Ährenlänge an beiden Orten höher im Vergleich zu den Kreuzungen. Nur bei der Wuchshöhe war die Standardabweichung der Hohenthurmer Kreuzungen höher als die der Eltern. Die Standardabweichungen der Kreuzungen von Thüle waren am geringsten. Beim Vergleich der Streuung für Eltern und Kreuzungen wird deutlich, dass die Streuung bei den Eltern erheblich größer sind als bei den Kreuzungen, so dass durch einmaliges Selbstes die Variabilität der resultierenden Nachkommen (Inzuchtlinien) offensichtlich erhöht wird.

Die graphische Darstellung der Leistungsunterschiede zwischen den 84 Kreuzungen und den dazugehörenden Eltern von Hohenthurm ist in Abb. 2 gezeigt und basiert auf den Mittelwertdifferenzen von Merkmalen zwischen Kreuzungen und Eltern, die hierfür nach der Größe der berechneten Differenzen geordnet wurden. Y-Werte > 0 entsprechen den Mehrleistungen bzw. beim Krankheitsbefall mit Rost und Mehltau einem stärkeren Befall der Kreuzungen im Vergleich zu den Eltern. Y-Werte < 0 bedeuten, dass die Kreuzungen geringere Leistungen bzw. weniger stark mit Rost und/oder Mehltau befallen waren als die Eltern.

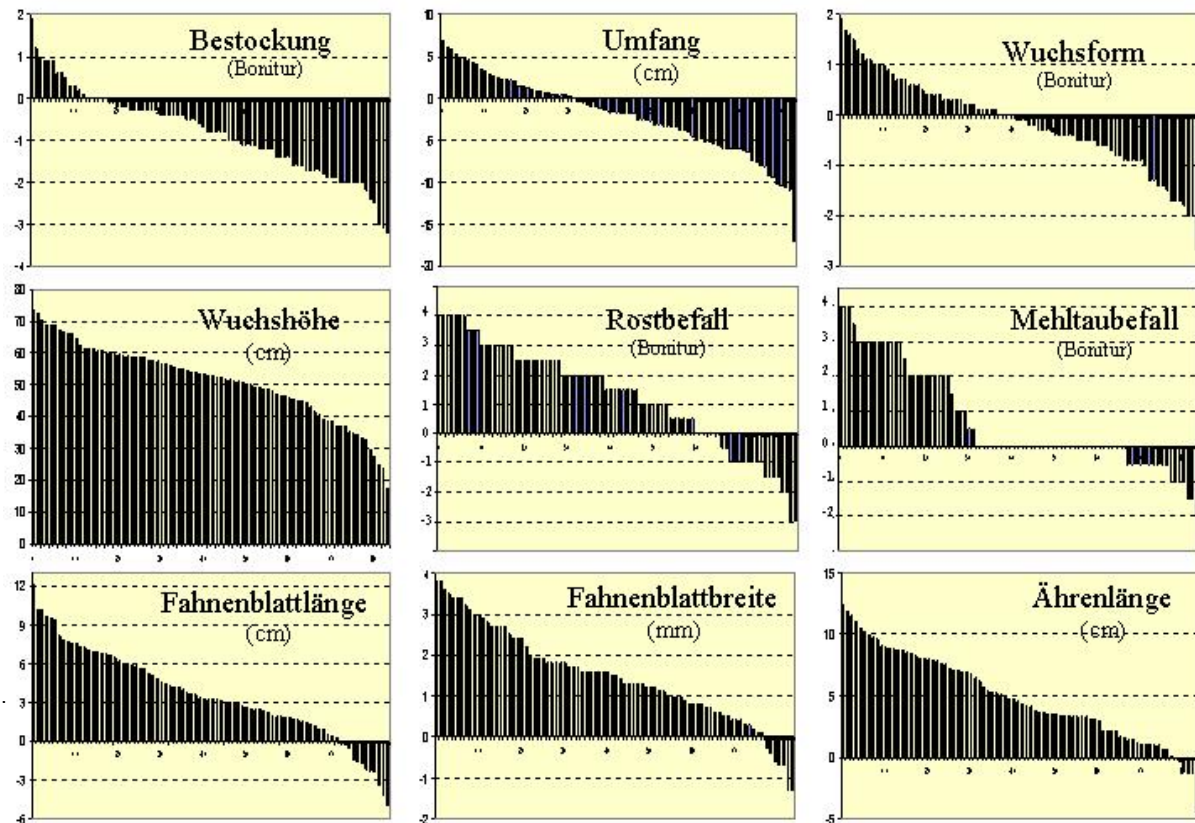


Abb. 2: Darstellung der Leistung der Kreuzungen für Merkmale, (y=0 entspricht der Leistung des Elternmittels)

4.3 Korrelationen zwischen Merkmalen

4.3.1 Korrelationen zwischen Blöcken für Merkmale der Klone

Die Varianzanalysen von Merkmalen der Klone über mehrere Blöcke (=Umwelten) hatte hoch signifikante Einflüsse der Umwelt auf die Merkmalsausprägungen der Klone ergeben. Mittels Korrelationsanalyse sollte festgestellt werden, ob zwischen Blöcken für die einzelnen Merkmale Zusammenhänge bestehen. Die Ergebnisse sind in Tab. 25 aufgeführt.

Die Korrelationen zwischen den Blöcken waren teilweise sehr lose. Bei den Merkmalen Bestockung, Fahnenblattlänge und Fahnenblattbreite wurden Korrelationskoeffizienten von etwa $r=0,20$ festgestellt. Eine Ausnahme bildet bei der Bestockung der Korrelationskoeffizient zwischen Block 1 und 2, der doppelt so hoch wie zwischen den übrigen Blockpaaren war. Bei den Merkmalen Umfang, Wuchsform und Wuchshöhe waren die Korrelationen zwischen den Blöcken 1 und 2 ebenfalls im Vergleich zu den anderen Blockpaaren am höchsten. Die Korrelationskoeffizienten des Merkmals Wuchsform waren im Vergleich zu den übrigen Merkmalen am höchsten. Die Korrelationskoeffizienten des Umfangs und der Wuchshöhe lagen zwischen denen der Wuchsform und denen der Merkmale Bestockung, Fahnenblattlänge und Fahnenblattbreite. Die Zusammenhänge zwischen den

Blöcken beim Merkmal Ährenlänge waren ähnlich wie bei der Wuchsform. An Block 2 wurden keine Fahnenblattlänge, Fahnenblattbreite und Ährenlänge gemessen.

Tab. 25: Korrelationen zwischen Blöcken bei Klonen ingezüchteter Einzelpflanzen (Block 1 – Hohenthurm 2001, Block 2 – Hohenthurm 2001, Block 3 – Kühnfeld 2001, Block 4 – ‚Ausgangspflanze‘ Hohenthurm 2000)

Merkmal	Kombination der Blöcke											
	1 mit 2		1 mit 3		1 mit 4		2 mit 3		2 mit 4		3 mit 4	
	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P
Bestockung	0,42	0,0001	0,14	0,0059	0,18	0,0128	0,15	0,0081	0,19	0,0129	0,22	0,0030
Umfang	0,39	0,0001	0,16	0,0022	0,29	0,0001	0,21	0,0023	0,34	0,0001	0,30	0,0001
Wuchsform	0,59	0,0001	0,30	0,0001	0,44	0,0001	0,48	0,0001	0,54	0,0001	0,32	0,0001
Wuchshöhe	0,60	0,0001	0,36	0,0001	0,23	0,0023	0,37	0,0001	0,26	0,0012	0,40	0,0001
F.-länge	.	.	0,23	0,0001	0,19	0,0121	.	.	.	.	0,12	0,1004
F.-breite	.	.	0,17	0,0019	0,10	0,1769	.	.	.	.	0,15	0,0362
Ährenlänge	.	.	0,44	0,0001	0,41	0,0001	.	.	.	.	0,32	0,0001

F. -Fahnenblatt

4.3.2 Korrelationen zwischen Inzuchtlinien und Topcross-Nachkommen

Um festzustellen, ob sich anhand von Einzelpflanzenmerkmalen der Inzuchtlinien auf Einzelpflanzen- (Tab. 26) und Parzellenmerkmale (Tab. 27) ihrer Topcross-Nachkommen schließen lässt, wurden für die Merkmale entsprechende Korrelationen zwischen den Inzuchtlinien und ihren Topcross-Nachkommen berechnet.

Tab. 26: Korrelationskoeffizienten nach Pearson zwischen Inzuchtlinien und ihren Topcross-Nachkommen (Einzelpflanzen)

Merkmal	FG	Korrelationskoeffizient	P
Bestockung	46	0,28	0,054
Umfang	46	0,49	<0,001
Wuchsform	46	0,49	<0,001
Wuchshöhe	46	0,41	0,004
Ährenlänge	46	-0,28	0,054

Die Ergebnisse zeigen bei Einzelpflanzenmerkmalen zwischen Inzuchtlinien und Topcross-Nachkommen eine schwach negative Korrelation für das Merkmal Ährenlänge ($r=-0,28$) und eine schwach positive Korrelation für die Bestockung ($r=0,28$). Die Zusammenhänge bei Umfang und Wuchsform waren mit jeweils $r=0,49$ (beide Merkmale) erheblich enger. Inzuchtlinien und Topcross-Nachkommen waren auch bei der Wuchshöhe positiv korreliert ($r=0,41$).

Relativ hohe positive Zusammenhänge bestanden zwischen dem 1. Schnitt und den Einzelpflanzenmerkmalen der Inzuchtlinien (Tab. 27). Noch enger waren die Beziehungen zwischen der Wuchsform und Wuchshöhe mit dem Merkmal alle Schnitte, aber die Ährenlänge war stark negativ korreliert. Keine Korrelation wurde festgestellt zwischen der Trockenmasse und

der Ährenlänge, doch die Fahnenblattbreite war negativ mit der Trockenmasse korreliert. Die Zusammenhänge zwischen Einzelpflanzenmerkmalen der Topcrosse und ihren Parzellenergebnissen waren bis auf die Wuchsform alle positiv, aber nicht so hoch wie die der Inzuchtlinien. Zu beachten ist allerdings, dass n sehr klein und damit ein Signifikanztest bedeutungslos ist.

Tab. 27: Ausgewählte Korrelationen zwischen Einzelpflanzenmerkmalen der 99-er Inzuchtlinien und Topcross-Nachkommen mit relativen Parzellenergebnissen (n=5)

Merkmal	Inzuchtlinien			Topcross-Nachkommen		
	1. Schnitt	alle Schnitte	Trockenmasse	1. Schnitt	alle Schnitte	Trockenmasse
Wuchsform	0,84	0,93	0,67	0,16	0,70	-0,19
Wuchshöhe	0,78	0,96	0,62	0,83	0,50	0,28
Fahnenblattbreite	0,68	0,57	-0,65	.	.	.
Ährenlänge	-0,57	-0,87	0,01	0,66	0,35	0,57

4.3.3 Korrelationen zwischen Orten der Kreuzungen und Inzuchtlinien

Kreuzungsnachkommenschaften waren an zwei Orten analysiert worden. Deshalb wurden sowohl die Zusammenhänge der Merkmale über die zwei Orte als auch die Zusammenhänge zwischen den Kreuzungsnachkommen der zwei einzelnen Orten und den ingezüchteten Eltern untersucht. Die Verrechnung erfolgte mit den Elternmittel und den Mittelwerten der Kreuzungsnachkommen von beiden Orten (Hohenthurm, Thüle). Die Signifikanzschwelle der Korrelationskoeffizienten war bei n=84 $r=\pm 0,15$ bzw. bei n=76 $r=\pm 0,23$. Die Ergebnisse sind in Tab. 28 gegenüber gestellt.

Zwischen den Orten wurden für die Merkmale Blühtermin, Fahnenblattbreite und –länge Korrelationskoeffizienten zwischen $r=0,57$ und $r=0,62$ berechnet. Die höchste Korrelation zwischen den Orten wurde für die Ährenlänge mit $r=0,69$ festgestellt. Während in Hohenthurm der Blühtermin positiv mit der Ährenlänge ($r=0,40$) korreliert war, bestand in Thüle praktisch kein Zusammenhang ($r=0,12$). Die Korrelationen der übrigen Merkmale zwischen den Orten waren schwach.

Die Korrelationskoeffizienten zwischen Eltern und Kreuzungsnachkommen an den einzelnen Orten waren für alle Merkmale gering. Die Koeffizienten von beiden Orten unterscheiden sich nur für die Merkmale Blühtermin und Ährenlänge wesentlich. Sie waren in Hohenthurm für beide Merkmale mehr als doppelt so hoch.

Tab. 28: Korrelationskoeffizienten von Merkmalen zwischen Orten der Kreuzungsnachkommen und zwischen Kreuzungsnachkommen und ingezüchteten Eltern für Hohenthurm (n=84) und Thüle (n=76)

Merkmal	zwischen Orten (n=76)	Kreuzungen	
		Hohenthurm - Inzuchtlinien	Thüle - Inzuchtlinien
Bestockung	0,30	0,05	0,12
Umfang	0,22	0,09	0,06
Wuchsform	0,17	0,25	0,17
Wuchshöhe	0,18	0,12	0,18
Fahnenblattlänge	0,60	-0,01	-0,01
Fahnenblattbreite	0,62	0,13	0,16
Ährenlänge	0,69	0,37	0,18
Blühtermin	0,57	0,49	0,17
Rostbefall	0,04	-0,04	-0,02
Mehltaubefall	0,00	0,13	0,15

Krankheiten wie Rost und Mehltau können die Frisch- und Trockenmasseleistungen stark beeinträchtigen. Die Korrelationskoeffizienten für weitere Einzelpflanzen- und Parzellenmerkmale mit diesen beiden Krankheiten sind in Tab. 29 dargestellt. Korrelationen bei n=84 sind signifikant ab $r=\pm 0,15$ bzw. bei n=64 ab $r=\pm 0,25$.

Tab. 29: Korrelationen zwischen Merkmalen der Kreuzungen

Merkmal	Anzahl (n)	Mehltaubefall	Rostbefall
Bestockung	84	0,26	0,97
Umfang	84	0,21	0,88
Wuchshöhe	84	0,37	0,89
Stand nach Winter	84	0,61	0,60
alle Schnitte	64	-0,49	0,35
Trockenmasse	64	-0,64	0,28

Linien, die gut überwintert hatten, waren anfälliger gegenüber Mehltau- und Rostbefall ($r=0,61$ und $r=0,60$). Während zwischen dem Mehltaubefall und der Bestockung, der Wuchshöhe bzw. dem Umfang die Zusammenhänge lose waren, wurden hohe positive Korrelationen zwischen dem Rostbefall und diesen Merkmalen festgestellt. Der Mehltaubefall, der an Einzelpflanzen linienweise bewertet wurde, war mit der Frischmasse (alle Schnitte) der Parzellen negativ ($r=-0,49$) korreliert. Einen noch stärkeren negativen Einfluss scheint der Mehltaubefall auf die Trockenmasse zu haben ($r=-0,64$). Im Gegensatz dazu wurden zwischen Frischmasse und Rostbefall ($r=0,35$) und zwischen Rostbefall und Trockenmasse ($r=0,28$) nur schwache Korrelationen beobachtet, und diese waren positiv.

4.3.4 Korrelationen der synthetischen Sorten

Die 2-, 4-, 5- und 7-Komponenten Synthetiks (Tab. 5, S. 28) wurden im Jahr 2003 in Thüle/D und Serexpro/F auf die Parzellenmerkmale 1. Schnitt und alle Schnitte untersucht und Korrelationen zwischen Orten berechnet (n=14). Für die Korrelationsanalysen zwischen Parzellenmerkmalen wurden die Merkmalsmittelwerte von allen Synthetiks (n=78) und Topcrossen (n=5) zusammengefasst (n=83) und Korrelationen nach Pearson berechnet. Die Ergebnisse sind in Tab. 30 dargestellt.

Tab. 30: Korrelationskoeffizienten zwischen Parzellenmerkmalen und Orten

Merkmale	n	alle Schnitte	Trockenmasse	n	zwischen Orten	P
erster Schnitt	83	0,91	0,93	14	0,39	0,1640
alle Schnitte	83	.	0,79	14	0,32	0,2678

Die Zusammenhänge zwischen den Orten für beide Merkmale waren lose, die Korrelationskoeffizienten zwischen dem ersten Schnitt und den anderen beiden Merkmalen sehr eng. Ebenfalls hoch korreliert waren alle Schnitte und Trockenmasse.

Es sollte untersucht werden, ob zwischen dem ersten Schnitt, allen Schnitten und der Trockenmasse der 4- und 5-Komponenten Synthetiks Zusammenhänge mit den Parzellenergebnissen von den Kreuzungen, aus denen sie hervorgegangen sind und die in der Syn-2 geprüft wurden (2-Komponenten Synthetiks), bestanden. Hierfür wurden die Parzellenergebnisse der 2-Komponenten Synthetiks herausgesucht, Gesamtmittelwerte für die einzelnen Merkmale für jeden Synthetik gebildet und eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Die Korrelationskoeffizienten stehen in Tab. 31.

Tab. 31: Korrelationen zwischen Parzellenmerkmalen der 4- und 5-Komponenten Synthetiks und ihren 2-Komponenten Synthetiks, n=7

Merkmal	Kreuzungen 1. Schnitt	Kreuzungen alle Schnitte	Kreuzungen Trockenmasse
Synthetiks 1. Schnitt	0,43	0,53	0,62
Synthetiks alle Schnitte	0,40	0,41	0,35
Synthetiks Trockenmasse	-0,25	-0,03	0,43

Fettgedruckt – Korrelationskoeffizienten zwischen Kreuzungen und Synthetiks für dieselben Merkmale

Die Zusammenhänge beim ersten Schnitt, allen Schnitten und der Trockenmasse zwischen Mehrkomponenten Synthetiks und 2-Komponenten Synthetiks waren bei nur kleinem Stichprobenumfang (n=7) mäßig.

4.4 Heritabilität im engeren Sinne

Bei Fremdbefruchtern wie *L. multiflorum* ist die Heritabilität im engeren Sinne (V_A/V_P) entscheidend für den Selektionserfolg und wurde über eine Eltern-Nachkommen-Regression erfasst. Die Ergebnisse sind in Tab. 32 dargestellt.

Tab. 32: Heritabilität von agronomischen Merkmalen bei *L. multiflorum*, erfasst über Eltern-Nachkommen-Regression

Merkmal	Regressionskoeffizient (b)	
	Hohenthurm	Thüle
Bestockung	0,249	0,157
Umfang	0,097	0,078
Wuchsform	0,331	0,281
Wuchshöhe	0,153	0,121
Fahnenblattlänge	0,146	0,014
Fahnenblattbreite	0,275	0,234
Ährenlänge	0,518	0,252
Blühtermin	0,478	0,607
Rostbefall	0,281	0,045
Mehltaubefall	0,230	0,064

Die Regressionskoeffizienten waren in Hohenthurm bis auf das Merkmal Blühtermin höher als in Thüle. Die Heritabilitätskoeffizienten der Wuchshöhe und des Umfangs sind an beiden Orten von ähnlicher Größe und niedrig. Fahnenblattlänge, Mehлтаubefall und Bestockung sind in Hohenthurm erheblich, Wuchsform und Fahnenblattbreite geringfügig höher als in Thüle. Der Heritabilitätskoeffizient des Merkmals Ährenlänge ist in Hohenthurm doppelt so hoch wie der in Thüle.

4.5 Rosttests

Um Inzuchtlinien des Welschen und Deutschen Weidelgrases auf ihr Rostverhalten zu prüfen und eventuell einen Marker zu finden, der mit Rostresistenz oder -anfälligkeit gekoppelt ist, wurden Inzuchtlinien in Blattstückentests getestet. Die Boniturergebnisse der Inzuchtlinien und der Kartierungspopulation (S45) sind im Anhang (Tab. VII bzw. Tab. VIII) aufgeführt und bedeuten: Note 0c - keine Pusteln und Sporen, Pflanze ist resistent; 1 und 2 – geringe Sporulation, partielle Resistenz; 3 und 4 – starke Sporulation, anfällig.

Während bei den Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases nur eine Linie als resistent, alle anderen als anfällig eingestuft wurden, wurde das Rosttest-Verfahren für die Inzuchtlinien von *L. perenne* in Frage gestellt, da zwischen den Wiederholungen Unterschiede im Verhalten gegenüber Rost beobachtet wurde (Anhang Tab. VII). Die Eltern S5, S8 und S45 wurden in

einer Wiederholung als resistent, in einer zweiten Wiederholung als partiell resistent (Note 1) klassifiziert. Die Eltern S12, S16 und S26 waren mit 0c als resistent, der Elter S10 in beiden Wiederholungen mit 1 als partiell resistent bewertet worden. Während die Nachkommen der S5, S8, S16, S26 und S45 alle rostresistent waren, erhielten vier Nachkommen des Elters S12 in einer Wiederholung die Note 1. Die Intensität der Sporulation der Nachkommen von S10 wurde mit 1, 2 bzw. 3 bewertet, wobei die Boniturnoten zwischen den Wiederholungen nicht gleich waren. Beispielsweise wurde die Pflanze S10-18 in der ersten Wiederholung als resistent (Note 0c) und in der zweiten Wiederholung als partiell resistent (Note 2) bewertet. Eine Wiederholung des Tests wurde nicht durchgeführt, weil die DSV mit diesem Testverfahren ebenfalls schon zu unterschiedlichen Boniturergebnissen gekommen war.

Für die verklonten und noch existierenden *L. perenne*-Pflanzen der Kartierungspopulation wurde der Rosttest im Januar 2003 durchgeführt. Zwei Einzelpflanzen (Nr. 119, 120) waren in beiden Wiederholungen anfällig (Note 3), Pflanze-Nr. 165 zeigte in beiden Wiederholungen partielle Resistenz (Note 1) (Anhang Tab. VIII). Pflanze-Nr. 131 wurde in einer Wiederholung mit 2, die Pflanzen-Nr. 124, 145, 149 und 171 in einer Wiederholung mit 1 bonitiert, die jeweils 2. Wiederholung zeigte keinen Befall (0c). Pflanzen-Nr. 63 und 169 wurden in einer Wiederholung mit 1 bewertet, die zweite Wiederholung war aufgrund zu starker Vergilbung nicht auswertbar. In beiden Wiederholungen nicht auswertbar (.) waren die Pflanzen-Nr. 43, 50, 60, 125, 129, 152, 170 und 178. Alle übrigen Pflanzen waren aufgrund des Tests in mindestens einer Wiederholung resistent.

Bei *L. multiflorum* waren bis auf die Linie 1063 der Abstammung ‚Fastyl‘ alle Linien in beiden Wiederholungen hochgradig anfällig (Note 3). Die Ergebnisse der Einzelpflanzen der Wiederholungen sind in dieser Arbeit nicht dargestellt.

4.6 Isoenzymuntersuchungen

4.6.1 Inzuchtlinien des Deutschen und des Welschen Weidelgrases

Zehn Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases und 76 Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases wurden mit Pgi, Acp und Got auf Fremdeinstäubung untersucht. Bei dem Isoenzym-system Got waren keine Unterschiede im Bandenmuster der Arten von *L. multiflorum* und *L. perenne* und auch nicht innerhalb der Inzuchtlinien sichtbar, so dass das Material mit diesem Isoenzym-system nicht weiter untersucht wurde. Bei *Acp2* gab es drei mögliche Allele, bei *Pgi2* waren es fünf. Die Benennung der Allele erfolgte in Anlehnung an Eickmeyer (1994). In

Abb. 3 sind zwei Beispiele für sechs auf Fremdeinstäubung getestete Kreuzungsnachkommen und ihre Eltern für die Loci *Acp2* und *Pgi2* dargestellt.

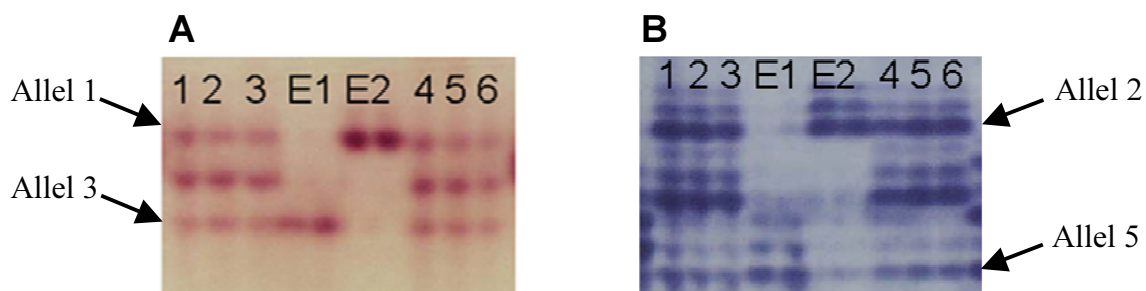


Abb. 3: Isoenzym polymorphismus für Kreuzungsnachkommen (1 – 3 und 4 – 6) und ihre Eltern (E1, E2); A– *Acp2* – Allele 1 und 3, B– *Pgi2* – Allele 2 und 5

Von den 10 Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases mit jeweils 10 Einzelpflanzen zeigten drei Inzuchtlinien fremde Allele und wurden verworfen (S1, S6 und S18). Die Ergebnisse stehen in Tab. 33. Bei den übrigen Linien waren die Eltern S5, S10 und S16 und entsprechend ihre 10 Nachkommen im *Acp2*-Locus homozygot, im *Pgi2*-Locus waren S5, S10, S16, S26 und S45 homozygot (Tab. 33). Die geselbsteten Einzelpflanzen, die im *Acp2*-Locus heterozygot waren, spalteten in ihren Nachkommenschaften in etwa 1:2:1. Im *Pgi2*-Locus trat bei den Nachkommen der S8 eine homozygote Zustandsform (22) nicht auf, bei S12 waren mehr Nachkommen homozygot (22 oder 33) als heterozygot (insgesamt vier Nachkommen).

Tab. 33: Isoenzymanalysen der Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases mit den Allelkombinationen der Selbstungseltern und der Spaltungsverhältnisse in den Nachkommen

Name	<i>Acp2</i> -Allelkombinationen							<i>Pgi2</i> -Allelkombinationen						
	Elter	Selbstungsnachkommen						Elter	Selbstungsnachkommen					
		11	12	13	22	33	00		22	23	24	33	44	fremd ¹
S1	11	10	.	.	.	.	.	33	.	3	.	6	.	1
S5	11	10	.	.	.	.	.	33	.	.	.	10	.	.
S6	11	9	.	.	.	1	.	24	2	.	7	.	1	.
S8	12	1	6	.	3	.	.	24	.	.	7	.	3	.
S10	11	10	.	.	.	.	.	22	10	.	.	.	.	.
S12	12	2	6	.	2	.	.	23	2	4	.	4	.	.
S16	22	.	.	.	10	.	.	44	.	.	.	.	10	.
S18	22	2	.	.	5	.	3	24	6	.	2	.	2	.
S26	12	3	6	.	1	.	.	22	10	.	.	.	.	.
S45	13	2	.	7	.	1	.	22	10	.	.	.	.	.

¹ fremd – fremdes, nicht-*Lolium*-spezifisches Allel

Bei 65 von 76 Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases wurden keine fremden Allele innerhalb der Inzuchtlinien gefunden. Fremde Allele wurden mit Acp bei drei Inzuchtlinien (1, 24 und 52) beobachtet, vier weitere Inzuchtlinien (13, 33, 60 und 74) wiesen in *Pgi2* mehr

als zwei Allele auf. Mit *Pgi* konnten in vier Inzuchtlinien (3, 23, 46 und 75) *Lolium*-fremde Allele identifiziert werden.

In den Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases (Tab. 34) wurden bei *Acp2* drei Allele und sechs mögliche Allelkombinationen beobachtet. In 40 Inzuchtlinien waren alle 10 Nachkommen für *Acp* homozygot (11, 22 oder 33). Mehr homozygote als heterozygote Genotypen gab es in der Inzuchtlinie 221. In den Inzuchtlinien 26 und 72 waren alle 10 Genotypen heterozygot (13 bzw. 12).

Für *Pgi2* wurden bei den Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases vier Allele und neun Allelkombinationen beobachtet, die Kombination 12 trat nicht auf, 35 Inzuchtlinien wiesen nur homozygote Genotypen auf (22, 33 oder 55). Zwei homozygote Zustandsformen von maximal 50% wurden bei 13 Inzuchtlinien vorgefunden. Nur eine homozygote Zustandsform und weitere heterozygote Genotypen wurden bei 13 Inzuchtlinien beobachtet. Alle Genotypen der Inzuchtlinie 54 waren in *Pgi2* heterozygot.

Tab. 34: Häufigkeiten von Genotypen für Allelkombinationen von *Acp2* und *Pgi2* innerhalb von Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases

des Weibchen Vorderranke

Inzuchtlinien	Acp2						Pgi2										fremd ¹
	11	12	13	22	23	33	11	13	15	22	23	25	33	35	55		
1	2	7	1	.	.	.	.	.	.	8	.	2	.	.	.	.	
2	.	.	.	10	.	.	.	.	.	2	.	5	.	.	3	.	
3	.	.	.	.	5	5	2	.	3	.	.	.	.	.	4	1	
4	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	.	.	3	7	.	.	
398	.	5	.	5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
6	3	7	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
472	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
64	.	.	.	10	.	.	.	.	.	4	.	1	.	.	5	.	
9	4	4	.	2	.	.	.	.	.	1	.	6	.	.	3	.	
10	.	8	.	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
11	2	3	.	5	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	.	.	
286	.	.	.	10	.	.	.	.	.	4	.	6	.	.	.	.	
13	.	7	.	3	.	.	.	.	.	2	3	5	.	.	.	.	
14	.	5	.	5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6	4	.	
15	.	7	.	3	.	.	4	.	6	.	.	.	.	.	.	.	
16	3	5	.	2	.	.	.	.	.	3	.	5	.	.	2	.	
17	.	.	.	10	.	.	.	.	.	4	.	5	.	.	1	.	
221	4	.	3	.	.	3	.	.	.	4	4	.	2	.	.	.	
19	.	.	.	.	.	10	.	.	.	1	.	7	.	.	2	.	
20	.	.	.	1	9	.	.	.	.	2	8	.	.	.	.	.	
116	10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
22	.	.	.	1	6	3	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	
23	.	.	.	10	.	.	2	.	5	.	.	.	.	.	1	2	
24	2	4	1	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
25	4	5	.	1	.	.	1	.	3	.	.	.	.	.	6	.	
26	.	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	2	.	.	8	.	
27	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	.	.	4	6	.	.	
28	1	.	8	.	.	1	.	.	.	.	.	.	10	.	.	.	
29	10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
30m	1	5	.	4	.	.	.	.	.	2	6	.	2	.	.	.	
31	.	.	.	.	8	2	.	.	.	5	3	.	2	.	.	.	

Tab. 34: Forts.

Inzuchtlinien	Acp2						Pgi2										fremd ¹
	11	12	13	22	23	33	11	13	15	22	23	25	33	35	55		
32	.	.	.	.	.	10	.	.	.	4	.	6	.	.	.	.	
33	.	.	.	10	.	.	.	.	.	2	5	.	.	.	3	.	
34	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
35	10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
36	.	.	.	2	5	3	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	
37	.	.	.	.	.	10	.	.	.	5	.	5	.	.	.	.	
423	.	.	.	10	.	.	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	
39	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	.	.	
40	.	.	.	2	6	3	.	.	.	.	.	.	10	.	.	.	
41	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
42	.	.	.	.	3	7	.	.	.	.	.	.	3	5	2	.	
43	10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
1304	3	4	.	3	.	.	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	
45	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
46	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	4	5	1	
1063	.	.	.	10	.	.	.	.	.	2	.	6	.	.	3	.	
48	10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
49	.	.	7	.	.	3	.	.	.	.	.	.	2	5	3	.	
50	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
1073	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	.	.	
52	.	1	.	2	5	2	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	
53	.	8	.	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
54	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	.	
55	10	.	.	.	.	.	.	.	.	2	.	6	.	.	2	.	
56	3	5	.	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
634	.	.	.	10	.	.	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	
58	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6	4	.	
59	.	.	.	5	5	.	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	
60	3	.	7	.	.	.	3	1	6	.	.	.	.	.	.	.	
61	.	.	.	.	.	10	.	.	.	.	8	.	2	.	.	.	
62	.	.	.	10	.	.	.	.	.	6	.	3	.	.	1	.	
63	.	.	.	10	.	.	.	.	.	2	.	5	.	.	3	.	
64	.	.	.	10	.	.	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	
65	.	.	.	10	.	.	.	.	.	1	.	6	.	.	3	.	
30	.	7	.	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
67	.	.	.	10	.	.	2	5	.	.	.	.	3	.	.	.	
68	.	.	.	10	.	.	.	.	.	4	.	6	.	.	.	.	
69	.	7	.	3	.	.	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	
70	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
71	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
72	.	10	.	.	.	.	.	.	.	6	.	3	.	.	1	.	
73	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	
74	.	5	.	5	.	.	.	.	.	5	3	2	.	.	.	.	
75	4	5	.	.	.	1	.	.	.	9	.	.	.	.	.	1	
76	.	.	.	10	.	.	.	.	.	.	.	.	10	.	.	.	

¹fremd – fremdes, nicht-*Lolium*-spezifisches Allel

4.6.2 Kreuzungen bei *L. multiflorum*

Von den Kreuzungen wurden sechs Einzelpflanzen und die ingezüchteten Eltern mit *Acp* und *Pgi* untersucht. Bei den Kreuzungen und ihren Eltern wurden bei *Acp2* sechs und bei *Pgi2* 10 unterschiedliche Allelkombinationen beobachtet (Tab. 35). Am häufigsten bei beiden

Isoenzymssystemen waren sechs einheitlich heterozygote Nachkommen, deren Eltern unterschiedliche homozygote Allele hatten (*Pgi2* - 21 Kreuzungen, *Acp2* - 26 Kreuzungen). Trugen die Eltern dieselbe Allelkombination, waren die Nachkommen einheitlich (12 bzw. 26). Es wurden aber nur vier Kreuzungen (17, 37, 73 und 84) gefunden, bei denen beide Eltern sowohl im *Acp2* als auch im *Pgi2* Locus unterschiedlich homozygot und die untersuchten Nachkommen einheitlich heterozygot in beiden Loci waren. Mit *Pgi* wurden vier Kreuzungen (2, 11, 61 und 152) mit ungewöhnlichen Allelkombinationen gefunden, die auf ungleiches Abblühen oder Selbstung schließen lassen. Bei *Acp* waren dies sechs Kreuzungen (26, 35, 61, 70, 74, 100 und 130). Alle übrigen Allelkombinationen traten weniger häufig auf. Die Darstellung der Allelkombinationen der Kreuzungen und zugehörigen Eltern ist in Tab. 35 aufgeführt.

Tab. 35: Ergebnisse der Isoenzymanalysen für die Kreuzungen und ihre Eltern

Kreuzungen	<i>Acp2</i>						<i>Pgi2</i>									
	11	12	13	22	23	33	11	12	13	15	22	23	25	33	35	55
2	.	4b	.	2a	.	.	.	.	.	.	4b	2	.	.	a	.
6	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	a	.	6	.	.	b
7	b	6	.	a	.	.	.	.	.	.	2	1b	2a	.	1	.
10	4b	2a	.	.	.	.	.	.	.	.	.	b	4	.	2	a
11	.	.	.	b	6	a	.	.	a	2	.	.	1b	.	.	3
17	a	6	.	b	.	.	b	.	.	6	.	.	.	.	.	a
20	.	.	.	b	6	a	.	.	.	.	.	.	.	5a	1b	.
21	.	.	.	.	6a	b	.	.	.	.	b	.	.	.	4a	2
25	.	3a	.	3b	.	.	.	.	.	.	a	4	2	.	b	.
26	b	4a	.	2	.	.	.	.	.	.	a	.	6	.	.	b
27	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	.	.	5ab	.	.	1
30	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	a	.	6	.	.	b
35	b	4	.	2a	.	.	.	.	.	.	.	.	4a	.	.	2b
36	.	3a	.	3b	.	.	.	.	.	.	b	.	6	.	.	a
37	b	6	.	a	.	.	.	.	.	.	a	.	6	.	.	b
38	b	.	6	.	.	a	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6ab
40	a	6	.	b	.	.	.	.	4	a	.	.	.	b	2	.
41	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	a	.	6	.	.	b
42	.	.	.	a	6	b	.	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.
43	b	6	.	a	.	.	.	1	.	b	a	.	5	.	.	.
46	b	6a	.	.	.	.	.	.	.	.	b	.	6	.	a	.
47	.	6b	.	a	.	.	.	.	.	b	.	.	.	.	.	6a
48	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	.	.	.	b	6	a
49	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	3a	.	.	.	.	.	3b
53	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6ab
54	.	3	b	a	3	.	.	.	.	.	.	.	.	a	6	b
55	.	.	2a	.	.	4b	.	.	.	.	.	3	b	a	3	.
56	b	6	.	a	.	.	.	.	.	.	4b	.	2a	.	.	.
57	b	3	3	.	a	.	.	.	.	.	.	1	3b	.	1a	1
60	.	.	.	b	6	a	.	2	.	b	.	.	2a	.	.	2
61	.	.	.	2a	4	b	.	.	.	.	b	.	3	.	.	3a
62	.	.	.	a	6	b	.	.	.	.	.	4	b	.	2a	.
65	a	6	.	b	.	.	.	.	.	.	.	.	2b	.	.	4a
66	b	6	.	a	.	.	.	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.
70	3b	3	.	.	a	.	.	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.

Tab. 35: Forts.

Kreuzungen	<i>Acp2</i>						<i>Pgi2</i>									
	11	12	13	22	23	33	11	12	13	15	22	23	25	33	35	55
71	.	1b	.	5a	.	.	.	.	.	.	.	b	3	.	3	a
72	.	3b	.	2a	.	.	.	.	.	.	b	.	6	.	.	a
73	a	6	.	b	.	.	.	.	.	.	b	.	6	.	.	a
74	2a	4	.	b	.	.	.	.	.	.	b	.	6	.	.	a
76	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	b	.	6	.	.	a
77	.	.	.	2a	4b	.	.	.	.	.	b	.	6	.	.	a
78	.	.	.	2b	4a	.	.	.	.	.	.	.	.	.	3a	3b
79	.	.	.	5a	1b	.	.	.	.	.	b	.	6	.	.	a
80	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	.	.	4a	.	.	2b
81	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	5b	1a
82	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6ab
83	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2a	4b
84	.	.	.	b	6	a	.	.	.	.	a	.	6	.	.	b
85	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6ab
88	.	.	.	3b	3a	.	.	.	.	.	b	.	6	.	.	a
89	a	.	6	.	.	b	.	.	.	.	4a	2b	.	.	.	.
90	b	6	.	a	.	.	.	.	.	.	2b	.	4a	.	.	.
91	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	.	.	4a	.	.	2b
92	.	.	.	a	6	b	.	.	.	.	.	.	4ab	.	.	2
98	.	.	.	a	6	b	.	.	.	.	.	3b	3	.	a	.
99	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	a	.	6b	.	.	.
100	.	.	.	a	4	2b	.	.	.	.	3a	.	3b	.	.	.
102	.	.	.	5b	1a	.	.	.	.	.	a	3	3	.	b	.
103	.	.	.	1a	5b	.	.	.	.	.	b	.	6	.	.	a
104	.	.	.	.	4ab	2	.	.	.	.	b	4	2	.	a	.
105	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	4b	2a
107	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6ab
108	a	6	.	b	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6ab
110	a	6	.	b	.	.	.	.	.	.	.	.	3b	.	.	3a
111	.	3ab	.	3	.	.	.	.	.	.	.	.	2b	.	.	4a
113	.	.	.	b	6	a	.	.	.	.	.	.	3a	.	.	3b
114	b	.	6	.	.	a	.	.	.	.	4	.	2ab	.	.	.
118	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	2b	.	4a	.	.	.
119	a	6	.	b	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6ab
121	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	2	.	1ab	.	.	3
122	a	6b	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	b	6a
123	a	6	.	b	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6ab
125	.	6b	.	a	.	.	.	.	.	.	.	.	3a	.	.	3b
126	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2a	4b
128	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	.	2	2b	.	2a	.
129	.	a	4	.	2	b	b	.	.	6	.	.	.	.	.	a
130	1	b	.	5a	.	.	.	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.
131	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	a	.	6	.	.	b
135	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	.	.	4b	.	.	2a
138	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	.	.	2b	.	.	4a
146	.	.	.	3b	3a	.	.	.	.	.	2a	.	4b	.	.	.
150	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	3	.	1ab	.	.	2
151	.	.	.	5b	1a	.	.	.	.	.	1a	.	5b	.	.	.
152	.	.	.	6ab	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6a	.	b

a – Isoenzymallele des einen Elters, b – Isoenzymallele des zweiten Elters; 1...6 – Häufigkeiten der Isoenzymallelkombinationen in den Kreuzungen, . – Allelkombination nicht beobachtet

4.7 DNA-Analysen

4.7.1 Mikrosatelliten

4.7.1.1 Methodischer Vergleich von Detektionssystemen für Mikrosatelliten bei *Lolium perenne*

Verwandtschaftsverhältnisse zwischen und innerhalb der sieben Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases wurde zunächst mit Anfärbung der Mikrosatelliten-Fragmente mit Silbernitrat und anschließend mit direkter Fluoreszenz-Markierung von Fragmenten untersucht und die beiden resultierenden Datensätze verglichen. Ein Beispiel ist in Abb. 4 gegeben. Dort führten beide Methoden zum gleichen Ergebnis.

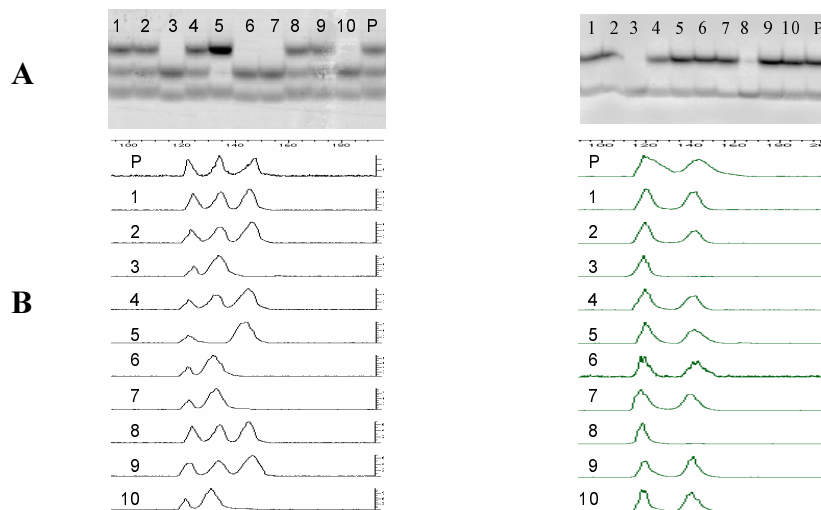


Abb. 4: Mikrosatelliten-Fragmente zweier *L. perenne*-Eltern (P) und ihre 10 Selbstungsnachkommen, mit Silbernitrat-Färbung (A) und Fluoreszenz-Markierung (B) erfasst

Der methodische Vergleich von Detektionssystemen für Mikrosatelliten zeigte, dass mittels Fluoreszenz-Markierung im Vergleich zur Silbernitrat-Färbung mehr Allele identifiziert werden konnten (248 vs. 151). Trotzdem sind die Ergebnisse ähnlich. Methoden-unabhängig clustern die Eltern mit den entsprechenden Nachkommen (Abb. 5). Werden die Ähnlichkeits-Phänogramme der mit beiden Detektionssystemen charakterisierten Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases betrachtet (Abb. 5), fällt bei der Fluoreszenz-Markierung auf, dass die Herkünfte vom selben Züchter häufig eine Gruppe bilden (Inzuchtlinien S16, S26 des dänischen Züchters DLF und S08, S12 vom holländischen Züchter Cebeco), mit Ausnahme des irischen Materials (S05, S10, Züchter Dani). Dieses ist dem holländischen Material von Cebeco ähnlicher als die S45 vom holländischen Züchter Zelder. Dagegen sind bei der Silbernitrat-Färbung die einzelnen Inzuchtlinien ähnlich weit voneinander entfernt, d.h. es sind keine Gruppierungen erkennbar.

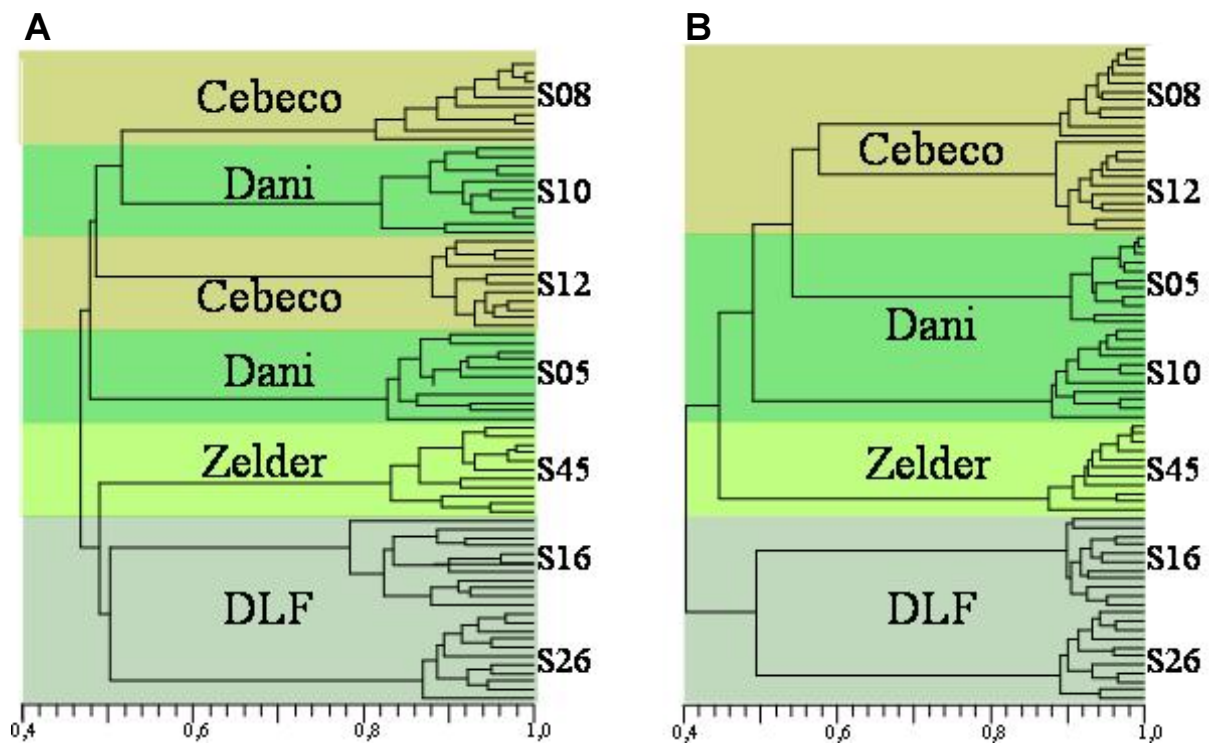


Abb. 5: Genetische Ähnlichkeiten zwischen Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases, ermittelt mit 31 genomischen Mikrosatelliten. A – Ähnlichkeits-Phänogramm der Silbernitratfärbung (151 Allele), B – Ähnlichkeits-Phänogramm der fluoreszenz-markierten Mikrosatelliten (248 Allele)

Da der Probendurchsatz je Gel höher und die technische Durchführung und Auswertung bei der Fluoreszenz-Markierung weitgehend automatisiert und besser reproduzierbar ist sowie durch einen internen Standard in jeder Probe auch Fragmentgrößendifferenzen von nur 1 bp erkannt werden konnten, wurden weitere Mikrosatelliten-Analysen mit Fluoreszenz-Markierung durchgeführt, obwohl die Anschaffungs- und die laufenden Kosten für die Silbernitrat-Färbung erheblich niedriger sind.

Jeweils acht Einzelpflanzen der 12 Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases (30, 64, 116, 211, 286, 398, 423, 476, 634, 1063, 1073, und 1304) wurden mit den 31 fluoreszenz-markierten Mikrosatelliten analysiert. 341 Fragmente wurden ausgewertet und Ähnlichkeiten nach Dice (1945) berechnet. Das resultierende Ähnlichkeits-Phänogramm ist in Abb. 10A (S. 72) dargestellt und wird unter Punkt 4.7.3 näher erläutert.

4.7.1.2 Vergleich der *L. perenne*- und *L. multiflorum*-Inzuchtlinien

Die mit Fluoreszenz-Markierung ausgewerteten Mikrosatelliten der sieben Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases wurden mit den 12 Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases gemeinsam verrechnet, die ebenfalls mit fluoreszenz-markierten Mikrosatelliten charakterisiert worden waren. Das resultierende Phänogramm ist in Abb. 6 dargestellt.

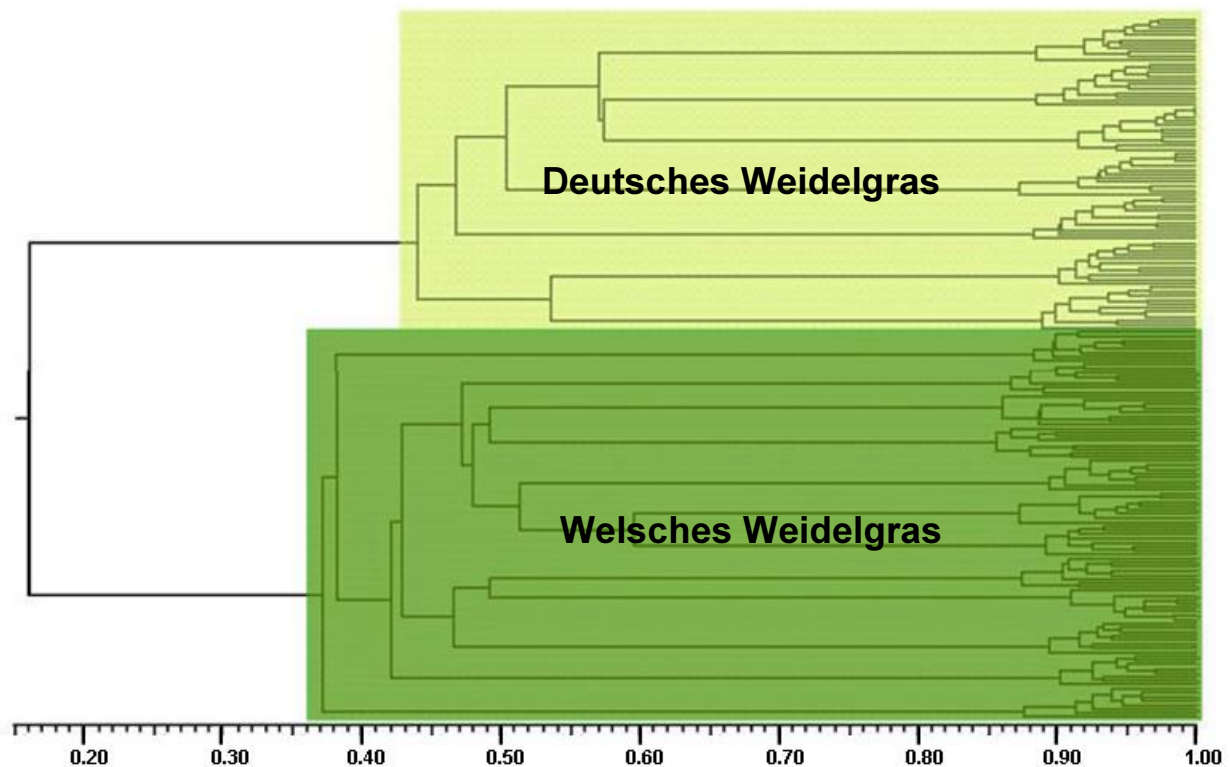


Abb. 6: Genetische Ähnlichkeit nach Dice zwischen und innerhalb von Inzuchtlinien des Welschen und des Deutschen Weidelgrases, ermittelt mit 31 Mikrosatelliten-Primerpaaren (374 Fragmente)

Mittels der 31 fluoreszenz-markierten Mikrosatelliten konnten die Arten unterschieden werden. Zwei Mikrosatelliten (M12-52, M2-148) wurde von Kubik et al. (1999) als *L. perenne*-spezifisch beschrieben. Beide amplifizierten zwei Fragmente. Während M2-148 in den Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases monomorph war, spaltete M12-52 in den Inzuchtlinien und konnte in der S45 auf Kopplungsgruppe 1 kartiert werden (Abb. 12, S. 82). Bei *L. multiflorum* waren diese zwei Mikrosatelliten polymorph. Hier gab es nur einen Mikrosatelliten mit zwei Allelen, der in den Inzuchtlinien spaltete, nämlich PR3 (Kubik et al. 2001; nicht als *L. multiflorum*-spezifisch beschrieben). Das Phänogramm (Abb. 6) der Verwandtschaftsanalysen zeigt, dass die Variabilität innerhalb und zwischen Inzuchtlinien des Deutschen und des Welschen Weidelgrases etwa gleichgroß ist und beide Gattungen mit den eingesetzten Mikrosatelliten deutlich unterschieden werden konnten.

4.7.1.3 Vergleich von fünf Sorten des Welschen Weidelgrases mit Mikrosatelliten

Eine Zuordnung von Einzelpflanzen zu den Sorten, denen sie angehören, bereitet auch mit molekularen Markern bei fremdbefruchtenden Arten häufig Schwierigkeiten. Um festzustellen, ob die genomischen Mikrosatelliten geeignet waren, Einzelpflanzen entsprechend ihrer Sorten zu diskriminieren, sollten wenige Sorten mit mehreren Einzelpflanzen geprüft

werden. Fünf Sorten, wovon zwei als näher verwandt galten („Fastyl“ und „Rustyl“) und eine Sorte, die diesen möglichst unähnlich war („Avance“), wurden ausgewählt (außerdem noch „Baltimore“ und „Dasas“). Sie wurden mit jeweils 19 Einzelpflanzen mittels fluoreszenzmarkierter Mikrosatelliten untersucht. Anschließend wurden die Mikrosatelliten-Daten der Inzuchtlinie 1063, Nachkommen einer selbsteten Pflanze der Abstammung „Fastyl“, gemeinsam mit den fünf Sorten verrechnet. Das resultierende Phänogramm ist in Abb. 7 dargestellt.

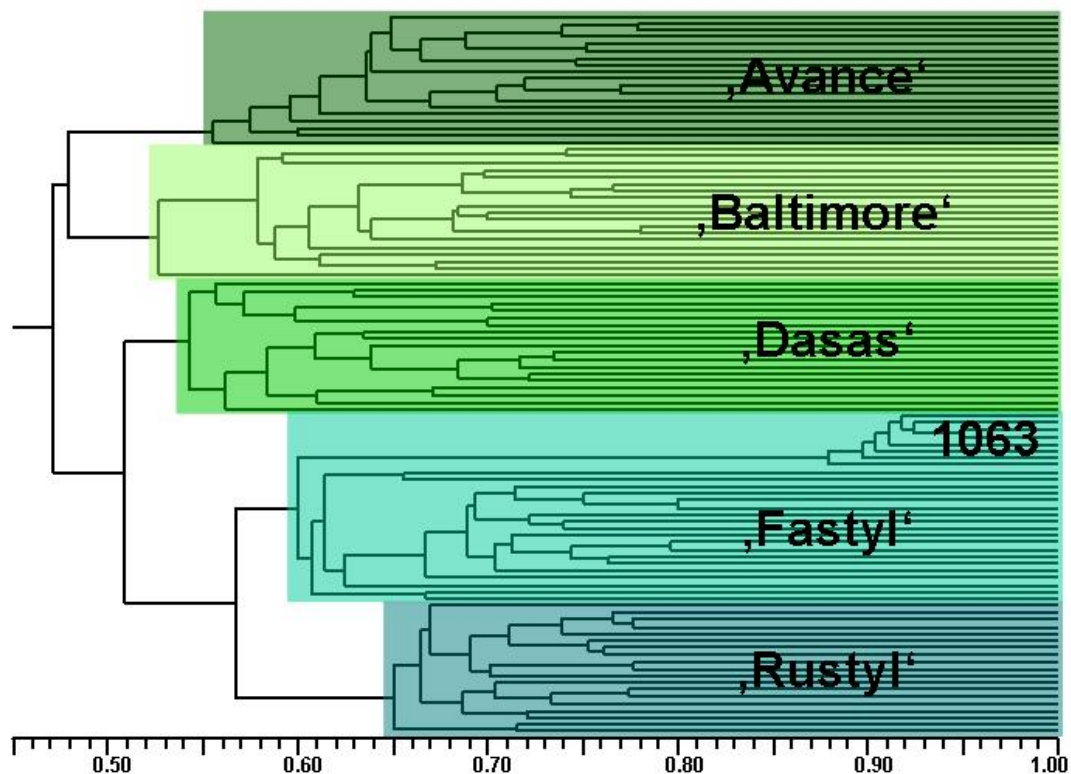


Abb. 7: Genetische Ähnlichkeit nach Dice zwischen und innerhalb von fünf Sorten des Welschen Weidelgrases (368 Fragmente)

Alle Einzelpflanzen einer Sorte gruppieren zusammen. Die französischen Sorten „Fastyl“ und „Rustyl“ sind einander ähnlicher im Vergleich zum übrigen Material. „Avance“ (tetraploides Lw) ist den anderen Sorten am wenigsten ähnlich. Die Inzuchtlinie 1063 ist den Einzelpflanzen der Sorte „Fastyl“ am ähnlichsten und bildet mit diesen eine Gruppe.

Für die fünf Sorten wurden Allelfrequenzen von genomischen Mikrosatelliten berechnet. Zunächst wurden Standardabweichungen mit der beschreibenden Statistik (monovariablen Verteilung) für jedes Allel und die Häufigkeiten von jedem Allel in jeder Sorte berechnet. Allele von mittlerer Häufigkeit wurden herausgesucht und mit der Allelfrequenz innerhalb jeder Sorte verglichen. War die Allelfrequenz in einer Sorte $> 60\%$, wurde ein Allel als häufig

eingestuft. Trat ein Allel in weniger als 40% der Pflanzen innerhalb einer Sorte auf, wurde dieses Allel als selten bezeichnet.

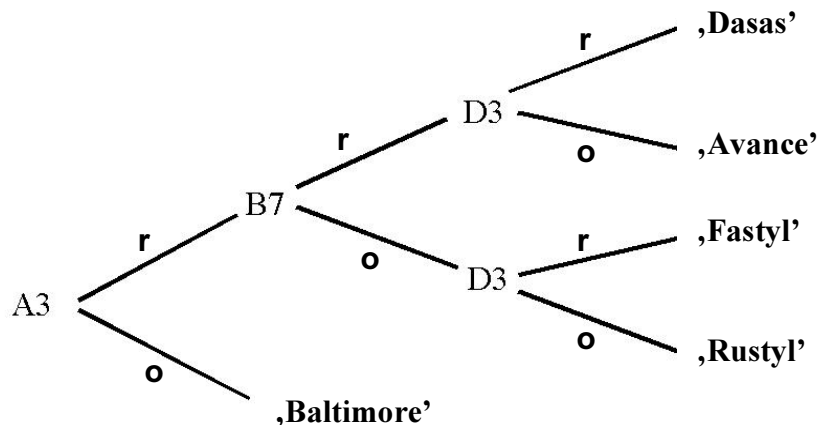


Abb. 8: Minimale Anzahl von Mikrosatelliten-Allelen zur Differenzierung von fünf Sorten. r Frequenz eines seltenen Allels/Sorte, o Frequenz eines häufigen Allels/Sorte; Mikrosatelliten-Allele: A3 - LPSSRH01A02-135, B7 - LPSSRH01A072-89, D3 - LPSSRH01E10-122

Drei Mikrosatelliten-Allele waren nötig, um die fünf Sorten unterscheiden zu können (Abb. 8). Mit dem häufigen Auftreten des Allels A3 konnte die Sorte ‚Baltimore‘ erkannt werden. B7 trat bei ‚Avance‘ und ‚Dasas‘ selten, bei ‚Fastyl‘ und ‚Rustyl‘ dagegen häufig auf. Ein häufiges Auftreten der Allele B7 und D3 führte zum Erkennen von ‚Rustyl‘, ein seltenes Vorhandensein von D3 bei häufigem B7 zu ‚Fastyl‘. Trat B7 selten und D3 häufig auf, war dies charakteristisch für ‚Avance‘, das seltene Auftreten von B7 und D3 ließ auf ‚Dasas‘ schließen.

4.7.2 AFLP (amplified fragment length polymorphism)

4.7.2.1 AFLPs in Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases

Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases wurden mit AFLPs untersucht. 1277 polymorphe AFLP-Fragmente wurden amplifiziert und ausgewertet. Das Ähnlichkeits-Phänogramm ist in Abb. 10B (S. 72) dargestellt und wird unter Punkt 4.7.3 näher erleutert.

4.7.2.2 Verwandtschaftsverhältnisse von 96 Weidelgräser-Abstammungen, ermittelt mit AFLPs

80 Abstammungen (Anhang Tab. I) und 12 Inzuchtlinien (Tab. 2, 30 bis 1304) von *L. multiflorum* und vier Sorten von *L. perenne* (Anhang Tab. I) wurden auf ihre Ähnlichkeiten mit AFLPs untersucht. In jede Abstammung flossen die Informationen von 16 Einzelpflanzen

ein, die zu je zwei Bulks von acht Pflanzen zusammengestellt wurden. Die 80 Abstammungen setzten sich folgendermaßen zusammen: 20 tetraploide Abstammungen, von denen 15 zugelassene Sorten und fünf Zuchtstämme sind; 60 diploide Abstammungen, die aus sechs Zuchtstämmen, 20 Genbankakzessionen und 34 zugelassenen Sorten bestanden. Der Umfang des Untersuchungsmaterials war so groß, dass zwei 96-er Platten für die Untersuchungen benötigt wurden. Um sicher zu sein, dass in beiden Platten dieselben Fragmente amplifiziert und entsprechend ausgewertet wurden, wurden die Bulks der 12 Inzuchtlinien (30 bis 1304) und beide Bulks der Sorte ‚Baltimore‘ auch in der zweiten Platte erneut mitverdaut (Standards). Zusätzlich wurden noch die Ansätze der Standards aus der ersten 96-er Platte auf den Gelen der zweiten 96-er Platte mit aufgetragen. Die Übereinstimmung der Datensätze lag bei 99%. Die Ergebnisse sind als PCA-Graphik in Abb. 9 dargestellt.

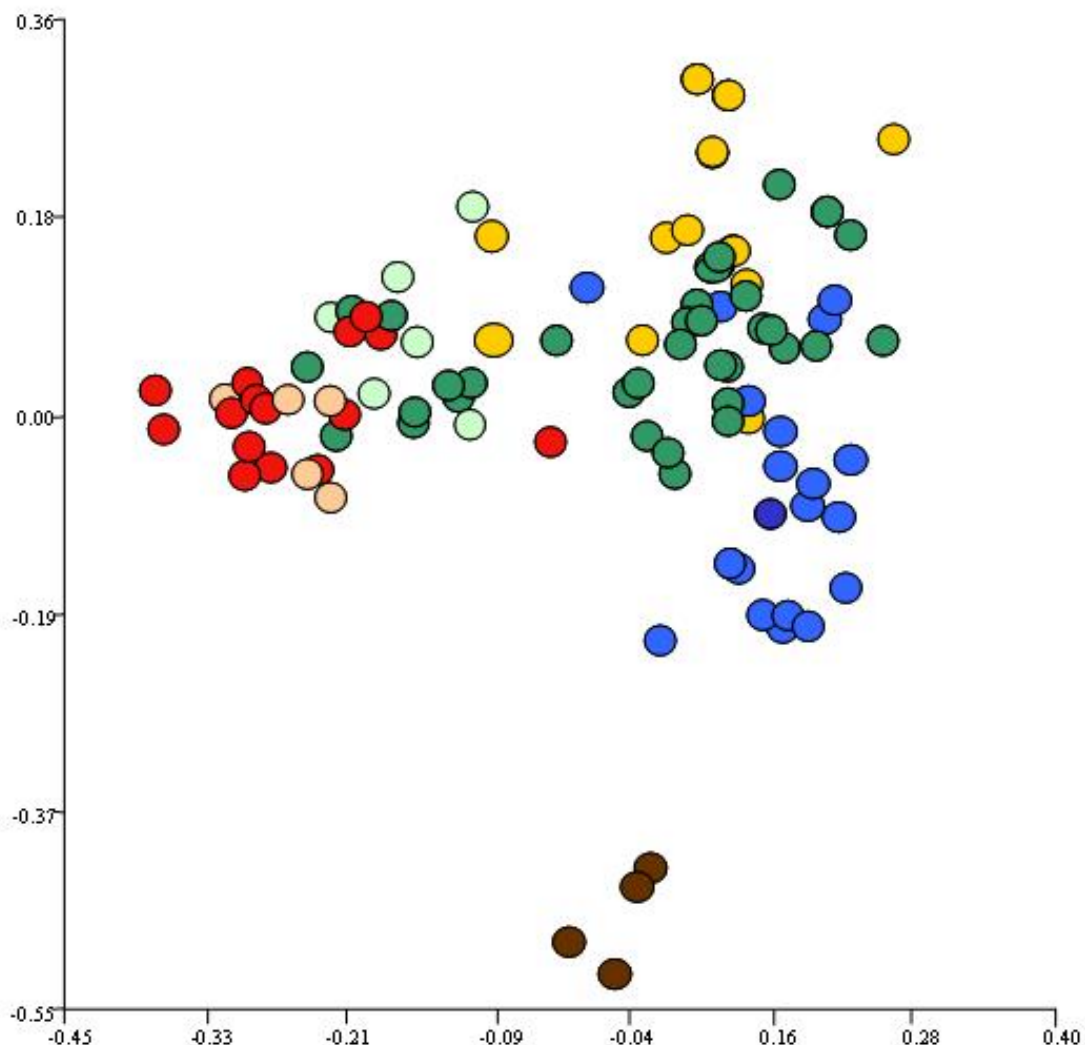


Abb. 9: Ähnlichkeiten zwischen tetraploiden Sorten ● und Zuchtmaterial ●, diploiden Sorten ● und Zuchtmaterial ●, Inzuchtlinien ● und Genbankakzessionen ● von *L. multiflorum* und vier *L. perenne*-Sorten ●

Der Genpool von *L. perenne* unterscheidet sich von *L. multiflorum*. Die Ähnlichkeiten zwischen Sorten und Akzessionen betrug durchschnittlich 60% und zwischen zwei Bulks einer Akzession etwa 80% (Anhang Abb. I). Diploide Sorten waren diverser als die diploiden Zuchtstämme. Einige diploide Zuchtstämme scheinen dem tetraploiden Material ähnlich zu sein. Die meisten Genbankakzessionen unterschieden sich von den *L. multiflorum* Sorten und dem Zuchtmaterial.

4.7.3 Vergleich von phänotypischen Merkmalen und molekularen Markern in Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases

Zwölf Inzuchtlinien mit jeweils acht Einzelpflanzen des Welschen Weidelgrases wurden mit AFLPs und Mikrosatelliten untersucht und Phänogramme erstellt. Es sollte geprüft werden, ob und gegebenenfalls wie gut die mit beiden Markersystemen erhaltenen Ergebnisse übereinstimmen. Dies erfolgte mit dem Mantel-Test (Mantel 1967).

Mit 31 Mikrosatelliten konnten in 12 Inzuchtlinien 241 Fragmente ausgewertet werden. Bei den AFLPs waren dies 1277. Der Mantel-Test ergab eine Übereinstimmung der Markersystemdatensätze von 82% ($r=0,82$, $p<0,0004$, 5000 Permutationen). Im Mikrosatelliten-Phänogramm (Abb. 10A) sind die Linien enger miteinander verwandt (0,37 bis 0,60) als im AFLP-Phänogramm (0,28 und 0,38; Abb. 10B). Innerhalb der Linien wurden Ähnlichkeiten von 0,85 bis 0,97 (Mikrosatelliten) bzw. von 0,72 bis 0,93 (AFLPs) berechnet. Die Inzuchtlinien 398 und 423 scheinen aufgrund der Mikrosatelliten-Daten am engsten miteinander verwandt zu sein, obwohl es sich hierbei um Selbstungsnachkommen unterschiedlicher Abstammungen handelt. Gleiches gilt für 472 und 634, welche laut AFLP-Phänogramm am ähnlichsten sind. Bei Betrachtung von Inzuchtlinien, welche Selbstungsnachkommen der selben Abstammung sind (Linien 286, 398 und 1304, Tab. 2), fällt auf, dass bei dem auf AFLP-Daten basierenden Phänogramm Linie 398 nicht mit den Linien 286 und 1304 eine Untergruppe bildet. Bei den Mikrosatelliten fehlt eine Clusterbildung dieser drei Linien gänzlich. Ähnliches ist bei den Linien 116 und 472 zu beobachten, bei denen es sich um Selbstungsnachkommen von Einzelpflanzen der Sorte ‚Trajan‘ handelt. Weder in dem AFLP- noch in dem Mikrosatelliten-Phänogramm gruppieren sie zusammen.

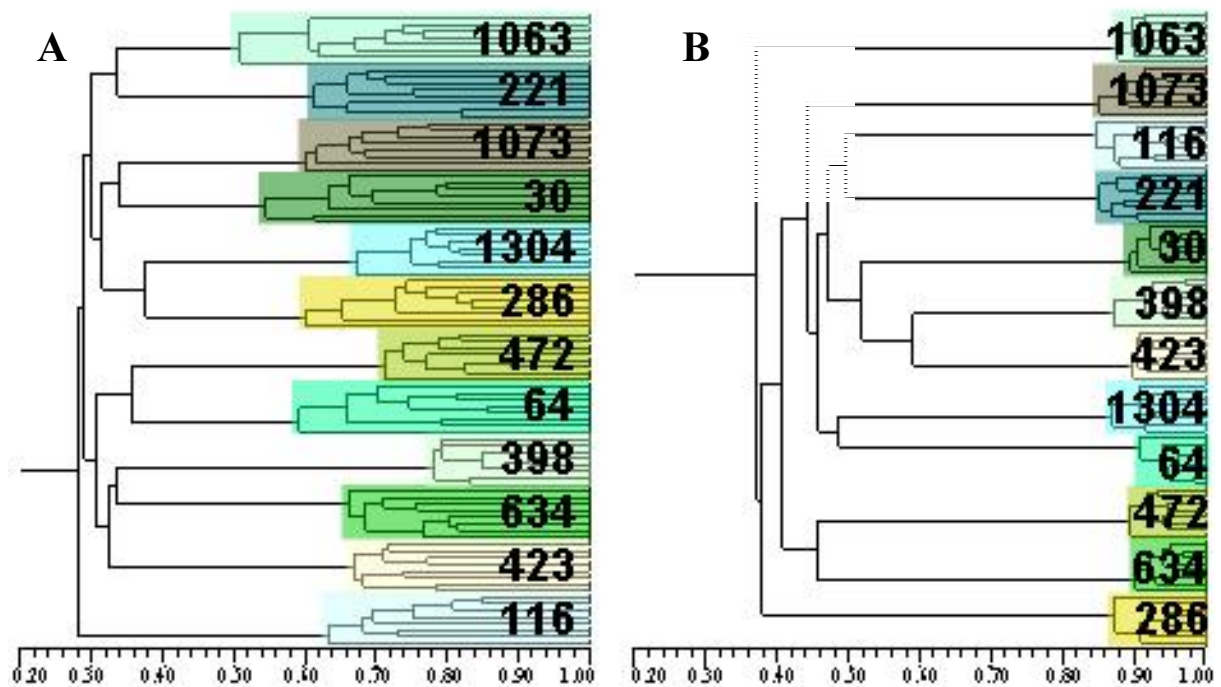


Abb. 10: Ähnlichkeiten zwischen 12 Inzuchtlinien, ermittelt anhand von genomischen AFLP (A) und Mikrosatelliten (B)

Im Jahr 2002 sind die noch existierenden Pflanzen der Inzuchtlinien (64, 116, 221, 286, 398, 423, 1063, 1073 und 1304) phänotypisch charakterisiert worden, um Zusammenhänge zwischen phänotypischen und molekularen Daten aufzuzeigen. Für den Vergleich der molekularen und phänotypischen Datensätze der phänotypisch charakterisierten Pflanzen wurde der Mantel-Test nach zuvoriger Standardisierung aller Daten durchgeführt. Die Übereinstimmung zwischen AFLP- und Mikrosatelliten-Daten betrug 88% ($r=0,88$) (Abb. 11).

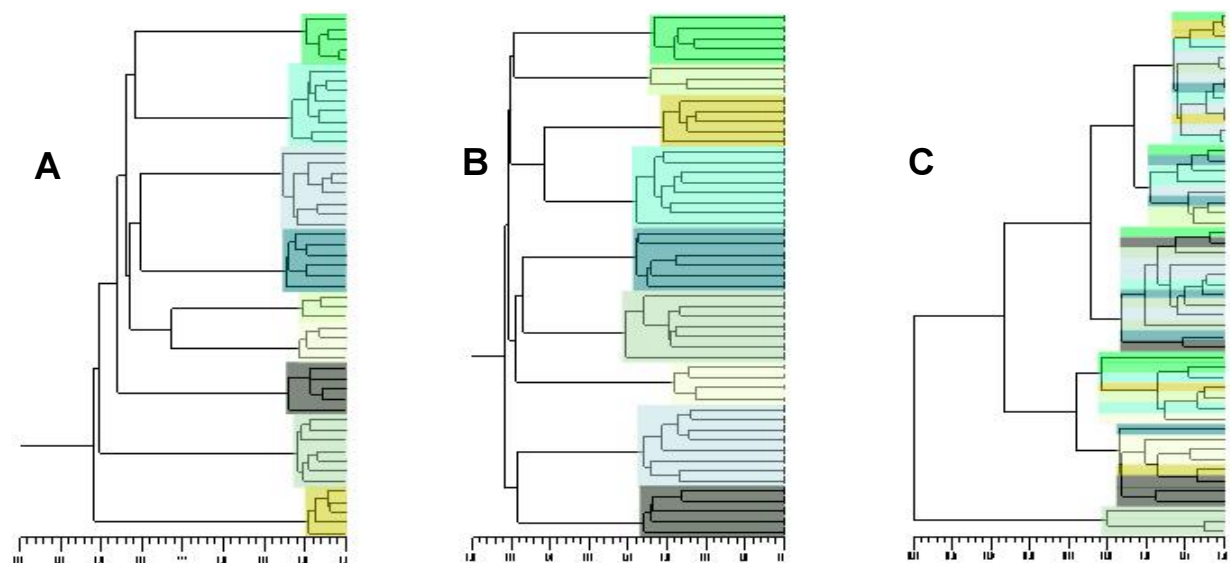


Abb. 11: Ähnlichkeiten von neun Inzuchtlinien, ermittelt anhand von Mikrosatelliten- (A), AFLP- (B) und phänotypischen (C) Datensätzen

Wird das phänotypische Phänogramm betrachtet (Abb. 11C), so ist zu erkennen, dass eine Gruppierung der Einzelpflanzen entsprechend ihrer Linien (selbe Farbe) nicht möglich war. Der Mantel-Test bestätigte die Ergebnisse. Zwischen phänotypischen und AFLP- bzw. Mikrosatelliten-Datensätzen bestanden praktisch keine Zusammenhänge ($r=0,14$ bzw. $r=0,10$).

4.7.4 Assoziationsstudien

Anhand von Assoziationsstudien sollten Zusammenhänge zwischen molekularen und phänotypischen Merkmalsausprägungen aufgedeckt werden. Hierfür wurden in dieser Arbeit Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases verwendet. Mit Fragmenten, deren Frequenz zwischen 0,3 und 0,7 lag, wurde ein t-Test für die phänotypischen Merkmale durchgeführt. Die Anzahl von Fragmenten je Merkmal, bei denen auch optisch die Mittelwerte der beiden Gruppen unterschieden werden können, sind in Tab. 36 aufgeführt. Dabei galten als ‚unterscheidbar‘ bei den bonitierten Merkmalen (Blattfarbe, Wuchsform, Bestockung) eine Mittelwertdifferenz von mindestens einer Notenstufe, bei der Ährenlänge 7 cm, der Fahnenblattlänge mindestens 4 cm, dem Umfang mindestens 3 cm, der Fahnenblattbreite mindestens 1,3 mm und der Wuchshöhe von mindestens 10 cm. Die Ergebnisse der t-Tests für die einzelnen Fragmente sind im Anhang Tab. IX aufgelistet.

Tab. 36: Assoziationen zwischen phänotypischen und molekularen Merkmalen des Welschen Weidelgrases

Merkmal	‚unterscheidbare‘ Mittelwertdifferenzen
Blattfarbe	3
Bestockung	5
Umfang	2
Wuchsform	3
Wuchshöhe	13
Fahnenblattlänge	6
Fahnenblattbreite	9
Ährenlänge	2
Rostbefall	.

Der Anteil an Fragmenten, bei denen der t-Test signifikante Mittelwertsunterschiede aufgezeigt hatte, war für die einzelnen Merkmale unterschiedlich. Bei einigen Fragmenten unterschieden sich die Gruppengrößen und Mittelwerte nicht, wie dies bei der Wuchshöhe (Fragmente PR24-161 und PR39-130) und bei der Ährenlänge (Fragmente P33M16-109 und P44M75-367) (Anhang Tab. IX) beobachtet wurde. Dies ist zu erwarten, wenn die Marker vollständig gekoppelt sind.

Ebenfalls sollten Assoziationen zwischen anfälligen bzw. resistenten Pflanzen der S45 des Deutschen Weidelgrases und den AFLP-Fragmenten gefunden werden. Für die Gruppierung in anfällig (Nr. S45-119, S45-120, Anhang Tab. VIII) und resistent (Nr. S45-22, S45-39, S45-40, S45-41, S45-44, S45-45, S45-46, S45-47, S45-48, S45-49, S45-51, S45-52, S45-53, S45-56, S45-58, S45-59, S45-62, S45-65, S45-66, S45-81, S45-84, S45-101, S45-107, S45-109, S45-110, S45-116, S45-117, S45-118, S45-121, Anhang Tab. VIII) wurden zunächst Pflanzen ausgewählt, bei denen der Blattstückentest in beiden Wiederholungen zu gleichen Ergebnissen geführt hatte. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass das Auftreten von befallenen Pflanzen in wenigstens einer Wiederholung ausreicht, um auf Anfälligkeit des Genotyps zu schließen. Für alle Fragmente (0 – kein Fragment, 1 – Fragment vorhanden) wurde der t-Test zwischen den beiden Gruppen resistent und anfällig durchgeführt. Alle Fragmente, bei denen der t-Wert den Grenzwert für P=10% überschritt, wurden berücksichtigt. Sechs AFLP-Fragmente waren in den zwei anfälligen Pflanzen nicht vorhanden, während ein AFLP-Fragment nur in den anfälligen Pflanzen auftrat. Die einzelnen Datensätze (0/1-Matrix) dieser sieben Fragmente wurden mit den Datensätzen der sieben Nummern, bei denen in mindestens einer Wiederholung als nicht resistent bewertete Pflanzen auftraten, verglichen (Tab. 37). Keines der sieben Fragmente reagierte für alle Pflanzen gleich, kann also nicht als Marker für Anfälligkeit herangezogen werden.

Tab. 37: AFLP-Daten der beiden rostanfälligen Einzelpflanzen (119, 120) und sieben weiterer in mindestens einer Wiederholung anfälligen Einzelpflanzen

Fragment Pflanze	p40m51- 316	p40m51- 325	p35m54- 104	p33m75- 183	p33m45- 256	p44m51- 136	p44m59- 304
119	0	0	0	0	1	0	0
120	0	0	0	0	1	0	0
63	0	0	1	0	0	0	1
124	0	1	1	0	1	1	0
131	0	0	0	0	1	1	0
145	0	1	0	1	0	1	1
149	0	1	0	1	0	0	1
165	1	1	1	1	0	1	1
169	1	1	1	1	0	0	0

0 – kein Fragment, 1 – Fragment vorhanden

4.7.5 Entwicklung und Charakterisierung von Mikrosatelliten aus *Lolium*-EST-Sequenzen

Für 83 Mikrosatelliten-haltige *Lolium*-Sequenzen aus der Datenbank DKFZ Heidelberg wurden Primersequenzen abgeleitet. Für 58 Sequenzen wurden Primer synthetisiert und getestet. Zwei amplifizierte keine Produkte. Die anderen 56 sind im Anhang (Tab. X) mit

der Erkennungsnummern (ID) der Sequenzen und der Sequenz des amplifizierten Produktes aufgeführt. In Tab. 38 sind die untersuchten Mikrosatelliten und die Größe der amplifizierten Fragmente in Basenpaaren (bp) bei *L. perenne*, *L. multiflorum*, der Gerstensorte ‚Barke‘ sowie je einem Bulk, bestehend aus 12 bespelzten und nackten Hafer-DNAs, aufgelistet.

Bei 56 der 58 Primerpaare wurden bei *Lolium* Fragmente amplifiziert. Die Primerpaare OKssr40 und OKssr57 führten zu keinen klaren Ergebnissen (nur Schmier). Die Primerpaare OKssr49 amplifizierten mit den ausgewählten DNAs Fragmente, die kleiner waren (225 bis 229 bp) als der vom Programm berechnete Wert (273 bp), so dass andere Fragmente als die mit dem Programm MISA berechneten amplifiziert wurden. Mit den Primerpaaren OKssr12 und OKssr18 wurden die berechneten Fragmente nur mit den *L. perenne*-DNAs bzw. mit OKssr30 und OKssr59 die entsprechenden Fragmente nur mit den *L. multiflorum*-DNAs amplifiziert. Keine Unterschiede zwischen *L. multiflorum* und *L. perenne* wurden bei 32 Primerpaaren beobachtet.

Tab. 38: Berechnete und geschätzte Größe (bp) von Mikrosatelliten-Fragmenten in unterschiedlichem Material

Mikrosatelliten	berechnet	<i>L. perenne</i>	<i>L. multiflorum</i>	‚Barke‘	bespelzter Hafer	nackter Hafer
OKssr01	230	230	230	.	230	230
OKssr02	139	139	139	210	280	280, 284
OKssr03	275	275 , 277	269, 275 , 277	.	.	.
OKssr04	191	191	191	.	191	191
OKssr05	230	230 , 232	230 , 232	.	.	.
OKssr06	266	266 , 270	266	.	.	.
OKssr07	236	236	236 , 244	.	205, 209	205, 209
OKssr08	166	166 , 170	166 , 168, 170	166	166	166
OKssr09	212	210, 212	210, 212	212 , 216	240	240
OKssr10	219	219	219	.	.	.
OKssr11	252	252 , 254	252 , 254	280	265	265
OKssr12	223	223	272, 264	.	.	.
OKssr13	208	208	208	.	.	.
OKssr14	199	199	199	.	217, 225	217, 225
OKssr15	235	235	235	.	.	.
OKssr16	189	189 , 191	189 , 191	.	.	.
OKssr17	143	143	143	.	110, 114	110, 114
OKssr18	270	270	275	.	.	.
OKssr19	253	253	253	253	253	253
OKssr20	127	127	123, 127	.	198, 202	198, 202
OKssr21	227	227	227	221	221, 225	221, 225
OKssr22	251	251	251	.	.	.
OKssr23	245	245	245	.	.	.
OKssr24	163	163 , 165	163 , 165	.	180	180
OKssr25	232	232	232 , 236	260	185	185
OKssr26	224	224	224	.	.	.
OKssr27	267	267	267 , 269	267	267	267
OKssr28	186	186	186 , 188	290	195	195
OKssr29	146	146	146	210	146	146
OKssr30	167	175, 177	167	279	180, 182	180, 182
OKssr31	279	279	279	.	175	175, 177
OKssr32	159	159	159	.	168	168

Tab. 38: Forts.

Mikrosatelliten	berechnet	<i>L. perenne</i>	<i>L. multiflorum</i>	„Barke“	bespelzter Hafer	nackter Hafer
OKssr33	126	126	126	126	126	126
OKssr34	266	258, 266	266	270	250	250
OKssr35	225	225 , 231	225	225	225 , 231	225 , 231
OKssr36	276	276 , 278	276	276	276	276
OKssr37	164	164	164 , 168	.	.	.
OKssr38	247	247	247	.	.	.
OKssr39	160	160 , 164	160 , 164	260	190	190
OKssr40	279	.	.	.	.	.
OKssr42	194	190, 194	190, 194	190, 192	194	194
OKssr43	273	273	273	273	273	273
OKssr44	175	175 , 179	175	.	.	.
OKssr45	170	170	170	.	.	.
OKssr46	254	254 , 258	254	254	254 , 258	254
OKssr47	269	269	269 , 273	.	.	.
OKssr48	267	267	267 , 269	.	.	.
OKssr49	273	225, 229	227	.	.	.
OKssr50	148	148 , 150	148	.	.	.
OKssr51	233	233 , 243	233	.	.	.
OKssr52	185	185 , 189	.	.	.	.
OKssr53	266	266	266	.	.	.
OKssr54	276	276	276	.	260	260
OKssr55	276	276	276	.	.	.
OKssr57	263	.	.	.	.	.
OKssr58	262	262	262	.	.	.
OKssr59	158	150, 200	158	170	175	175
OKssr60	279	279 , 285	279 , 285	279	279 , 285	279 , 285

Fettgedruckte Größen entsprechen den vom Programm berechneten Größen bei *Lolium*

Bei 19 Primerpaaren wurde in einer der beiden Arten mindestens ein weiteres Fragment amplifiziert, so dass die Arten unterscheidbar waren. Das Primerpaar OKssr52 führte nur bei *L. perenne* zu auswertbaren Produkten. Die Primerpaare OKssr08, OKssr19, OKssr27, OKssr33, OKssr35, OKssr36, OKssr43, OKssr46 und OKssr60 amplifizierten die berechneten Fragmente mit allen DNAs (Weidelgras, Gerste und Hafer). Bei Gerste amplifizierte nur das Primerpaar OKssr09 ebenfalls Fragmente, die den berechneten Fragmenten in *Lolium* entsprachen. Die übrigen in der Gerste amplifizierten Fragmente waren bis auf OKssr21 größer als die *Lolium*-Fragmente. OKssr09 und OKssr42 waren polymorph.

Bei den Hafer-Bulks wurde bei 31 Primerpaaren Produkte erhalten. Keine Unterschiede zwischen den Bulks waren mit 28 Primerpaaren festzustellen. Fragmente von 11 Primerpaaren waren im Hafer größer als bei *Lolium* und sieben Primerpaare amplifizierten Fragmente, die kleiner waren, als die vergleichbaren Fragmente in *Lolium*. Unterschiedliche Fragmentmuster zwischen Spelz- und Nackthafer wurden mit OKssr02, OKssr31 und OKssr46 gefunden. Weitere Fragmente von derselben Größe wie in *L. multiflorum* und *L.*

perenne wurden mit den Primerpaaren OKssr01, OKssr04, OKssr29 und OKssr42 amplifiziert.

4.7.6 Weizen-Mikrosatelliten in *Lolium*

Ob genomische Weizenmikrosatelliten auswertbare Produkte in *Lolium* amplifizieren, wurde mit 23 fluoreszenz-markierten Weizenmikrosatelliten in *L. perenne* und *L. multiflorum* im Vergleich zur Referenz-DNA ‚Chinese Spring‘ getestet. Die Ergebnisse sind in Tab. 39 aufgeführt.

Tab. 39: Genomische Weizen-Mikrosatelliten in *L. perenne* und *L. multiflorum*

Mikrosatelliten	erwartete Größe (bp) in ‚Chinese Spring‘	<i>L. perenne</i>	<i>L. multiflorum</i>
Xgwm060	158, 211	.	.
Xgwm095	121	121	121
Xgwm135	137	100	100
Xgwm136	299	299+	299+
Xgwm154	102	.	.
Xgwm165	191	186	186
Xgwm186	140	.	.
Xgwm218	149	180+	180+
Xgwm294	108	108	108
Xgwm312	235	215, 235	215, 235
Xgwm334	106, 120	106	106
Xgwm357	123	180, 200	180, 200
Xgwm369	188	.	.
Xgwm391	144	.	.
Xgwm397	179	.	.
Xgwm415	131	100+	100+
Xgwm427	221	.	.
Xgwm443	134	120	120
Xgwm471	149	.	.
Xgwm494	180, 185, 192, 201	.	.
Xgwm601	114, 122, 126, 160	122	122
Xgwm636	112	105+	105+
Xgwm638	146	.	.

+ zusätzliche größere Banden

Mit zehn Primerkombinationen wurden keine auswertbaren Produkte in *Lolium* erhalten. Bei einer Primerkombination (Xgwm136) wurden neben dem in der Referenz-Sorte erwarteten Produkt weitere, erheblich größere Produkte (bis zu 1130 bp) in *Lolium* gefunden. Die in *Lolium* amplifizierten Fragmente (sie wurden nicht sequenziert) waren teilweise größer (Xgwm218), teilweise kleiner (Xgwm415, Xgwm636) als die der Weizenreferenz-Sorte und hatten ebenfalls weitere größere Produkte. Mit drei Primerkombinationen (Xgwm135, Xgwm165, Xgwm443) wurde in jeder DNA nur ein Fragment amplifiziert, diese Fragmente waren bei *Lolium* von derselben Größe und kleiner als die von ‚Chinese Spring‘.

Mit den Primerkombinationen Xgwm095 und Xgwm294 wurden im Weizen und in *Lolium* Produkte derselben Größe erhalten. Bei Xgwm312, Xgwm334 und Xgwm601 war mindestens eine Bande des Weizens genauso groß wie die in beiden *Lolium*-Arten gefundenen Produkte. *L. perenne* und *L. multiflorum* konnten mit den getesteten Weizenmikrosatelliten nicht unterschieden werden. Xgwm312 und Xgwm357 wurden an 10 Einzelpflanzen der Kartierungspopulation getestet. Spaltungen konnten nicht beobachtet werden.

4.7.7 Mikrosatelliten aus Gersten-ESTs in *Lolium*

42 Mikrosatelliten aus Gersten-ESTs wurden auf ihr Verhalten in *Lolium* untersucht, wobei je eine DNA von *L. perenne* und *L. multiflorum* getestet wurde (Referenz-DNA: ‚Barke‘). Die Ergebnisse sind tabellarisch in Tab. 40 dargestellt.

Tab. 40: Mikrosatelliten aus Gersten-ESTs in *L. perenne* und *L. multiflorum*

Marker_ID	erwartete Produktgröße in ‚Barke‘	‚Barke‘	<i>L. perenne</i>	<i>L. multiflorum</i>
GBM1002	194	ja	.	p
GBM1004	180	ja	m	m
GBM1006	196	ja	m	p
GBM1007	200	ja	p	p
GBM1010	174	ja	p	m
GBM1012	236	ja	.	.
GBM1014	229	ja	m	m
GBM1019	292	ja	m	p
GBM1025	298	ja	p	p
GBM1032	100	ja	m	m
GBM1034	240	ja	p	p
GBM1040	212	ja	.	p
GBM1048	192	ja	.	p
GBM1051	283	ja	p	m
GBM1052	170	ja	m	p
GBM1053	241	ja	p	m
GBM1058	142	ja	m	m
GBM1059	263	ja	p	p
GBM1066	283	ja	p	p
GBM1071	182	ja	p	p
GBM1073	215	ja	p	p
GBM1116	245	ja	p	p
GBM1119	118	ja	p	p
GBM1121	263	ja	m	m
GBM1126	254	ja	m	m
GBM1139	142	ja	m	m
GBM1143	252	ja	m	m
GBM1159	215	ja	m	p
GBM1162	170	ja	p	p
GBM1173	140	.	.	.
GBM1189	132	ja	m	p
GBM1204	170	ja	m	m
GBM1212	106	ja	m	p

Tab. 40: Forts.

Marker_ID	erwartete Produktgröße in 'Barke'	„Barke“	<i>L. perenne</i>	<i>L. multiflorum</i>
GBM1218	112	ja	p	p
GBM1221	252	ja	.	.
GBM1309	195	ja	p	p
GBM1365	124	ja	.	.
GBM1389	202	ja	p	p
GBM1404	245	ja	p	p
GBM1405	136	ja	p	m
GBM1419	261	ja	m	p
GBM1423	251	ja	p	m

Die Qualität der amplifizierten Produkte war nicht sehr gut, so dass eine genaue Größenangabe nicht möglich erschien. Deshalb wurde nur zwischen polymorphen (p) und monomorphen (m) Produkten bei *Lolium* unterschieden. Eine Primerkombination (GBM1173) amplifizierte in allen drei Arten keine Fragmente. Mit allen anderen Primerpaaren wurden die erwarteten Fragmente in „Barke“ gefunden. Insgesamt waren in *L. perenne* 16 Primerpaare monomorph, 19 polymorph und bei sieben wurden keine Fragmente amplifiziert. Bei *L. multiflorum* waren es 14 monomorphe und 24 polymorphe Fragmente, vier Primerpaare lieferten keine Fragmente. Die drei Primerpaare GBM1040, GBM1048 und GBM1002 lieferten nur in „Barke“ die erwarteten Fragmente. Während mit *L. perenne* keine Produkte erhalten wurden, amplifizierten diese Primerpaare bei *L. multiflorum* viele Fragmente.

4.7.8 Gersten-SNPs in *Lolium*

Am IPK Gatersleben wurden in großem Umfang Gersten-SNPs entwickelt. Es wurde getestet, ob in *Lolium* ebenfalls Fragmente amplifiziert werden. Auf Agarosegelen gleichgroß erscheinende Fragmente sollten sequenziert und auf SNPs in *Lolium* untersucht werden. 435 Primerkombinationen, die in Gerste Fragmente mit SNPs amplifizieren, wurden in *L. perenne* (S5 bzw. S10, S45) und *L. multiflorum* (Inzuchtlinien 35, 45, 76) getestet. In *L. perenne* wurde mit 310 Primerkombinationen und in *L. multiflorum* mit 278 Primerkombinationen mindestens ein Fragment amplifiziert. Ausschneidbar aus 1,2% Agarosegelen und zum Sequenzieren geeignet erschienen bei *L. perenne* 146 und bei *L. multiflorum* 129 Fragmente. Beispielhaft wurden 23 Fragmente aus Gersten-SNP-Primerkombinationen mit jeweils drei DNAs sequenziert. Mit den Chromatogrammen wurde die Qualität der beiden Sequenzierungsprodukte eingeschätzt. Waren die mit dem Vorwärts- bzw. Rückwärts-Primer erhaltenen Sequenzen einer DNA gut, wurden sie zusammengefügt (Contig) und mit den anderen

zwei Contigs der selben Primerkombination verglichen. Die Qualität der Vorwärts- und Rückwärts-Primer-Sequenzierung war unterschiedlich. Beim Zusammenfügen von Vorwärts- und Rückwärts-Sequenzen, z.B. bei SNP603, der einzelnen DNAs fiel auf, dass alle drei Rückwärts-Sequenzen zwar übereinstimmten, also keinen SNP enthielten, beim Überlappen mit ihrer jeweiligen Vorwärts-Sequenz aber immer an der selben Stelle ein anderes Nukleotid abgelesen worden war (das in allen Vorwärts-Sequenzen aber identisch war und somit auch keinen SNP enthielt). Einige Produkte wurden nicht vollständig sequenziert, so dass die Vorwärts- und Rückwärts-Sequenzen sich nicht überlappten. In diesem Fall wurden jeweils die drei Vorwärts- bzw. Rückwärts-Sequenzen verglichen. Die Ergebnisse sind in Tab. 41 zusammengefasst.

Bei vier der 23 sequenzierten Primerpaare (SNP45, SNP54, SNP389, SNP550a) gab es keine Überlappung von Vorwärts- und Rückwärts-Primern bei den drei DNAs, obwohl die Chromatogramme auswertbar waren. Mögliche Gründe können sein, dass die ausgeschnittenen Produkte auf dem Agarosegel gleich erschienen, die amplifizierten Produkte aber anders waren. Da sich die Vorwärts- und Rückwärts-Sequenzen einer DNA auch nicht alignen ließen, waren die ausgeschnittenen Produkte entweder zu groß oder die Amplifikations-Polymerase hatte nicht sauber gearbeitet. Diese SNPs hätten erneut sequenziert werden müssen.

Tab. 41: Name, Anzahl von SNPs und Anmerkung

SNP-Nr.	Anzahl von SNPs	Anmerkung
29	2	SNPs nur in Rückwärts-Sequenzen von Lp, Lm andere Sequenz
45	.	keine Überlappung von Sequenzen
54	.	keine Überlappung von Sequenzen
81	2	nur zwischen Lp, Lm kein Produkt amplifizierbar
124	2	zwischen Lm und Lp
126	4	Lm und ein Lp aligned, die anderen beiden Sequenzen sind einzeln
150	5	Lm total anders, nur beide Lp vergleichbar
161	.	kein SNP
169	.	kein SNP
186	7	4 SNPs zwischen Lm und Lp
309	5	eine Base vertauscht
349	10	f und r separat aber überlappend, Basenaustausch: beide Lp: GG, Lm: TT
357	3	einmal Basen vertauscht
389	.	keine Überlappung von Sequenzen
500	3	.
502	.	Lm und Lp total anders
505	.	Lm anders als Lp
559	.	forward aligned, aber kein SNP, Rückwärts-kein Alignment der drei DNAs
591	2	zwischen Lm und Lp
592	.	kein SNP
603	3	eine Lp-DNA unterscheidet sich von den anderen zwei DNAs (Lp, Lm)
499b	8	5 SNPs zwischen beiden Lps, 3 zwischen Lp und Lm
550a	.	keine Überlappung von Sequenzen

Einige Sequenzen enthielten keine Nukleotidaustausche (SNP161, SNP169, SNP559 und SNP592). Die Anzahl der Polymorphismen war in den einzelnen Produkten unterschiedlich (von zwei bis zehn). Bei SNP502 gab es keine Überlappungen der Sequenzen von *L. multiflorum* und *L. perenne*, so dass mit diesem Primerpaar andere Produkte amplifiziert wurden, die aber optisch auf dem Agarosegel gleich groß erschienen. Mit den zwei SNPs von SNP591 konnten *L. multiflorum* und *L. perenne* unterschieden werden. Bei SNP150 erschienen fünf SNPs zwischen den zwei *L. perenne*-DNAs, wobei die *L. multiflorum*-Sequenzen anders waren. Es konnte auch kein Contig für *L. multiflorum* mit den Vorwärts- und Rückwärts-Sequenzen erstellt werden. Der Austausch zweier benachbarter Basen wurde bei SNP309, SNP349 und SNP357 beobachtet. Bei SNP349 waren zwei benachbarte Basen in *L. multiflorum* TT, beide *L. perenne*-DNAs hatten an derselben Position stattdessen zwei Gs (GG).

Die Primerpaare SNP124, SNP150, SNP186, SNP349, SNP502, SNP505, SNP591 und SNP499b, die SNPs zwischen den Gattungen *L. perenne* und *L. multiflorum* aufzeigten, erscheinen für eine Einordnung von unbekanntem Sammlungsmaterial zu ihren Gattungen geeignet. Es sollten aber zunächst noch weitere DNAs getestet werden. Mit den Primerkombinationen SNP81 und SNP499b konnte auch zwischen beiden *L. perenne*-DNAs unterschieden werden. Diese könnten für Verwandtschaftsanalysen innerhalb von *L. perenne* eingesetzt werden, wenn spezifische Primer für die SNPs abgeleitet werden und Geräte, wie Pyrosequencer, mit denen viele Einzelpflanzen-DNAs schnell gescreent werden können, zur Verfügung stehen.

4.8 Kartierung in der *L. perenne*-Inzuchtlinie S45

Eine der sieben Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases wurde für die Kartierung von AFLPs, STSs sowie genomischen und EST-abgeleiteten Mikrosatelliten ausgewählt. Hierbei handelte es sich um S45, die in den genomischen Mikrosatelliten-Analysen als relativ polymorph eingeschätzt worden war. Ihr Pflanzenumfang wurde daraufhin von 10 auf 95 Individuen erweitert. Mit AFLP-Markern (*Eco/Mse*) aus der internationalen ILGI-Karte (Jones et al. 2002a) sollten die sieben Kopplungsgruppen der S45 erstellt werden, um die Markeranordnung der S45 mit der ILGI-Karte vergleichen zu können. Diese *Eco/Mse*-Marker spalteten nicht wie erwartet, so dass nur genomische Mikrosatelliten und STS-Marker, die keine signifikante Abweichung vom Spaltungsverhältnis (1:2:1) aufwiesen, für die Erstellung der sieben Gruppen ausgewählt wurden.

Die übrigen genomischen und von ESTs-abgeleiteten *Lolium*-Mikrosatelliten, weitere AFLP-Fragmente (*Pst*/*Mse*) und die *Eco*/*Mse*-Fragmente wurden erst anschließend den Kopplungsgruppen zugeordnet (Abb. 12). Diese Karte besteht aus sieben Kopplungsgruppen unterschiedlicher Größe und hat z.Z. eine Gesamtlänge von 744 cM.

Von 512 *Pst*/*Mse*-Fragmenten (einschließlich doppelter Loci) konnten 142 aufgrund gestörter Spaltungsverhältnisse nicht kartiert werden. 19 genomische und 18 EST-abgeleitete Mikrosatelliten sowie neun polymorphe STS-Marker wurden kartiert. Marker, die nicht kartiert werden konnten, waren zwar heterozygot, spalteten aber nicht oder wiesen gestörte Spaltungsverhältnisse auf, wobei der Anteil an Heterozygoten viel zu hoch war. Apomixie kommt als Ursache nicht in Frage, weil die einzelnen Individuen sonst identische Bandenmuster hätten haben müssen. Dieses war aber nicht der Fall.

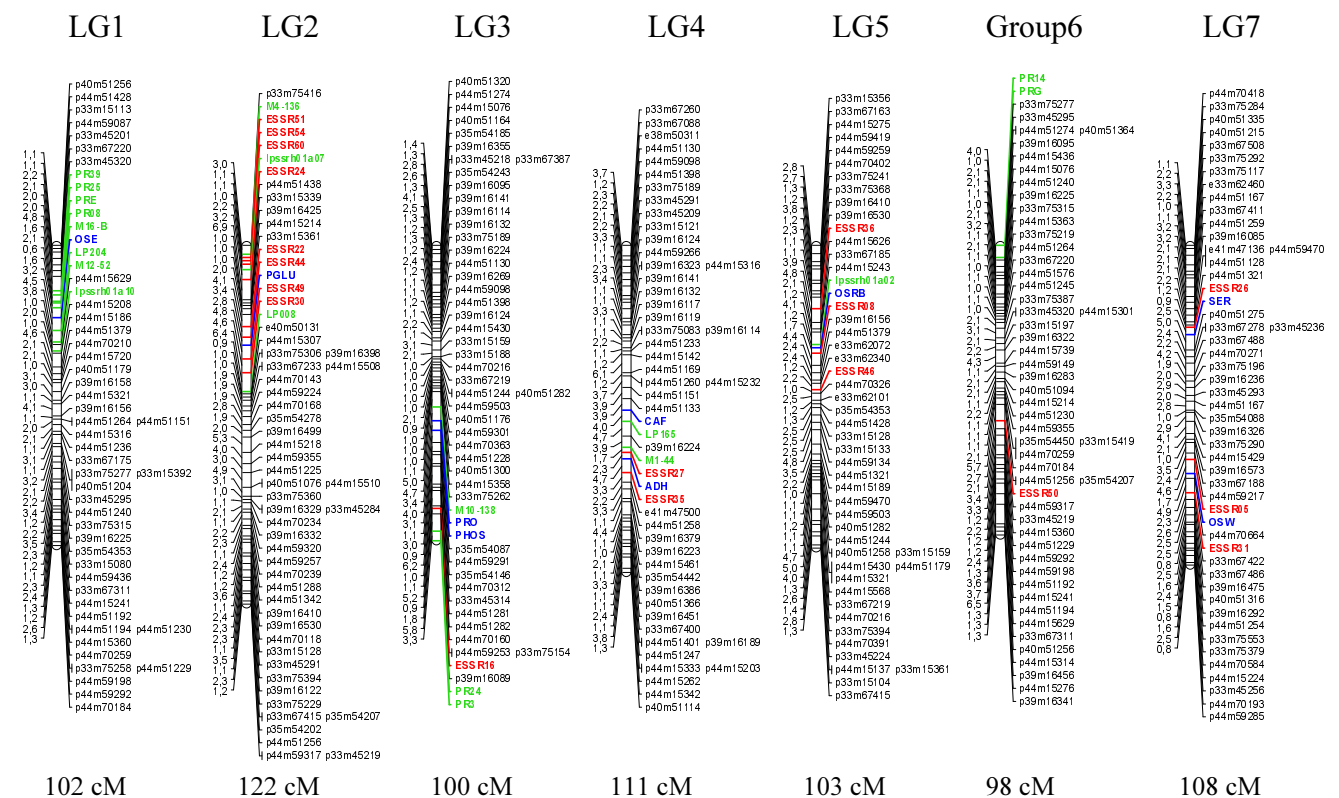


Abb. 12: Verteilung der 19 genomischen Mikrosatelliten (grün), der 9 STS-Marker (blau), der 18 Mikrosatelliten aus *Lolium*-ESTs (rot) und der 325 AFLP-Marker (schwarz) über die 7 Kopplungsgruppen der Selbstungsnachkommenschaft. Auf Kopplungsgruppe 6 (Group6) konnte kein Marker von LG6 der ILGI-Population kartiert werden.

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. Lonnquist 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 betrugen 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 Prüfglied-mittelwerten 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 Mehлтаub. 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 (Ganzpflanzkreuzungen) 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 Einzelpflanzenerträgen 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 Kronenrosts 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 Pflanzenhöhe, 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 Ganzpflanzkreuzungen aufgrund überdurchschnittlicher Einzelpflanzenleistungen (Pflanzenumfang und Wuchshöhe). Es waren bei Ganzpflanzkreuzungen 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 Ganzpflanzkreuzungen 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 Ganzpflanzkreuzungen 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 (Ganzpflanzkreuzung), 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 Minorogenen 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 Vergleichssorte 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* überschchnitt. 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 populationsspezifisch 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, dass 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

pflanzengenetischen Ressourcen immens an, v.a. wenn molekulare Marker anschließend von Pflanzengenetikern 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), betrugen 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 Ganai 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.

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 Phosphoglucoseisomerase 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 'Ligande' 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 phosphoglucosomerase 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.

7 Literaturverzeichnis

- Aastveit, A.H., K. Aastveit. 1990. Theory and application of open-pollination and polycross in forage grass breeding. *Theor Appl Genet* 79:618-624.
- Adams, E., I. Roldan-Ruiz, A. Depicker, E. van Bockstaele, M. de Loose. 2000. A maternal factor conferring resistance to crown rust in *Lolium multiflorum*. *Plant Breed* 119:182-184.
- Adler, F.E. 1964. Preliminary results of a comparison between tetraploid and diploid ryegrass. *Nature* 203:546-547.
- Adomako, B., D. Thorogood, B.C. Clifford. 1997. Plant reaction types to crown rust (*Puccinia coronata* Corda) in meadow fescue (*Festuca pratensis* L.), perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and *Lolium perenne* introgression lines. *Int Turfgrass Soc Res J* 8:823-831.
- Allard, R.W. 1956. Formulas and tables to facilitate the calculation of recombination values in heredity. *Hilgardia* 24:235-278.
- Allard, R.W. 1999. Principles of Plant Breeding. 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Allison, J.C.S., R.N. Curnow. 1966. On the choice of tester parent for the breeding of synthetic varieties of maize (*Zea mays* L.). *Crop Sci* 6:541-544.
- Anderson, J.A., Y. Ogihara, M.E. Sorrells, S.D. Tanksley. 1992. Development of a chromosome arm map for wheat based on RFLP markers. *Theor Appl Genet* 83:1035-1043.
- Anslow, R.C. 1964. Seed formation in perennial ryegrass. II. Maturation of seed. *J Br Grassl Soc* 20:349-357.
- Areshchenkova, T., M.W. Ganai. 1999. Long tomato microsatellites are predominantly associated with centromeric regions. *Genome* 42:536-544.
- Armstead, I.P., A. Bollard, W.G. Morgan, J.A. Harper, I.P. King, R.N. Jones, J.W. Forster, M.D. Hayward, H.M. Thomas. 2001. Genetic and physical analysis of a single *Festuca pratensis* chromosome segment substitution in *Lolium perenne*. *Chromosoma* 110:52-57.
- Armstead, I.P., L.B. Turner, I.P. King, A.J. Cairns, M.O. Humphreys. 2002. Comparison and integration of genetic maps generated from F₂ and BC₁-type mapping populations in perennial ryegrass. *Plant Breed* 121:501-507.

- Balfourier, F., G. Charmet, C. Ravel. 1998. Genetic differentiation within and between natural populations of perennial and annual ryegrass (*Lolium perenne* and *L. rigidum*). *Heredity* 81:100-110.
- Barker, R.E., S.E. Warnke. 1998. Characterisation of grass cultivars by use of DNA markers. In: H. Nakagawa (ed.), *Proc Internat Workshop on Utilization of Transgenic Plants and Genome Analysis in Forage Crops*. National Research Institute, pp. 123-134, Nishinasuno, Japan.
- Bean, E.W. 1972. Clonal evaluation for increased seed production in two species of forage grasses, *Festuca arundinacea* Schreb. and *Phleum pratense* L. *Euphytica* 21:377-383.
- Becker, H. 1982. Züchtung synthetischer Sorten II. Leistungsvorhersage und Selektion der Eltern. *Vortr Pflanzenzüchtg* 1:23-40.
- Becker, H. 1993. *Pflanzenzüchtung*. UTB Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
- Beever, D.E., N. Offer, M. Gill. 2000. The feeding value of grass and grass products. In: A. Hopkins (ed), *Grasses. Its production and utilization*, pp. 140-195. 3rd ed, Blackwell Science Ltd Malden, USA.
- Bennet, S.J., M.D. Hayward, D.F. Marshall. 2000. Phenotypical variation in four species of the genus *Lolium* in Europe. *Gen Res Evol* 47:247-255.
- Bennet, S.J., M.D. Hayward, D.F. Marshall. 2002. Electrophoretic variation as a measure of species differentiation between four species of the genus *Lolium*. *Gen Res Evol* 49:59-66.
- Bert, P.F., G. Charmet, P. Sourdille, M.D. Hayward, F. Balfourier. 1999. A high-density molecular map for ryegrass (*Lolium perenne*) using AFLP markers. *Theor Appl Genet* 99:445-452.
- Bertling, U., C. Bothe, G. Kobabe. 1994. Chancehybriden beim Welschen Weidelgras. *Vort Pflanzenzüchtg* 28:292-294.
- Bócsa, I. 1990. What has been achieved in fodder crops breeding. In: A.P.M. den Nijs, A. Elgersma (eds). *Achievements, novel strategies and biotechnology*, pp. 19-24. Pudoc Wageningen 1991.
- Börner, H. 1998. *Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*. 7. Aufl., UTB Ulmer Verlag, Stuttgart.

- Bradeen, J.M., P.W. Simon. 1998. Conversion of an AFLP fragment linked to the carrot *Y2* locus to a simple codominant PCR-based marker form. *Theor Appl Genet* 97:960-967.
- Breese, E.L. 1966. Reproductive biology and taxonomy of vascular plants. J.G. Hawkes (ed). Pergamon Press.
- Breese, E.L., E.J. Lewis. 1960. The effect of varying the numbers of parents on the behaviour of synthetic varieties. *Report Welsh Plant Breed Station* 1959:21-25.
- Breese, E.L., B.F. Tyler. 1986. Patterns of variation and the underlying genetic and cytological architecture in grasses with particular reference to *Lolium*. In: B.T. Styles (ed), *Intraspecific classification of wild and cultivated plants*, pp. 53-69. Oxford University Press.
- Brewbaker, J.L. 1957. Pollen cytology self-incompatibility systems in plants. *J Heredity* 48:271-277.
- Broun, P., S. D. Tanksley. 1996. Characterization and genetic of SSR in the tomato genome. *Mol Gen Genet* 250:39-49.
- Budowle, B., R. Chakraborty, A.M. Giusti, A.J. Eisenberg, R.C. Allen. 1991. Analysis of the VNTR locus DIS80 by the PCR followed by high-resolution PAGE. *Am J Hum Genet* 48:137-144.
- Bugge, G. 1987. Selection for seed yield in *Lolium perenne* L. *Plant Breed* 98:149-155.
- Bulinska-Radomska, Z., R.N. Lester. 1985. Relationships between five species of *Lolium*. *Pl Syst Evol* 148:169-175.
- Bullitta, S., R. Floris, M.D. Hayward, F. Veronesi. 1993. The reproductive system of a *Lolium rigidum* Gaud. population from Sardinia and its implication for breeding. *Plant Breed* 111:312-317.
- Bundessortenamt 2001. Beschreibende Sortenliste Gräser, Klee, Luzerne. Bundessortenamt (ed). Verlag Alfred Strothe.
- Burbidge, A., P.D. Hebblethwaite, J.D. Ivins. 1978. Lodging studies in *Lolium perenne* grown for seed. 2. Floret site utilization. *J Agric Sci* 90:269-274.
- Bush, A.L., R.P. Wise. 1998. High resolution mapping adjacent to the Pc71 crown-rust resistance locus in hexaploid oat. *Mol Breed* 4:13-21.
- Camlin, M.S. 1997. Plant breeding – achievements and prospects. Grasses. In: J.A. Weddell (ed), *Seeds of Progress*, pp. 2-14. BGS Occasional Symposia 31.

- Canter, P.H., I. Pasakinskiene, R.N. Jones, M.W. Humphreys. 1999. Chromosome substitutions and recombination in the amphiploid *Lolium perenne* x *Festuca pratensis* cv. Prior ($2n = 4x = 28$). *Theor Appl Genet* 98:809-814.
- Carpenter, J.A., M.D. Casler. 1990. Divergent phenotypic selection response in smooth brome grass for forage yields and nutritive value. *Crop Sci* 30:17-22.
- Casler, M.D. 1982. Genotype x environment interaction bias to parent-offspring regression heritability estimates. *Crop Sci* 22:540-542.
- Catherall, P.L. 1987. Effects of barley yellow dwarf and ryegrass mosaic viruses alone and in combination on the productivity of perennial and Italian ryegrasses. *Plant Pathol* 36:73-78.
- Charles, A.H. 1966. Variation in grass and clover populations in response to agronomic selection pressure. 10th Int Grassl Congr, pp. 626-629.
- Charmet, G., F. Balfourier. 1994. Isoenzyme variation and species relationships in the genus *Lolium* L. (ryegrasses, Gramineae). *Theor Appl Genet* 87:641-649.
- Charmet, G., C. Imbert, F. Balfourier. 2000. Evidence for phylogeographic structure in *Lolium* species related to the spread of agriculture in Europe. A cpDNA study. *Theor Appl Genet* 101:131-138.
- Charmet, G., C. Ravel, F. Balfourier. 1997. Phylogenetic analysis in the *Festuca-Lolium* complex using molecular markers and ITS rDNA. *Theor Appl Genet* 94:1038-1046.
- Cho, Y.G., T. Ishii, S. Temnykh, X. Chen, L. Lipovich, S.R. McCouch, W.D. Park, N. Ayres, S. Cartinhour. 2000. Diversity of microsatellites derived from genomic libraries and GenBank sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet* 100:713-722.
- Clarke, R.G., O.N. Villalta, G. Hepworth. 1997. Evaluation of resistance to five isolates of *Puccinia coronata* f. sp. *lolii* in 19 perennial ryegrass cultivars. *Austr J Agric Res* 48: 191-198.
- Clayton, W.D., S.A. Renvoize. 1986. Genera Graminum: grasses of the world. *Kew Bull* 13:1-389.
- Coleman, P.C. 1977. Spatial and temporal variation in population structure of *Lolium multiflorum* Lam. (Italian Ryegrass). PhD Thesis, University of California, Davis.

- Cordeiro, G.M., R. Casu, C.L. McIntyre, J.M. Manners, R.J. Henry. 2001. Microsatellite markers from sugarcane (*Saccharum* spp.) ESTs cross transferable to erianthus and sorghum. *Plant Sci* 160:1115-1123.
- Cornelius, P.L., J.W. Dudley. 1974. Effects of inbreeding by selfing and full-sib mating in a maize population. *Crop Sci* 14:818-819.
- Cornish, M.A., M.D. Hayward, M.J. Lawrence. 1979. Self-incompatibility in ryegrass. I. Genetic control in the diploid *Lolium perenne* L. *Heredity* 43:95-106.
- Cresswell, A., N.R.S. Hamilton, A.K. Roy, B.M.F. Viegas. 2001. Use of amplified fragment length polymorphism markers to assess genetic diversity of *Lolium* species from Portugal. *Mol Ecol* 10:229-241.
- Dangl, J.L., C. Ritter, M.J. Gibbon, L.A. Mur, J.R. Wood, S. Goss, J. Mansfield, J.D. Taylor, A. Vivian. 1992. Functional homologs of arabidopsis *RPML* disease resistance gene in bean and peas. *Plant Cell* 4:1359-1369.
- Dehmer, K.J. 2001. Conclusions on the taxonomy of the *Solanum nigrum* complex by molecular analyses of IPK germplasm accessions. In: R.G. van den Berg, G.W.M. Barendse, G.M. van der Weerden, C. Mariani (eds), *Solanaceae V*, pp. 85-96. Nijmegen University Press, NL.
- Demesure, B., B. Comps., R.J. Petit. 1996. Chloroplast DNA phylogeography of the common beech (*Fagus sylvatica* L.) in Europe. *Evolution* 50:2515-2520.
- Dice, L.R. 1945. Measures of the amount of ecological associations between species. *Ecol* 26:297-302.
- Doyle, J.J., J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.
- Dubcovsky, J., M.C. Luo, G.-Y. Zhong, R. Bransteitter, A. Desai, A. Kilian, A. Kleinhofs, J. Dvorák. 1996. Genetic map of diploid wheat, *Triticum monococcum* L., and its comparison with maps of *Hordeum vulgare* L. *Genetics* 143:983-999.
- Dumolin-Lapegue, S., B. Demesure., S. Fineschi, V.L. Corre, R.J. Petit. 1997. Phylogeographic structure of white oaks throughout the European continent. *Genetics* 146:1475-1487.
- Eickmeyer, F. 1994. Erstellung von molekularen Markern und Untersuchungen zur Hybridzüchtung mit Hilfe der genetischen Inkompatibilität bei Weidelgras - Arten (*Lolium* ssp.). Dissertation Universität Hannover.

- Elgersma, A. 1985. Floret site utilization in grasses: definitions, breeding perspectives and methodology. *J Appl Seed Prod* 3:50-54.
- Elgersma, A. 1990a. Genetic variation for seed yield in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Plant Breed* 105:117-125.
- Elgersma, A. 1990b. Seed yield related to crop development and to yield components in nine cultivars of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Euphytica* 49:141-154.
- Elgersma, A. 1990c. Heritability estimates of spaced-plant traits in three perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars. *Euphytica* 51:163-171.
- Elgersma, A., R. Śniezko. 1988. Cytology of seed development related to floret position in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Euphytica* S:59-68.
- Elgersma, A., J.E. Leeuwangh, H.J. Wilms. 1988. Abscission and seed shattering in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Euphytica* S:51-57.
- Elgersma, A., A.G. Stephenson, A.P.M. den Nijs. 1989. Effects of genotype and temperature on pollen tube growth in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Sex Plant Reprod* 2:225-230.
- Emoto, T. 1985. Isoenzyme variation in the genus *Lolium*. I. Phylogenetic relationships of *Lolium* species. *J Jap Soc Grassland Sci* 30:327-334.
- Erpelding, J.E., N.K. Blake, T.K. Blake, L.E. Talbert. 1996. Transfer of sequence tagged site PCR markers between wheat and barley. *Genome* 39:802-810.
- Evans, A.W., D.S. Muncey. 1977. Report of the results of trials between 1972-1975 to assess the seed production performance of a range of ryegrass varieties. *J Nat Inst Agric Bot* 14:742-754.
- Falconer, D.S., T.F.C. Mackay. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*. 4th edn. Addison-Wesley Longman Ltd, London.
- Fearon, C.H., M.D. Hayward, M.J. Lawrence. 1983. Self-incompatibility in ryegrass. V. Genetic control, linkage and seed-set in diploid *Lolium multiflorum* Lam. *Heredity* 50:35-45.
- Fernando, W.M.U., M.D. Hayward, M.J. Kearsey. 1997. Isozyme and quantitative traits polymorphisms in European provenances of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Euphytica* 93:263-269.

- Feuerstein, U. 1997. Einsatz von modernen Methoden zur Beschreibung der genetischen Diversität am Beispiel von Gräsern. In: F. Begemann (ed), Züchterische Nutzung pflanzengenetischer Ressourcen, pp. 71-80. Schriften zu genetischen Ressourcen Bd 8.
- Fischer-Weyer, H., H. Freudenstein. 1995. Variety testing of fodder plants (grasses and clovers) in Germany. Proc 3rd Int Herbage Seed Conf, pp. 143-146.
- Forster, C.A. 1971a. A study of the theoretical expectation of F₁ hybridity resulting from bulk interpopulation hybridization in herbage grasses. J Agric Sci 76:295-300.
- Forster, C.A. 1971b. Interpopulational and intervaretal hybridization in *Lolium perenne* breeding: heterosis under non-competitive conditions. J Agric Sci 76:107-130.
- Forster, J.W. 1999. The International *Lolium* Genome Initiative. Plant Animal Genome VII:W100.
- Forster, J.W., E.S. Jones, R. Kölliker, M.C. Drayton, J. Dumsday, M.P. Dupal, K.M. Guthridge, N.L. Mahoney, E. van Zijl de Jong, K.F. Smith. 2001. Development and implementation of molecular markers for forage crop improvement. In: G. Spangenberg (ed), Proc of 2nd Internat Symp on Molecular Breeding in Forage Crops, pp. 101-133. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, The Netherlands.
- Fried, P.M., E. Meister. 1987. Inheritance of leaf and head resistance of winter wheat to *Septoria nodorum* in a diallel cross. Phytopathol 77:1371-1375.
- Gale, M.D., K.M. Devos. 1998. Plant comparative genetics after 10 years. Science 282:656-659.
- Gallais, A. 1974. Selection among synthetics. Theor Appl Genet 44:24-30.
- Gallais, A. 1975. Prévision de la vigueur et sélection des parents d'une variété synthétique. Ann Amélior Plantes 25:233-264.
- Gaue, I. 1981. Ergebnisse von Untersuchungen zur Hybridzüchtung bei *Lolium perenne*. Dtsch Akad Landwirtschaftswiss Berlin 191:119-126.
- Gaue, I., W. Luesink, L. Wolters, O. Dolstra, M. Frauen. 2003. Performance of F₁-hybrids in *Lolium perenne* under different nitrogen regimes. Vort Pflanzenzüchtg 59:116-120.
- Gaut, B.S., L.P. Tredway, C. Kubik, R.L. Gaut, W. Meyer. 2000. Phylogenetic relationship and genetic diversity among members of the *Festuca-Lolium* complex (Poaceae) based in ITS sequence data. Plant Syst Evol 224:33-53.

- Geiger, H.H. 1990. Wege, Fortschritte und Aussichten der Hybridzüchtung. In: G. Haug, G. Schuhmann, G. Fischbeck, Pflanzenproduktion im Wandel. VCH, Weinheim.
- Geiger, H.H., M. Heun. 1989. Genetics of quantitative resistance to fungal disease. *Ann Rev Pathol* 27:317-341.
- Geiger H.H., F.W. Schnell. 1970. Cytoplasmatic male sterility in rye (*Secale cereale* L.). *Crop Sci* 10:590-593.
- Gertz, A. 1989. Die Nutzung der Selbstinkompatibilität in der Roggenzüchtung unter besonderer Berücksichtigung der Entwicklung von Hybridsorten. Dissertation Universität Hannover.
- Gilliland, T.J., M.S. Camlin, C.E. Wright. 1982. Evaluation of phosphoglucisomerase allozyme electrophoresis for the identification and registration of cultivars of perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Seed Sci and Technol* 10:415-430.
- Gilliland, T.J., R. Coll, E. Calsyn, M. De Loose, M.J.T. van Eijk, I. Roldan-Ruiz. 2000. Estimating genetic conformity between related ryegrass (*Lolium*) varieties. 1. Morphology and biochemical characterisation. *Mol Breed* 6:569-580.
- Gilmore, E.C. 1969. Effect of inbreeding of parental lines on predicted yields of synthetics. *Crop Sci* 9:102-104.
- Giordano, M., J.P. Oefner, P.A. Underhill, L. Luca Cavalli Sforza, R. Tosi, P.M. Richiardi. 1999. Identification by denaturing high-performance liquid chromatography of numerous polymorphisms in a candidate region for multiple sclerosis susceptibility. *Genomics* 56:247-253.
- Griffiths, D.J. 1965. Breeding for higher seed yields from herbage varieties. *J Nat Inst Agric Bot* 10:320-331.
- Griffith, H.E., D.G. Jones. 1987. Components of partial resistance as criteria for identifying resistance. *Ann Appl Biol* 110:630-710.
- Guthridge, K.M., M.P. Dupal, R. Kölliker, E.S. Jones, K.F. Smith, J.W. Forster. 2001. AFLP analysis of genetic diversity within and between populations of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Euphytica* 122:191-201.
- Hallauer, A.R., J.H. Sears. 1973. Changes in quantitative traits associated with inbreeding in a synthetic variety of maize. *Crop Sci* 13:327-330.
- Harrison J., C. Tonkinson, C. Eagles, C. Foyer. 1997. Acclimation to freezing temperatures in perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Acta Physiol Plant* 19:505-515.

- Hayman, D.L., J. Richter. 1992. Mutations affecting self-incompatibility in *Phalaris coerulescens* Desf. (Poaceae). *Heredity* 68:495-503.
- Hayward, M.D. 1977. Genetic control of resistance to crown rust (*Puccinia coronata* Corda) in ryegrass (*Lolium perenne* L.) and its implication in plant breeding. *Theor Appl Genet* 51:49-53.
- Hayward, M.D., N.J. McAdams. 1977. Isoenzyme polymorphism as a measure of distinctiveness and stability in cultivars of *Lolium perenne*. *Z Pflanzenzüchtg* 79:59-68.
- Hayward, M.D., J.L. Vivero. 1984. Selection for yield in *Lolium perenne*. II. Performance of spaced plant selections under competitive conditions. *Euphytica* 33:787-800.
- Hayward, M.D., L.D. Gottlieb, N.J. McAdams. 1978. Survival of allozyme variants in swards of *Lolium perenne* L. *Z Pflanzenzüchtg* 81:228-234.
- Hayward, M.D., J.W. Forster, J.G. Jones, O. Dolstra, C. Evans, N.J. McAdams, K.G. Hossein, M. Stammers, J.A.K. Will, M.O. Humphreys, G.M. Evans. 1998. Genetic analysis of *Lolium*. I. Identification of linkage groups and their establishment of a genetic map. *Plant Breed* 117:451-455.
- Hayward, M.D., N.J. McAdams, J.G. Jones, C. Evans, G.M. Evans, J.W. Forster, A. Ustin, K.G. Hussain, B. Quader, M. Stammers, J.A.K. Will. 1994. Genetic markers and the selection of quantitative traits in forage grasses. *Euphytica* 77:269-275.
- Heard, A.J., J. A'Brook, E.T. Roberts, J.R. Cook. 1974. The incidence of ryegrass mosaic virus in crops of ryegrass grown for seed in some southern countries of England. *Plant Pathol* 23:119-127.
- Hill, M.J. 1980. Temperate pasture grass-seed crops: formative factors. In: P.D. Hebblethwaite (ed), *Seed production*, pp. 137-150. Butterworths, London.
- Hill, Jr., R.R. 1971. Effect of the number of parents on the mean and variance of synthetic varieties. *Crop Sci* 11:283-286.
- Hoffmann, W., A. Mudra, W. Plarre. 1970. *Lehrbuch der Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen*. Bd. 2, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- Holmes, S.J.I. 1980. Field studies on the effects of ryegrass mosaic infection on the yield of Italian ryegrass cv. S22. *Ann Appl Biol* 96:209-217.

- Holmes, S.J.I. 1983. The susceptibility of agricultural grasses to pre-emergence damage caused by *Fusarium culmorum* and its control by fungicide seed treatment. *Grass For Sci* 38:209-214.
- Hovin, A.W., H.D. Hill. 1966. B-chromosomes, their origin and relation to meiosis in interspecific *Lolium* hybrids. *Am J Bot* 53:702-708.
- Huff, D.R. 1997. RAPD characterisation heterogeneous perennial ryegrass cultivars. *Crop Sci* 37:557-564.
- Humphreys M.O. 1989a. Water-soluble carbohydrates in perennial ryegrass breeding. I. Genetic differences among cultivars and hybrid progeny grown as spaced plants. *Grass For Sci* 44:231-236.
- Humphreys M.O. 1989b. Water-soluble carbohydrates in perennial ryegrass breeding. II. Cultivar and hybrid progeny performance in cut plots. *Grass For Sci* 44:237-244.
- Humphreys M.O. 1989c. Water-soluble carbohydrates in perennial ryegrass breeding. III. Relationships with herbage production, digestibility and crude protein content. *Grass For Sci* 44:423-430.
- Humphreys M.O. 1992. Association of agronomic traits with isoenzyme loci in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Euphytica* 59:141-150.
- Humphreys M., L. Turner. 2003. Nutritive quality QTL and marker assisted selection in ryegrass. *Vort Pflanzenzüchtg* 59:280-288.
- Huth, W. 1994. Significance of virus infections on pastures and turf grasses in Central Europe, pp. 21-26. *Int Conf Harm Ben Microorg Grassland, Pasture, Turf*. Paderborn, Germany.
- Internationaler Nomenklatur-Code 1969. International Code of Nomenclature for Cultivated Plants. Utrecht, Niederlande.
- IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature. 1972. The nomenclature of multiple forms of isoenzymes. Recommendations. *Biochim Biophys Acta* 258:1-3.
- Jaccard, P. 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull SOC Vaudoise Sci Nat* 44:223-270.
- Jauhar, P.P. 1993. Cytogenetics of the *Festuca-Lolium* complex. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.

- Jenkin, T.J. 1959. The ryegrass (*Lolium* L.). In: Th. Roemer , W. Rudolf (eds), Handbuch der Pflanzenzüchtung 4, pp. 443-448. Paul Parey, Berlin.
- Jensen, H.A. 1976. Investigation of anthesis, length of caryopsis, moisture content, seed weight, seed shadding and striping ripeness during development and ripening of a *Festuca pratensis* seed crop. Acta Abrie Scandinavica 26:264-268.
- Jones, C.J., K.J. Edwards, S. Castaglione, M.O. Winfield, F. Sala, C. van de Wiel, G. Bredemeijer, B. Vosman, M. Matthes, A. Daly, R. Brettschneider, P. Bettini, M. Buiatti, E. Maestri, A. Malcevski, N. Marmioli, R. Aert, G. Volckaert, J. Rueda, R. Linacero, A. Vazquez, A. Karp. 1997. Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. Mol Breed 3:381-390.
- Jones, E.S., M.P. Dupal, J.L. Dumsday, L.J. Hughes, J.W. Forster. 2002b. An SSR-based genetic linkage map for perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Theor Appl Genet 105:577-584.
- Jones, E.S., M.P. Dupal, R. Kölliker, M.C. Dryton, J.W. Forster. 2001. Development and characterisation of simple sequence repeat (SSR) markers for perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Theor Appl Genet 102:405-415.
- Jones, E.S., N.L. Mahoney, M.D. Hayward, I.P. Armstead, J.G. Jones, M.O. Humphreys, T. Kashida, T. Yamada, F. Balfourier, G. Charmet, J.W. Forster. 2002a. An enhanced molecular marker-based genetic map of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) reveals comparative relationships with other Poaceae genomes. Genome 45:282-295.
- Jones, R.N., P. Jenabzadeh. 1981. Variation in self-fertility, flowering time and inflorescence production in inbred *Lolium perenne* L. J Agric Sci 96:521-537.
- Jonsson, H.A., L.G. Engqvist, C. Nilsson. 1998. Recurrent selection for crown rust resistance in tetraploid perennial ryegrass. In: Genetics and Breeding for Crop Quality and Resistance. Proc 15th EUCARPIA General Congress, Viterbo, Italy.
- Kalb, O., W.E. Weber. 2000. Evaluation of inbred lines in Italian ryegrass. In: P. Monjardino, A. da Câmara, V. Carnide (eds.), Breeding for stress tolerance in fodder crops and amenity grasses, pp. 63-65. Proc 23rd Meeting of Fodder Crops and Amenity Grasses Section of EUCARPIA, Azores, Portugal.
- Kaul, M.L.H. 1988. Male Sterility in Higher Plants. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.

- Keim, P., J.M Schupp, S.E. Travis, K. Clayton, T. Zhu, L.A. Shi, A. Ferreira, D.M. Webb. 1997. A high-density soybean genetic map based on AFLP markers. *Crop Sci* 37:537-543.
- Kennedy, S.J., S.J. Gardiner, T.J. Gilliland, M.S. Camlin. 1985. The use of electrophoretic techniques to distinguish perennial ryegrass cultivars when sown in mixtures. *J Agric Sci Camb* 104:1-9.
- Kimbeng, C.A. 1999. Genetic basis of crown rust resistance in perennial ryegrass, breeding strategies, and genetic variation among pathogen populations: a review. *Austr J Exp Agri* 39:361-378.
- King, I.P., W.G. Morgan, I.P. Armstead, J.A. Harper, M.D. Hayward, A. Bollard, J.V. Nash, J.W. Forster, H.M. Thomas. 1998. Introgression mapping in the grasses. I. Introgression of *Festuca pratensis* chromosomes and chromosome segments into *Lolium perenne*. *Heredity* 81:462-467.
- Kinman, M.L., G.F. Sprague. 1945. Relation between number of parental lines and theoretical performance of synthetic varieties of corn. *J Am Soc Agron* 37:341-351.
- Klapp, E., W. Opitz von Boberfeld. 1990. Taschenbuch der Gräser. 12. Auflage. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- Klemm, V. 1999. Entwicklung des Züchtungsfortschrittes aus der Sicht des Bundessortenamtes an den Beispielen Deutsches Weidelgras und Rotklee. *Vortr Pflanzenzüchtg* 44:92-101.
- Knowles, R.P. 1977. Recurrent mass selection for improved seed yields in intermediate wheatgrass. *Crop Sci* 17:51-54.
- Knowles, R.P., H. Baenzinger. 1962. Fertility indices in cross-pollinated grasses. *Can J Plant Sci* 42:460-471.
- Kobabe, G. 1982. Untersuchungen an Experimentalhybriden bei Welschem Weidelgras (*Lolium multiflorum* Lam.). *Z Pflanzenzüchtg* 88:265-277.
- Kölliker, R., F.J. Stadelmann, B. Reidy, J. Nösberger. 1999. Genetic variability of forage grass cultivars: A comparison of *Festuca pratensis* Huds., *Lolium perenne* L., and *Dactylis glomerata* L. *Euphytica* 106:261-270.
- Kosambi, D.D. 1944. The estimation of map distances from recombination values. *Ann Eugen* 12:172-175.

- Kota, R., M. Wolf, W. Michalek, A. Graner. 2001. Application of denaturing high-performance liquid chromatography for mapping of single nucleotide polymorphisms in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Genome* 44:523-528.
- Kubik, C., W.A. Meyer, B.S. Gaut. 1999. Assessing the abundance and polymorphism of simple sequence repeats in perennial ryegrass. *Crop Sci* 39:1136-1141.
- Kubik, C., W.A. Meyer, B.S. Gaut. 2001. Genetic diversity in seven perennial ryegrass (*Lolium perenne*) cultivars based on SSR markers. *Crop Sci* 41:1565-1572.
- Lallemand, J., P. Lem, M. Ghesquiere, G. Charmet, F. Balfourier. 1998. Potentiality of STS for variety distinction in ryegrass. In: Working Group on Biochemical and Molecular Techniques and DNA profiling in particular. 5th Session, Beltsville, USA. September 28-30, 1998. UPOV (ed), BMT/S/11.
- Lam, A. 1983. A survey of ryegrass swards for the presence of fungal pathogens in relation to management. *Grass For Sci* 38:55-65.
- Lam, A. 1985. Effect of fungal pathogens on digestibility and chemical composition of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) and tall fescue (*Festuca arundinacea*). *Plant Pathol* 34:190-199.
- Lancashire, J.A., G.C.M. Latch. 1966. Some effects of crown rust (*Puccinia coronata* Corda) on the growth of two ryegrass varieties in New Zealand. *N Zeal J Agric Res* 9:628-640.
- Latch, G.C.M. 1997. An overview of *Neotyphodium*-grass interactions. In: C.W. Bacon, N.S. Hill (eds), *Neotyphodium/Grass Interactions*, pp. 1-11. Plenum New York.
- Leister, D., A. Bollvora, F. Salamini, C. Gebhardt. 1996. A PCR based approach for isolating pathogen resistance genes from potato with potential for wide application in plants. *Nat Genet* 14:421-429.
- Lellbach, H. 2003. Resistance to crown rust of ryegrass cultivars tested in the field (Eucarpia multisite rust evaluation) and *In Situ* (leaf-segment test). In: Eucarpia fodder crops section meeting. 1-4 Sept 2003, Brno.
- Lellbach, H., P. Wehling. 2000. Genetic analysis of crown rust resistance in *Lolium perenne*. In: P. Monjardino, A. da Câmara, V. Carnide (eds.), *Breeding for stress tolerance in fodder crops and amenity grasses*, pp. 108-111. Proc 23rd Meeting of Fodder Crops and Amenity Grasses Section of Eucarpia. Azores, Portugal.

- Lewis, G.C. 1989. Factors affecting the effects of fungicide treatment on seedling emergence of perennial ryegrass (*Lolium perenne*). Grass For Sci 44:417-422.
- Lewis, G.C. 1992. Foliar fungal disease of perennial ryegrass at 16 sites in England and Wales. Crop Prot 11:35-38.
- Lewis, G.C., R.H. Lavender, T.M. Martyn. 1996. The effect of propiconazole on foliar fungal diseases, herbage yield and quality of perennial ryegrass. Crop Prot 15:91-95.
- Lewis, G.C., C. Ravel, W. Naffa, C. Astier, G. Charmet. 1997. Occurrence of *Acremonium* endophytes of wild populations of *Lolium* spp. in European countries and a relationship between level of infection and climate in France. Ann Appl Biol 130:227-238.
- Lin, X., S. Kaul, S. Rounsley, T.P. Shea, M.-I. Benito, C.D. Town, C.Y. Fujii, T. Mason, C.L. Bowman, M. Barnstead, T.V. Feldblyum, C.R. Buell, K.A. Ketchum, J. Lee, C.M. Ronning, H.L. Koo, K.S. Moffat, L.A. Cronin, M. Shen, G. Pai, S. van Aken, L. Umayam, L.J. Tallon, J.E. Gill, M.D. Adams, A.J. Carrera, T.H. Creasy, H.M. Goodman, C.R. Somerville, G.P. Copenhaver, D. Preuss, W.C. Nierman, O. White, J.A. Eisen, S.L. Salzberg, C.M. Fraser, J.C. Venter. 1999. Sequence and analysis of chromosome 2 of the plant *Arabidopsis thaliana*. Nature 402:761-768.
- Lindhoff, V. 2003. Dürresommer 2003 – Fatale Verluste für die Bauern. Neue Landwirtschaft 8:20-23.
- Lonnquist, J.H., M.F. Lindsey. 1964. Topcross versus S₁ line performance in corn (*Zea mays* L.). Crop Sci 4:580-584.
- Loos, B.P. 1993. Allozyme variation within and between populations in *Lolium* (Poaceae). Plant Syst Evol 188:101-113.
- Lowe, C.C., R.W. Cleveland, R.R., Jr., Hill. 1974. Variety synthesis in alfalfa. Crop Sci. 14:321-325.
- Lundquist, A. 1990. A postcygotically acting lethal gene linked to one of the four S-loci in *Ranunculus polyanthemos*. Hereditas 113:87-90.
- Lundqvist, A. 1956. Self incompatibility in rye. I. Genetic control in the diploid. Hereditas 42:293-348.
- Lütke Entrup, E. 1982. Eine Zuchtmethod bei perennierenden Gräsern. Vortr Pflanzenzüchtg 1:89-96.

- Matzk, F. 1974. Selbstfertilität, Inzuchtdepression und kreuzungstechnische Experimente bei *Lolium*. Arch Züchtungsforsch Berlin 4:141-151.
- Maguire, T.L., R. Peakall, P. Saenger. 2002. Comparative analysis of genetic diversity in the mangrove species *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (Avicenniaceae) detected by AFLPs und SSRs. Theor Appl Genet 104:388-398.
- Malik, C.P., P.T. Thomas. 1966. Karyotypic studies in some *Lolium* and *Festuca* species. Caryologia 19:167-196.
- Mangelsdorf, P.C. 1951. Hybrid corn: its genetic basis and its significance in human affairs. In: L.C. Dunn (ed), Genetics in the 20th century, pp. 555-571. Macmillan Co, New York.
- Mano, Y., B.E. Sayed-Tabatabaei, A. Graner, T. Blake, F. Takaiwa, S. Oka, T. Komatsuda. 1999. Map construction of sequence-tagged sites (STSS) in barley (*Hordeum vulgare* L.). Theor Appl Genet 98:937-946.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and generalized regression approach. Cancer Res 27:209-220.
- Marshall, C. 1985. Developmental and physiological aspects of seed production in grasses. J Appl Seed Prod 3:43-49.
- McAdams, N.J., M.W. Humphreys, T.M.P. Michaelson-Yates. 1984. Isoenzyme polymorphism in grasses and clover, pp. 36-37. Ann Rep Welsh Plant Breed St.
- McAdams, N.J., J. Senior, M.D. Hayward. 1987. Testing the efficiency of pollination bag material. Plant Breed 98:178-180.
- McKenzie, E.H.C. 1971. Seasonal changes of fungal spore number in ryegrass-white clover pasture, and effects of benomyl on pasture fungi. NZ J Agric Res 14:379-392.
- Meijer, W.J.M. 1985. The effect of uneven ripening on floret site utilization in perennial ryegrass seed crops. J Appl Seed Prod 3:55-57.
- Meksem, K., E. Ruben, D. Hyten, K. Triwitayakorn, D.A. Lightfoot. 2001. Conversion of AFLP bands into high-throughput DNA markers. Mol Genet Genomics 265:207-214.
- Morell, M.K., R. Peakall, R. Appels, L.R. Preston, H.L. Lloyd. 1995. DNA profiling techniques for plant variety identification. Austr J Exp Agr 35:807-819.
- Mühle, E. 1971. Krankheiten und Schädlinge der Futtergräser. S. Hirzel Verlag Leipzig.

- Muylle, H., E. van Bockstaele, I. Roldan-Ruiz. 2003. Genetic dissection of crown rust resistance in a *Lolium perenne* mapping population. *Vortr Pflanzenzüchtg* 59:217-224.
- Namuth, D.M., N.L.V. Lapitan, K.S. Gill, B.S. Gill. 1994. Comparative RFLP mapping of *Hordeum vulgare* and *Triticum tauschii*. *Theor Appl Genet* 89:865-872.
- Naylor, B. 1960. Species differentiation in the genus *Lolium*. *Heredity* 15:219-233.
- Naylor, B., H. Rees. 1958. Chromosome size in *L. perenne* und *L. temulentum*. *Nature* 181:854-855.
- Neale, D.B., D.E. Harry. 1994. Genetic mapping in forest trees: RFLPs, RAPDs and beyond. *AgBiotech News Inf* 6:107N-114N.
- Nguyen, H.T., D.A. Sleper. 1983. Genetic variability of seed yield and reproductive characters in tall fescue. *Crop Sci* 32:621-626.
- NIAB. 1998. NIAB Recommended Lists of Grasses and Herbage Legumes 1998/99: Grasses and Herbage Legumes Variety Leaflet, p. 48. NIAB, Cambridge.
- Nielsen, G., H. Ostergaard, H. Johansen. 1985. Cultivar identification by means of isoenzymes. II. Genetic variation at four enzyme loci in diploid ryegrass. *Z Pflanzenzüchtg* 94:74-86.
- Nitzsche, W. 1971. Cytoplasmatische männliche Sterilität bei Weidelgras (*Lolium* ssp.). *Z Pflanzenzüchtg* 65:206-220.
- Nitzsche, W. 1980. Weidelgräser. In: H. Kappert, W. Rudolf (eds), *Handbuch der Pflanzenzüchtung*. Bd. 4, 3. Aufl., pp. 383-397. Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg.
- Nösberger, J., W. Opitz von Boberfeld. 1986. *Grundfutterproduktion*. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- Oertel, K., F. Matzk. 1999. Introgression of crown rust resistance from *Festuca* ssp. into *Lolium multiflorum*. *Plant Breed* 118:491-496.
- Oetting, W.S., H.K. Lee, D.J. Flanders, G.L. Wiesner, T.A. Sellers, R.A. King. 1995. Linkage analysis with multiplexed short tandem repeat polymorphism using infrared fluorescence and M13 tailed primers. *Genomics* 30:450-458.
- Olesen, A., S.B. Andersen, I.K. Due, 1988. Anther culture response in perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Plant Breed* 101:60-65.

- Ostergaard, H., G. Nielsen. 1981. Cultivar identification by means of isoenzymes. I. Genotypic survey of the *Pgi-2* locus in tetraploid ryegrass. *Z Pflanzenzüchtg* 87:121-132.
- Parsons, A.J., D.F. Chapman. 2000. The principles of pasture growth and utilization. In: A. Hopkins (ed), *Grasses - its production and utilization*, pp. 31-89. 3rd ed, Blackwell Science Ltd Malden, USA.
- Pejic, I., P. Ajmone-Marsan, M. Morgante, V. Kozumplick, P. Castiglioni, G. Taramino, M. Motto. 1998. A comparative analysis of genetic similarity among maize inbred lines detected by RFLPs, RAPDs, SSRs, and AFLPs. *Theor Appl Genet* 97:1248-1255.
- Plummer, R.M., R.L. Hall, T.A. Watt. 1990. The influence of crown rust (*Puccinia coronata* var. *lolii*) on tiller production and survival of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) plants in simulated swards. *Grass For Sci* 45:9-16.
- Posselt, U.K. 1984. Hybridzüchtung bei *Lolium perenne*. *Vortr Pflanzenzüchtg* 5:87-100.
- Posselt, U.K. 1989. Comparison of progeny-testing methods in *Lolium perenne* L. II. *S₁ per se* vs. testcross progenies. *Plant Breed* 103:177-180.
- Posselt, U.K. 1993. Hybrid production in *Lolium perenne* based on incompatibility. *Euphytica* 71:29-33.
- Potter, L.R. 1987. Effect of crown rust on regrowth, competitive ability and nutritional quality of perennial and Italian ryegrass. *Plant Pathol* 36:455-461.
- Potter, L.R., B. Cagas, V.H. Paul, E. Birckenstaedt. 1990. Pathogenicity of some European collections of crown rust (*Puccinia coronata* Corda) on cultivars of perennial ryegrass. *J Phytopath* 130:119-126.
- Powell, R.G., R.J. Petroski. 1992. Alkaloid toxins in endophyte-infected grasses. *Natur Tox* 1:163-170.
- Powell, W., M. Morgante, C. Andre, M. Hanafey, J. Vogel, S. Tingey, A. Rafalski. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol Breed* 2:225-238.
- Preston, L.R., N. Harker, T. Holton, M.K. Morell. 1999. Plant cultivar identification using DNA analysis. *Plant Var Seeds* 12:191-205.
- Price, T. 1987. Ryegrass rust in Victoria. *Plant Prot Quart* 2:189.

- Quaite, E., M.S. Camlin. 1986a. Electrophoretic labelling of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars for the examination of seeds mixtures. *Seed Sci and Technol* 14:553-566.
- Quaite, E., M.S. Camlin. 1986b. The use of electrophoretically labelled populations for intraspecific competition studies in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) swards. *J agric Sci Camb* 106:99-106.
- Radatz, W. 1973. Untersuchungen zur Histologie des Samenausfalles bei Futtergräsern. Züchtung und Saatguterzeugung von Kleearten und Gräsern. Frankfurt/M, DLG-Verlag.
- Radojevic, I., R.J. Simpson, J.A. St John, M.O. Humphreys. 1994. Chemical composition and *in vitro* digestibility of lines of *Lolium perenne* selected for high concentrations of water-soluble carbohydrate. *Austr J Agric Res* 45:901-912.
- Rajeshwari, R., S. Sivaramakrishnan, R.L. Smith, N.C. Subrahmanyam. 1994. RFLP analysis of mitochondrial DNA from cytoplasmic male-sterile lines of pearl millet. *Theor Appl Genet* 88:441-448.
- Ramsay, L., M. Macaulay, D.S. Ivanissevich, K. MacLean, L. Cardle, J. Fuller, K.J. Edwards, S. Tuveson, M. Morgante, A. Massari, E. Maestri, N. Marmiroli, T. Sjakste, M. Ganai, W. Powell, R. Waugh. 2000. A simple sequence repeat-based linkage map of barley. *Genetics* 156:1997-2005.
- Reheul, D. 2000. Breeding Methods. In: P. Monjardino, A. da Câmara, V. Carnide (eds), *Breeding for stress tolerance in fodder crops and amenity grasses*, pp. 240-244. *Proc 23rd Meeting of Fodder Crops and Amenity Grasses Section of Eucarpia*. Azores, Portugal.
- Reheul, D., M. Ghesquiere. 1996. Breeding perennial ryegrass with better crown rust resistance. *Plant Breed* 115:465-469.
- Reheul, D., J. Beart, A. Ghesquiere. 2003b. Progress in Breeding perennial fodder grasses. 1. In search of tetraploid ryegrass with a higher dry matter content (DMC). In: *Eucarpia fodder crops section meeting*. 1-4 Sept 2003, Brno.
- Reheul, D., J. Beart, A. Ghesquiere, B. Waters, M. Humphreys, A.J.P. van Wijk, H. Scheller, L. Röhl. 2003a. Progress in Breeding perennial fodder grasses. 2. Differences between SYN1 and SYN2 varieties of *Lolium perenne* L. In: *Eucarpia fodder crops section meeting*. 1-4 Sept 2003, Brno.

- Roderick, H.W., D. Thorogood, B. Adomako. 2000. Temperature-dependent resistance to crown rust infection in perennial ryegrass, *Lolium perenne*. Plant Breed 119:93-95.
- Roderick, H.W., M.O. Humphreys, L. Turner, I. Armstead, D. Thorogood. 2003. Isolate specific quantitative trait loci for resistance to crown rust in perennial ryegrass. Vort Pflanzenzüchtg 59:244-247.
- Rognli, O.A. 1987. Genetic variation in arctic populations of timothy (*Phleum pratense* L.). I. Seed production characters. Hereditas 107:27-54.
- Roldan-Ruiz, I., J. Dendauw, E. van Bockstaele, A. Depicker, M. De Loose. 2000a. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). Mol Breed 6:125-134.
- Roldan-Ruiz, I., E. Calsyn, T.J. Gilliland, R. Coll, M.T.J. van Eijk, M. De Loose. 2000b. Estimating genetic conformity between related ryegrass (*Lolium*) varieties. 2. AFLP characterisation. Mol Breed 6:593-602.
- Roldan-Ruiz, I., F.A. van Eeuwijk, T.J. Gilliland, P. Dubreuil, C. Dillmann, J. Lallemand, M. De Loose. 2001. A comparative study of molecular and phenotypical methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) varieties. Theor Appl Genet 103:1138-1150.
- Roldan-Ruiz, I., K. van Laecke, J. De Riek, E. Calsyn, A. Depicker, E. van Bockstaele, L. Beerepoot, M. De Loose. 1997. The use of molecular markers for assessing genetic conformity between varieties of ryegrass. Med Fac Landbouw Univ Gent 62/4a:1451-1457.
- Röder, M., V. Korzun, K. Wendehake, J. Plaschke, M.-H. Tixier, P. Leroy, M.W. Ganai. 1998. A microsatellite map of wheat. Genetics 149:2007-2023.
- Ruge, B., A. Linz, I. Gaue, H. Baudis, G. Leckband, P. Wehling. 2003. Molecular characterisation of cytoplasmic male sterility in *Lolium perenne*. Vortr Pflanzenzüchtg 59:121-127.
- Saiki, R.K., D.H. Gelfand, S. Stoffel, S.J. Scharf, R. Higuchi, G.T. Horu, K.B. Mullis, H.A. Ehrlich. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science 239:487-491.

- Sato, M., M. Yamashita, S. Kato, T. Mikami, Y. Shimamoto. 1995. Mitochondrial DNA analysis reveals cytoplasmic variation within a single cultivar of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Euphytica* 83:205-208.
- Scheller, H. 1976. Ertrag und Entwicklung verschiedener Merkmale in drei aufeinanderfolgenden Vermehrungsgenerationen von synthetischen Sorten bei Lieschgras. *Bayr Landw Jb* 53:29-34.
- Scheller, H. 1982. Ertragsleistung von synthetischen Futterpflanzensorten in Abhängigkeit von Klonzahl und Vermehrungsgeneration. *Vortr Pflanzenzüchtg* 1:97-105.
- Schnell, F.W. 1982. A synoptic study of the methods and categories of plant breeding. *Z Pflanzenzüchtg* 89:1-18.
- Schöberlein, W. 1970. Untersuchungen an mehrjährigen Gramineen über die Abhängigkeit der generativen Triebbildung vom Entwicklungsstand der Herbsttriebe und Möglichkeiten seiner Beeinflussung im Hinblick auf höhere Saatguterträge. Inauguraldissertation, Universität Halle.
- Schubiger, F.X., P. Streckeisen, B. Boller. 2003. Pathogenicity of crown rust on cultivars of Italian and perennial ryegrass. *Vortr Pflanzenzüchtg* 59:208-216.
- Schwarz, G., W. Michalek, V. Mohler, G. Wenzel, A. Jahoor. 1999. Chromosome landing at the *Mla* locus in barley (*Hordeum vulgare* L.) by means of high-resolution mapping with AFLP markers. *Theor Appl Genet* 98:521-530.
- Scott, K.D., P. Eggler, G. Seaton, M. Rossetto, E.M. Ablett, L.S. Lee, R.J. Henry. 2000. Analysis of SSRs derived from grape ESTs. *Theor Appl Genet* 100:723-726.
- Shan, X., T.K. Blake, L.B. Talbert. 1999. Conversion of AFLP markers to sequence-specific PCR markers in barley and wheat. *Theor Appl Genet* 98:1072-1078.
- Siebert, K. 1975. Kriterien der Futterpflanzen einschließlich Rasengräser und ihre Bewertung zur Sortenidentifizierung. Bundesverband Deutscher Pflanzenzüchter e.V., Bonn.
- Simons, M.D. 1985. Crown rust. In: A.P. Roelfs, W.R. Bushnell (eds), *The Cereals Rust*, pp. 132-164. Academic Press, Sydney.
- Simonsen, Ø. 1976. Genetic variation in diploid and autotetraploid populations of *Lolium perenne* L. *Hereditas* 84:133-156.
- Skipp, R.A., J.G. Hampton. 1996. Fungal and bacterial disease of pasture plants in New Zealand. In: S. Chakraborty, K.T. Leath, R.A. Skipp, G.A. Pederson, R.A. Bray,

- G.C.M. Latch, F.W. Nutter Jr. (eds), Pasture and Forage Crop Pathology, pp. 216-236. ASS, CSSA, SSSA: Madison, Wisconsin.
- Skot, L., N.R. Sackville Hamilton, S. Mizen, K.H. Chorlton, I.D. Thomas. 2002. Molecular genecology of temperature response in *Lolium perenne*: 2. association of AFLP markers with ecogeography. Mol Ecol 11:1865-1876.
- Smith, K.F., R.J. Simpson, R.N. Oram, K.F. Lowe, K.B. Kelly, P.M. Evans, M.O. Humphreys. 1998. Seasonal variation in the herbage yield and nutritive value of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars with high or normal herbage water-soluble carbohydrate concentrations grown in three contrasting Australian dairy environments. Austr J Exp Agric 38:821-830.
- Sneath, P.H.A., R.R. Sokal. 1973. Numerical Taxonomy. Freeman, San Francisco. pp 573.
- Soreng, R.J., J.I. Davis. 1998. Phylogenetics and character evolution in the grass family (Poaceae): simultaneous analysis of phenotypical and chloroplast DNA restriction site character sets. Bot Rev 64:1-85.
- Stachel, M., T. Lelley, H. Grausgruber, J. Vollmann. 2000. Application of microsatellites in wheat (*Triticum aestivum* L.) for studying genetic differentiation caused by selection for adaptation and use. Theor Appl Genet 100:242-248.
- Stam, P. 1998. Crop physiology, QTL analysis and plant breeding. In: H. Lamberts, H. Poorter, M.M.I. van Vuuren (eds), Inherent Variation in Plant Growth. Physiological Mechanisms and Ecological Consequences, pp. 429-440. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands.
- Stam, P., J. W. van Ooijen. 1995. JOINMAP™ version 2.0. Software for the calculation of genetic linkage maps. CPRO-DLO, Wageningen, The Netherlands.
- Stammers, M., J. Harris, G.M. Evans, M.D. Hayward, J.W. Forster. 1995. Use of random PCR (RAPD) technology to analyse phylogenetic relationships in the *Lolium/Festuca* complex. Heredity 74:19-27.
- Stelling, U. 1995. Studies of the intraspecific composition and performance of chance-hybrids in *Lolium multiflorum* Lam. Plant Breed 114:61-65.
- Stoddart, J.L. 1964. Seed ripening in grasses. Changes in carbohydrate content. J Agric Sci 62:67-72.

- Surprenant, J., D.K. Barnes, R.H. Busch, G.C. Marten, 1988. Bidirectional selection for neutral detergent fiber and yield in reed canarygrass. *Can J Plant Sci* 68:705-712.
- Sweeney P.M., T.K. Danneberger. 1994. Random amplified polymorphic DNA in perennial ryegrass: a comparison of bulk samples vs. individuals. *Hort Sci* 29:624-626.
- Sweeney P.M., T.K. Danneberger. 1997. RAPD markers for perennial ryegrass DNA extracted from seeds. *Hort Sci* 32:1212-1215.
- Talbert, L.E., P.L. Bruckner, L.Y. Smith, R. Sears, T.J. Martin. 1996. Development of PCR markers linked to resistance to wheat streak mosaic virus in wheat. *Theor Appl Genet* 93:463-467.
- Tanksley, D., H. Medina-Filho, C.M. Rick. 1981. The effect of isozyme selection on metric characters in an interspecific backcross of tomato – basis of an early screening procedure. *Theor Appl Genet* 60:291-296.
- Tanksley, S. 1993. Mapping polygenes. *Ann Rev Genet* 27:205-233.
- Taylor, C., K. Madsen, S. Borg, M.G. Moller, B. Boelt, P.B. Holm. 2001. The development of sequence-tagged sites (STSs) in *Lolium perenne* L.: the application of primer sets derived from other genera. *Theor Appl Genet* 103:648-658.
- Terrell, E.E. 1968. A taxonomic revision of the genus *Lolium*. *Tech Bull US Dep Agric* 1392:1-65.
- Thiel, T., W. Michalek, R.K. Vashney, A. Graner. 2003. Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet* 106:411-422.
- Thomas, H., M.O. Humphreys. 1991. Progress and potential of inter-specific hybrids of *Lolium* and *Festuca*. *J Agric Sci* 117:1-8.
- Thomas, H., A.R. James. 1999. Partitioning of sugars in *Lolium perenne* (perennial ryegrass) during drought and on rewatering. *New Phytol* 142:295-305.
- Thomas, H., C. Evans, H.M. Thomas, M.W. Humphreys, W.G. Morgan, B. Hauck, I. Donnison. 1997. Introgression, tagging and expression of a leaf senescence gene in *Festulolium*. *New Phytol* 137:29-34.
- Thomas, H.M. 1981. The giemsa C-band karyotypes of six *Lolium* species. *Heredity* 56, 263-267.

- Thomas, J. 1991. Diseases of established grassland. In: Strategies for weed, disease and pest control in grassland, 3.1-3.12. Proc of BSA Conf. Brit Grassl Soc Hurley, UK.
- Thomson, A.J., A.J. Wright, H.H. Rogers. 1973. Studies on the agronomy, genetics and interrelationships of yield and its phenotypical components in a diallel set of families of *Lolium perenne* L. J Agric Sci 80:511-520.
- Thorogood, D., M.D. Hayward. 1992. Self-incompatibility in *Lolium temulentum* L.: Its genetic control and transfer into *L. perenne* L. and *L. multiflorum* Lam. Heredity 68:71-78.
- Thorogood, D., W.J. Kaiser, J.G. Jones, I.P. Armstead. 2002. Genotyping and mapping the self-incompatibility loci of *L. perenne* L. Heredity 88:385-390.
- Trang, Q.S., G. Wricke, W.E. Weber. 1982. Number of alleles at the incompatibility loci in *Secale cereale* L. Theor Appl Genet 63:245-248.
- Turner, L.B., M.O. Humphreys, A.J. Cairns, C.J. Pollock. 2001. Comparison of growth and carbohydrate accumulation in seedlings of two varieties of *Lolium perenne*. J Plant Physiol 158:891-897.
- Utz, H.F., G. Oettler. 1978. Performance of inbred lines and their topcrosses in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Z Pflanzenzüchtg 80:223-229.
- Van Bockstaele, E. 1998. Aspects of breeding perennial ryegrass (*Lolium perenne*). Plant Sci 35:690-694.
- Van Deynze, A.E., J. Dubcovsky, K.S. Gill, J.C. Nelson, M.E. Sorrells, J. Dvůrák, B.S. Gill, E.S. Lagudah, S.R. McCouch, R. Appels. 1995. Molecular-genetic maps for group 1 chromosomes of Triticeae species and their relation to chromosomes in rice and oat. Genome 38:45-59.
- Van Loo, E.N., O. Dolstra, M.O. Humphreys, L. Wolter, W. Luessink, J. de Riek, N. Bark. 2003. Lower nitrogen losses through marker assisted selection for nitrogen use efficiency and feeding value in ryegrass (NIMGRASS). Vortr Pflanzenzüchtg 59:270-279.
- Van Soest, P.P., R.H. Wine. 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell wall constituents. J Ass Off Anal Chem 50:50-56.

- Van Wijk, A.J.P. 1980. Breeding for improved herbage and seed yield in *Setaria spaelata* (Schumach.) Stapf and Hubbard ex Moss. Agric Res Rep (Versl. Landbouwk. Onderz.) 900. Pudoc, Wageningen.
- Van Wijk, A.J.P., D. Reheul. 1990. Achievements in fodder crops breeding in maritime Europe. In: A.P.M. den Nijs, A. Elgersma (eds), Achievements, novel strategies and biotechnology, pp. 13-18. Pudoc Wageningen 1991.
- Vekemans, X., T. Beauwens, M. Lemaire, I. Roldan-Ruiz. 2002. Data from amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers show indication of size homoplasy and of a relationship between degree of homoplasy and fragment size. Mol Ecol 11:139-151.
- Virk, P.S., B.V. Ford-Lloyd, H.J. Newbury. 1998. Mapping AFLP markers associated with subspecific differentiation of *Oryza sativa* (rice) and an investigation of segregation distortion. Heredity 81:613-620.
- Vogel, K.P., J.F. Pedersen. 1993. Breeding systems for cross-pollinated forage grasses. Plant Breed Revs 11:251-274.
- Vogel, K.P., F.A. Haskine, H.J. Gorz. 1980. Parent-offspring regression in indiangrass: Inflation of heritability estimates by environmental covariance. Crop Sci 20:580-582.
- Voorrips, R.E. 2002. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. J. Heredity 93:77-78.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Vandelee, M. Hornes. A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, M. Zabeau. 1995. AFLP – a new technique for DNA fingerprinting. Nucl Acids Res 23:4407-4414.
- Voylokov, A.V., F.T. Fuong, S.N. Priyatkin, N.A. Saltykovskaya, I.A. Nemova, V.G. Smirnov. 1994. Identification and location of self-fertility mutations in rye inbred lines. Russ J Genetics 30:921-927.
- Wagner, H., W.E. Weber, G. Wricke. 1992. Estimating linkage relationship of isoenzyme markers and phenotypical markers in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) including families with distorted segregations. Plant Breed 108:89-96.
- Warpeha, K.M.F., I. Capesius, T.J. Gilliland. 1998. Genetic diversity in perennial ryegrass (*Lolium perenne*) evaluated by hybridisation with ribosomal DNA: implications for cultivar identification and breeding. J Ag Sci Camb 131:23-30.

- Wehling, P. 1986. Genetische Analyse und chromosomale Lokation von Isoenzymloci beim Roggen. Dissertation Universität Hannover.
- Wei, F., K. Gobelman-Werner, S.M. Morroll, J. Kurth, L. Mao, R. Wing, D. Leister, P. Schulze-Lefert, R.P. Wise. 1999. The *Mla* (powdery mildew) resistance cluster is associated with three NBS-LRR gene families and suppressed recombination within a 240-kb DNA interval on chromosome 5S (1HS) of barley. *Genetics* 153:1929-1948.
- Weissenbach, J., G. Gyapay, C. Dib, A. Vignal, J. Morissette, P. Millasseau, G. Vaysseix, M. Lathrop. 1992. A second-generation linkage map of the human genome. *Nature* 359:794-801.
- Wexelsen, H. 1952. The use of inbreeding in forage crops. *Proc 6th Intern Grassland Congress* 1:299-305.
- Wilkins, P.W. 1975. Inheritance of resistance to *Puccinia coronata* Corda and *Rhynchosporium orthosporium* Caldwell in Italian ryegrass. *Euphytica* 24:191-199.
- Wilkins, P.W. 1978a. Specialisation of crown rust in highly and moderately resistant plants of perennial ryegrass. *Ann Appl Biol* 88:179-184.
- Wilkins, P.W. 1978b. Specialisation of crown rust (*Puccinia coronata* Corda) on clones of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.). *Euphytica* 27:837-841.
- Wilkins, P.W. 1991. Breeding perennial ryegrass for agriculture. *Euphytica* 52:201-214.
- Wilkins, P.W., D. Thorogood. 1992. Breakdown of self-incompatibility in perennial ryegrass at high temperatures and its use in breeding. *Euphytica* 52:201-214.
- Wilkinson, H.H., C.L. Schardl. 1997. The evolution of mutualism in grass-endophyte associations. In: C.W. Bacon, N.S. Hill (eds), *Neotyphodium/Grass Interactions*, pp. 13-25. Plenum, New York.
- Wilkinson, J.M., B.A. Stark. 1992. *Silage in Western Europe*. 2nd edn Chalcombe Publications, Canterbury.
- Willner, E. 1999. Erste Ergebnisse der Evaluierung von Sammlungsmaterial von *Lolium perenne* zur Bereitstellung von Ausgangsmaterial für gegenwärtige Züchtungsaufgaben. *Vort Pflanzenzüchtg* 44:110-118.
- Wofford, D.S., A.A. Baltensperger. 1985. Heritability estimates for turfgrass characteristics in bermudagrass. *Crop Sci* 25:133-136.

- Wricke, G. 1973. Inzuchtdepression und Genwirkung beim Roggen (*Secale cereale*). Theor Appl Genet 43:83-87.
- Wricke, G. 1984. Hybridzüchtung beim Roggen mit Hilfe der Inkompatibilität. Vortr Pflanzenzüchtg 5:43-54.
- Wricke, G. 1985. Hybrid breeding in rye by means of self-incompatibility. Eucarpia, Cereal Section, Rye Meeting, pp. 267-278. Svalöv, Schweden.
- Wricke, G., W.E. Weber. 1978. Number of lines for synthetic varieties in rye. Ann Amélior Plantes 28:667-674.
- Wricke, G., W.E. Weber. 1986. Quantitative Genetics and Selection in Plant Breeding. Walter de Gruyter, Berlin and New York.
- Wright, A.J. 1974. A genetic theory of general varietal ability for diploid crops. Theor Appl Genet 45:163-165.
- Wright, S. 1922. The effects of inbreeding and cross-breeding on guinea pigs. US Dep Agri Bull 1121.
- Xu, W.W., D.A. Sleper. 1994. Phylogeny of tall fescue and related species using RFLPs. Theor Appl Genet 88:685-690.
- Yamada, T., T. Kishida. 2003. Genetic analysis of forage grasses based on heterologous RFLP markers detected by rice cDNAs. Plant Breed 122:57-60.
- Young, W.P., J.M. Schupp, P. Keim. 1999. DNA methylation and AFLP marker distribution in the soybean genome. Theor Appl Genet 99:785-790.
- Zabeau, M., P. Vos. 1993. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting. European Patent Application 9240260 29.7 (publ. no.: 0534858 A1).

ANHANG

Tab. I: Di- und tetraploide Sorten und Zuchtstämme, Genbankakzessionen und Inzuchtlinien des Welschen Weidelgrases und vier Sorten des Deutschen Weidelgrases

Sorten, Akzession	Art	Ploidiestufe	Züchter	Herkunftsland	Anzahl der mit AFLPs untersuchten Genotypen (in zwei Bulks)
„Anca“	Lm	4x	Inst Cer & Indu Crops	RO	16
„Arina“	Lm	2x	Inst Cer & Indu Crops	RO	16
„Atalia“	Lm	2x	DLF	DK	16
„Aurora“	Lp	2x	IGER	GB	16
„Avance“	Lw	4x-	DLF	DK	16
„Baltimore“	Lm	2x	DLF	DK	16
„Bartissimo“	Lm	2x	Barenbrugg	NL	16
„Bartolini“	Lm	2x	Barenbrugg	NL	16
„Barverdi“	Lm	2x	Barenbrugg	NL	16
„Bellem“	Lm	2x	DvP	D	16
„Cavour“	Lm	2x	Carneau	F	16
„Danergo“	Lm	4x	DLF	DK	16
„Dasas“	Lm	2x	DLF	DK	16
„Domino“	Lm	4x	Prodana Seeds	F	16
„Fabio“	Lm	4x	Zelder	NL	16
„Fastyl“	Lm	2x	RAGT	F	16
„Fortyl“	Lm	2x	RAGT	F	16
„Gemini“	Lm	4x	Freudenberger	D	16
„Gisel“	Lm	4x	NPZ	D	16
„Gordo“	Lm	2x	Zelder	NL	16
GR161/89	Lm	2x	IPK	Korea	16
GR2581	Lw „Hanami Wase“	2x	IPK	Japan	16
GR2586/90	Lm „Merwester“	2x	IPK	B	16
GR2596/90	Lm Prego“	2x	IPK	DK	16
GR2639/92	Lm	2x	IPK	DDR	16
GR2797/92	Lm	2x	IPK	CSK	16
GR5440/80	Lm	2x	IPK	H	16
GR5441/80	Lm	2x	IPK	B	16
GR5448/91	Lm	2x	IPK	CRY	16
GR5451/84	Lm	2x	IPK	BGR	16
GR5452/84	Lm	2x	IPK	Lybien	16
GR5453/84	Lm	2x	IPK	Lybien	16
GR5958/97	Lm	2x	IPK	PL	16
GR6922/99	Lm	2x	IPK	E	16
GR6929/99	Lm	2x	IPK	E	16
GR6932/99	Lm	2x	IPK	E	16
GR6933/99	Lm	2x	IPK	E	16
GR6934/99	Lm	2x	IPK	E	16
GR6937/99	Lm	2x	IPK	E	16
GR6938/99	Lm	2x	IPK	E	16
„Jeanne“	Lm	4x	Barenbrugg	NL	16
„Jericho“	Lm	2x	Jouffray-Drillaud	F	16
„Kroto“	Lm	4x		PL	16
„Lema“	Lm	2x	NPZ	D	16
„Lemtal“	Lm	2x	Advanta	NL	16
Li9565	Lm	2x	DSV	D	16
„Ligrande“	Lm	2x	DSV	D	16
„Limulta“	Lm	2x	DSV	D	16
„Linn“	Lp	2x		USA	16
„Lipo“	Lm	4x	DSV	D	16
„Lipurus“	Lm	4x	DSV	D	16
„Manhattan“	Lp	2x	Rutgers-University	USA	16
„Meribel“	Lm	2x	IGER	GB	16
„Nadine“	Lm	2x	Carneau	F	16
„Nagahahikari“	Lm	4x	Snow Brand	Japan	16
„Oryx“	Lm	2x	FAL Zürich	CH	16
PC40400	Lm	2x	DSV	D	16
PC424a	Lm	2x	DSV	D	16
PC70108	Lm	2x	DSV	D	16
PC70207	Lm	2x	DSV	D	16

Tab. I: Forts.

Sorten, Akzession	Art	Ploidiestufe	Züchter	Herkunftsland	Anzahl der mit AFLPs untersuchten Genotypen (in zwei Bulks)
PC70302	Lm	2x	DSV	D	16
PC70311	Lm	2x	DSV	D	16
PC70404	Lm	4x	DSV	D	16
PC70416	Lm	4x	DSV	D	16
PC70809	Lm	4x	DSV	D	16
PC70814	Lm	4x	DSV	D	16
PC70816	Lm	4x	DSV	D	16
„Pennfine“	Lp	2x	Penn State University	USA	16
„Podium“	Lm	2x	Force	F	16
„Prestyl“	Lm	2x	RAGT	F	16
„Rangifer“	Lm	2x	FAL Zürich	CH	16
„Rustyl“	Lm	2x	RAGT	F	16
„Shoot“	Lw	2x	Force	F	16
„Sikem“	Lm	2x	Barenbrugg	NL	16
„Silor“	Lm	2x	Semunion	F	16
„Spark“	Lw	2x	Force	F	16
„Total“	Lm	2x	Cebeco	NL	16
„Trajan“	Lm	2x	RvP	B	16
„Tribune“	Lm	2x	IGER	GB	16
„Violin“	Lm	4x	.	.	16
„Waseaoba“	Lm	4x	Snow Brand	Japan	16
WV9RKK401	Lm	2x	DSV	D	16
„Zarastro“	Lm	2x	DLF	DK	16
„Zorro“	Lm	4x	DLF	DK	16

Inst Cer & Indu Crops – Institute Cereals & Industrial Crops

Tab. II: Modifizierte Mikrosatelliten-Protokolle

Bezeichnung der Mikrosatelliten	MgCl ₂	Denaturierung (min)	Annealing-Temperatur (°C)	Elongationszeit	Anzahl Zyklen	Endelongation (min)	Referenz
LPSSRH01A02	.	4	40	30 sec	10 + 20	5	Jones et al. 2001
LPSSRH01A07	.	4	52	30 sec	10 + 20	5	Jones et al. 2001
LPSSRH01A10	.	4	52	30 sec	10 + 20	5	Jones et al. 2001
LPSSRH01E10	.	4	40	30 sec	10 + 20	5	Jones et al. 2001
LPSSRH01H06	.	4	47	30 sec	10 + 20	5	Jones et al. 2001
LPSSRH02C11	.	4	40	30 sec	10 + 20	5	Jones et al. 2001
LPSSRK01A11	.	4	50	30 sec	10 + 20	5	Jones et al. 2001
M4-213	4	15	65	2 min	30	10	Kubik et al. 1999
M15-185	2	15	60	2 min	30	10	Kubik et al. 1999
M16-B	2	15	62	2 min	30	10	Kubik et al. 1999
M4-136	2	15	60	2 min	30	10	Kubik et al. 1999
M2-148	2	15	60	2 min	30	10	Kubik et al. 1999
M12-52	2	15	60	2 min	30	10	Kubik et al. 1999
LP008	.	15	54	2 min	30	10	Kubik et al. 2001
LP020	3	15	62	2 min	30	10	Kubik et al. 2001
LP165	3	15	58	2 min	30	10	Kubik et al. 2001
LP194	3	15	62	2 min	30	10	Kubik et al. 2001
LP204	-	15	54	2 min	30	10	Kubik et al. 2001
M1-44	3	15	57	1 sec	30	.	Kubik et al. 2001
M8-44	3	15	52	2 min	30	10	Kubik et al. 2001
M10-138	3	15	57	5 sec	30	.	Kubik et al. 2001
PRE	.	15	57	2 min	35	10	Kubik et al. 2001
PRG	3	15	57	2 min	30	10	Kubik et al. 2001
PR3	3	15	57	2 min	30	.	Kubik et al. 2001
PR08	4	15	69	2 min	30	10	Kubik et al. 2001
PR10	.	15	57	2 min	30	10	Kubik et al. 2001
PR14	3	15	56	2 min	30	10	Kubik et al. 2001
PR24	3	15	58	2 min	30	10	Kubik et al. 2001
PR25	3	15	61	2 min	30	10	Kubik et al. 2001
PR37	3	15	62	2 min	30	10	Kubik et al. 2001
PR39	.	15	60	35 sec	36	10	Kubik et al. 2001

10 + 20 – touch-down Bedingungen in Abhängigkeit von der Primer-Bindungstemperatur der Primerpaare: 10 Zyklen für 60 sec bei 94°C, 30 sec bei beispielsweise 65°C, 60 sec bei 72°C bei einer Abnahme der Primer-Bindungstemperatur von 1°C je Zyklus, und nachfolgend 20 Zyklen mit 30 sec bei 94°C, 30 sec bei 55°C und 30 sec bei 72°C

Tab. III: Primersequenzen der verwendeten STSs, genomische Weizenmikrosatelliten, genomische und EST-abgeleitete Mikrosatelliten von *Lolium*.

Marker- klasse	Locus	Forward Primer (5'-3')	Reverse Primer (5'-3')
STS	ADH	GCG TCA AGA TCC TCT TCA CC	CRC CCT CTC CAA CAC TCT CY
STS	MZE	TCA AAG GTC ATT GCA TGT	CNG NGT TGA TGA TGT CGA TGA A
STS	OSW	TTC TGC ATC CAC AAC ATC TCC TA	CTG ACG TCC ATG CCG TTG ACG AT
STS	LP01	CAC CAA GCC GAC ATT CCA C	CAC CGT GCG AGC AAA GAA AG
STS	PRO	TAC CAA GTA CAT GGT CAT CC	ATS GGC TCG TCG TAG ATG C
STS	OSE	CGT CGT CCC CGG CGG CAC CG	TTG GAC TCG TCG ATG TCG AT
STS	SCF	GGC TCA AGT CCA CCG CCA GC	AAC ATG GGC AGC TTC CAC AT
STS	OSRB	GAC AGC CGC CTC GAC TGG GG	GAT CTC CTG CTT CAG GTT CC
STS	ADP	CCT CCG TGA ACA ATT TCC TG	TCC AAT ACG AGC ATT CTT GT
STS	PHOS	AAC CCC AAG GAC TAY CTC AC	AMC CRA TGA TGA TGT ACT CR
STS	PGLU	CYG AAR GTC AAA GCC AAA GC	AAK CCA CTR AAT ATG TTT TG
STS	PAL	AGC GGA TGG TGG AGG AGT AC	TTG CGA GCA TCA TGT AGG AG
STS	CAT	GAG CGT GGA AGC CTC GAG AC	CCA TGT GCC TGT AGT TGA GT
STS	SER	TGG GGT TTA TGT YCC TAC TC	GAS CCA TTC CAT GWG CAA AT
STS	ASP	GCC TGT GAG ATG GCT GTT GT	ATG GCT GTG AAT CCA CTG AT
STS	CAF	CGC TCA TGA ACC AGG ACA AC	GGG ATG CCG CCG TCA AGG AC
OKSSR	OKssr01	TTG GTT ATG AGG AAG AGC CG	TGA CGT AAA CCT GTT GCC AG
OKSSR	OKssr02	AAA ACG GCA ATG GTG AAC TC	CAT CGA ATC AAC AGC GAA GA
OKSSR	OKssr03	CCG AAG TCG AGG ATG TCA TT	ACC AAA TTT GAT TGG GTG CC
OKSSR	OKssr04	CAT GAG CGC TTG TTT TCG TA	TCC CCT CTT TTC TTA AGG GC
OKSSR	OKssr05	CTG GCA AGA TCC TCA GGA AG	ACA TCA TCG GCC TAA CAA GC
OKSSR	OKssr06	TCC AAC GTC TTC CCT TAA CC	GCA GGT CAG AGT GGC AGA TT
OKSSR	OKssr07	GTA GGG AGC AGC TTC TCG TG	CTG TCT ACT TCA ACG CGC AG
OKSSR	OKssr08	TCC TTC GTC TTG ACC TTG CT	GCA TTC TCC AGC TCC TGT TC
OKSSR	OKssr09	CCA ACA CCA TCC TCT TCG AC	CGT CAT CTT GTT CAT CAG CC
OKSSR	OKssr10	TCT TCA TGG CTG ACG ACT TG	TCA AAA ACC CAA AAC CCA AA
OKSSR	OKssr11	GTT CCG ACT CTT GCT TGG AG	GCC AGG AAC TTC ACC CTG TA
OKSSR	OKssr12	CGA ATG CCA ATT CAG AAG GT	TTC GAA TCG GAA ATA GGA CG
OKSSR	OKssr13	CGT CCT ATC CGA GGA ATG AA	GTT CAG TTG GCG AGA AAA GC
OKSSR	OKssr14	CGA GGC CTA GAT CTC AAA CG	AAT GGC AAA GCA CAA CAA AA
OKSSR	OKssr15	AAA AAG CCG TTT CTT TCC G	AAG GGA AGG GAC GTG GAA TA
OKSSR	OKssr16	ACT CGC CAT CTG GTA CGT G	CAC ACG AAA CCC ACA GAC AG
OKSSR	OKssr17	GGA CTT CAC GCA GAA GCA CT	GAT GCA GAG AAG CAG AAG CA
OKSSR	OKssr18	AAA TTC CCC AAT CCA TCT CC	CGT CTC GAC GGA CTT CTT GT
OKSSR	OKssr19	GGC ATA CAT TGC CAT CCT CT	GGA CGA GGA CAC GAC GAC
OKSSR	OKssr20	CTC TCT TCT TCC CCA CTG GA	CCT GGA AGA GCA GAC CAA AC
OKSSR	OKssr21	GGC TGG TAC CTG TTT ACG GA	ACA CCC AGC CTC TCG ATA AC
OKSSR	OKssr22	GTT ATG CAG AGG CTG GGT GT	GCC TGC TAT TCT GCT TGG AC
OKSSR	OKssr23	ACA AGT TCA TCC CCT CCC TC	AGG CTT TGT ACG ACC AGC AG
OKSSR	OKssr24	TCA AGA CAA GAT GGC GTC CT	CTT GCC ATA CCA GGT GCT CT
OKSSR	OKssr25	CGT AGC TCC TCC ATC TCA CC	GTG AGC GTT CTT GGG ATC AT
OKSSR	OKssr26	TGT GAG GTG TTT GAT TGG AGA	CAA GGC CCA TAC ACA CAC AC
OKSSR	OKssr27	CCA CTC CAT CAT CAT CAC CA	CAG TCG TGG AGG ATC CAC TT
OKSSR	OKssr28	GGG AGA GGT ACG AGA GGG AG	GCA AA GGG TAC ACA TGC AGA
OKSSR	OKssr29	TAC TTG AAT GAT CCC GTG GC	ACC TGG AAG CCC TTG AAC TT
OKSSR	OKssr30	ATC CAA AGA ATT CGG CAC G	GTG AGG AGG GCA GTA GGT GA
OKSSR	OKssr31	AAG GTG GAC ATG ACA GAG GG	TGC TAC AGG AAA ACT AGT GCC A
OKSSR	OKssr32	CAT TAC CAT AGA GCT GGG GC	TAC ACT CCA GGT TTC CCG TC
OKSSR	OKssr33	GGA GAA GAA CAT TCG GTG GA	GGT CGT ACA GGA TAG GGC AA
OKSSR	OKssr34	GGC GCC TAT GAG ACC TAC AA	GAT CAG GCT TTG TAG CCA CC
OKSSR	OKssr35	CCT CGT CGT CAA CAA GGA CT	GAG GAG CTG ATG ACG GTG AC
OKSSR	OKssr36	CAA ACC GAG CTA CCA GAT CC	GTA CCC CTT CTC CAG CAG C
OKSSR	OKssr37	CTT CGA GGA CAC CAA CCT GT	GCA TAA CGA ATT TGG CTG GT
OKSSR	OKssr38	GTC GAG GCT GGG GAA GTA T	GCC ATG AGG CTC TAC CAC AG
OKSSR	OKssr39	GCG GAT ATG GGA GGT GGA	ATT CAC GGC CTC TTC TTC AA
OKSSR	OKssr40	AGC AAC CTA CGA CCA GGA GA	CTC CCA TTG TGA ACT TCC GT
OKSSR	OKssr42	CTC GGG TCT CTC GCT CAT AC	GAT GGT GTT CTT CAG CGT CA
OKSSR	OKssr43	CAA CGA AGC GAT GAA GAA CA	ATC CAC TTC ATC AGG ATG GC
OKSSR	OKssr44	GTA CGA GGA GGT GAG AGC CA	CAC CAT GTA GCC TCC GAT CT
OKSSR	OKssr45	TCT CCA GAT GTT GAG GGA GG	TGA ATA GGC GGT ACT GGT TG
OKSSR	OKssr46	CTC ATC TGC AAC CAA TTC CC	GGA CTT CTT GCC CTT CTT CC
OKSSR	OKssr47	CCA GAC CAC AGA CGT ACT CG	TGA AGA AAA GGT CCT CGT CG
OKSSR	OKssr48	CAA ATT CGT CAC CAG CTT CA	GGA GAG TTG GAC GCG TAG AC

Tab. III: Forts.

Marker- klasse	Locus	Forward Primer (5'-3')	Reverse Primer (5'-3')
OKSSR	OKssr49	AGA ATC CCA CCC ACC CTT T	ACC GAA GAA GTC GCA GAC AC
OKSSR	OKssr50	AGA ATC CCA CCC ACC CTT T	GCC GCT ACT CTG GTT TTC AC
OKSSR	OKssr51	CCT CTT TTC ATC TCG CTT CG	CAA CTC CCA GAT CTC CCT CA
OKSSR	OKssr52	CAG CAA AGC TGG ACA CGT TA	CCG AGT CTA GGT ACG GAT GC
OKSSR	OKssr53	GTC GGG TGT CTT CAT CGA GT	CGT GGT TCT CCG AAA GAT GT
OKSSR	OKssr54	CAA ACC GAG CTA CCA GAT CC	GTA CCC CTT CTC CAG CAG C
OKSSR	OKssr55	GTA CAT CGC GTC GTG GCT	TCT ATG ACG TAC TGC GTG CC
OKSSR	OKssr57	ATC GGC CAC ATC CTC AAG TA	CAA TGG AAT TAA CGG AAG CG
OKSSR	OKssr58	GCA TAC CGT TCG TCG GAG TA	TAG GGT ACC GCA TGA ACC TC
OKSSR	OKssr59	ATG TCC ATG GCG TCC TCC T	GTG TCC CCC TCG TAC TTC AC
OKSSR	OKssr60	GAC CCT GAC CAA AAC AGA CC	ATC GCA TTT CGC TAC GTT CT
TGSSR	Xgwm060	TGT CCT ACA CGG ACC ACG T	GCA TTG ACA GAT GCA CAC G
TGSSR	Xgwm095	GAT CAA ACA CAC ACC CCT CC	AAT GCA AAG TGA AAA ACC CG
TGSSR	Xgwm135	TGT CAA CAT CGT TTT GAA AAG G	ACA CTG TCA ACC TGG CAA TG
TGSSR	Xgwm136	GAC AGC ACC TTG CCC TTT G	CAT CGG CAA CAT GCT CAT C
TGSSR	Xgwm154	TCA CAG AGA GAG AGG GAG GG	ATG TGT ACA TGT TGC CTG CA
TGSSR	Xgwm165	TGC AGT GGT CAG ATG TTT CC	CTT TTC TTT CAG ATT GCG CC
TGSSR	Xgwm186	GCA GAG CCT GGT TCA AAA AG	CGC CTC TAG CGA GAG CTA TG
TGSSR	Xgwm294	GGA TTG GAG TTA AGA GAG AAC CG	GCA GAG TGA TCA ATG CCA GA
TGSSR	Xgwm312	ATC GCA TGA TGC ACG TAG AG	ACA TGC ATG CCT ACC TAA TGG
TGSSR	Xgwm334	AAT TTC AAA AAG GAG AGA GA	AAC ATG TGT TTT TAG CTA TC
TGSSR	Xgwm357	TAT GGT CAA AGT TGG ACC TCG	AGG CTG CAG CTC TTC TTC AG
TGSSR	Xgwm369	CTG CAG GCC ATG ATG ATG	ACC GTG GGT GTT GTG AGC
TGSSR	Xgwm391	ATA GCG AAG TCT CCC TAC TCC A	ATG TGC ATG TCG GAC GC
TGSSR	Xgwm397	TGT CAT GGA TTA TTT GGT CGG	CTG CAC TCT CGG TAT ACC AGC
TGSSR	Xgwm415	GAT CTC CCA TGT CCG CC	CGA CAG TCG TCA ATT GCC TA
TGSSR	Xgwm427	AAA CTT AGA ACT GTA ATT TCA GA	AGT GTG TTC ATT TGA CAG TT
TGSSR	Xgwm443	GGG TCT TGA TCC GGA ACT CT	CCA TGA TTT ATA AAT TCC ACC
TGSSR	Xgwm471	CGG CCC TAT CAT GGC TG	GCT TGC AAG TTC CAT TTT GC
TGSSR	Xgwm494	ATT GAA CAG GAA GAC ATC AGG G	TTC CTG GAG CTG TCT GGC
TGSSR	Xgwm601	ATC GAG GAC GAC ATG AAG GT	TTA AGT TGC TGC AAA TGT TCC
TGSSR	Xgwm636	CGG TAG TTT TTA GCA AAG AG	CCT TAC AGT TCT TGG CAG AA
LGSSR	LPSSRH01A02	AAA GAC CGC ATA CGA AGT	AAC CAA AGC CTC AAG ACA
LGSSR	LPSSRH01A07	TGG AGG GCT CGT GGA GAA GT	CGG TTC CCA CGC CTT GC
LGSSR	LPSSRH01A10	GAG GCA CCG GCC ATG GAG	AGG ACG AGC CAC TCA CTT G
LGSSR	LPSSRH01E10	CGC AGC TTA ATT TAG TC	GCT TTG AGT ATG TAA AGT T
LGSSR	LPSSRH01H06	ATT GAC TGG CTT CCG TGT T	CGC GAT TGC AGA TTC TTG
LGSSR	LPSSRH02C11	TGG AAT AAC GAT GAA AAG	CAT CAC GAA TTA ACA AGA G
LGSSR	LPSSRK01A11	CGG CCA CCC TTG ATA GAG	TCG TCA AGG ATC CGG AGA
LGSSR	M4-213	CAC CTC CCG CTG CAT GGC ATG	TAC AAC GAC ATG TCA AGG T
LGSSR	M15-185	GGT CTG GTA GAC ATG CCT AC	TAC CAG CAC AGG CAG GTT C
LGSSR	M16-B	TGC TGT GGC TCT TGT GAC	AGC CGA GGC TCA GCT CGA
LGSSR	M4-136	AGA GAC CAT CAC CAA GCC	TCT GGA AGA AGA TTT CCT TG
LGSSR	M2-148	GCA ACT TCT ATC GAG TTG	GAG GCT CGA TCT TCA CGG A
LGSSR	M12-52	CTA CAA TGC ATT CGT GCA	TAG AGG CAC CCG CGC CCT
LGSSR	LP008	TGA CTT CTC TCG ATC CT	ATG TGA CTA CAA AAC CA
LGSSR	LP020	ACC GCT GTG CTA AAT CTG	ATG CGC TGC TGT CTG CCC T
LGSSR	LP165	CCA TCA CCT CCA CTA T	AGC TCG GAC TCT GTT G
LGSSR	LP194	GCG TAA GAG AGA GGG CGA T	ACG TAT GTC CAA CAG GT
LGSSR	LP204	GAG CTT CTC TCG ATC CT	AGT GGA TGT GAC TAC A
LGSSR	M144	CAG AAG GAG GTC GTC GA	CTG AAA CCT AGG CTA TCT GAG
LGSSR	M844	TAG CTT TCT ATG CAA AGC T	CAC TTC ACT TTT CTT GCA
LGSSR	M10138	TAG AGG ATC AGT TGC ATC	TAG TTC CGA GTT AGC TGA
LGSSR	PRE	CAT TCA TCC ACG TTA GAC	GTT AGG TTC GTC TGC AT
LGSSR	PRG	GCC GAG TGT CAT CAA GGT	CTT TTT CGC CTT CGT A
LGSSR	PR3	GTA TAG TAC CCA TTC CGT	GCC GCC CTG CCA TGC TG
LGSSR	PR08	AGG GTT CGT CTG CAT TC	GCC GTC GCA CCC CTG
LGSSR	PR10	CTT CTA ATC CCT CGC CT	TGC CGA GTG TCA TCA AGG T
LGSSR	PR14	CCT TTT CGC CTT CGT A	CAC CAA CAT TGC CGA GTG
LGSSR	PR24	TGC TGT GAT GCT GAA TG	GTA TAG TAC CCA TTA CTT TGT
LGSSR	PR25	AGG GTT CGT CTG CAT TC	CCT GCA TAC ATT CAT CCA
LGSSR	PR37	TCT GCA TTC GTT GTC TCA CTG	GAG CCG TCG CAC CCC TG
LGSSR	PR39	CAT TCA TCC ACG TTA GAC	CTT CCA CGA CTG CTT C

STS – sequence tagged sites, OKSSR – von *Lolium*-ESTs abgeleitete Mikrosatelliten, LGSSR - genomische *Lolium*-Mikrosatelliten, TGSSR - genomische *Weizen*-Mikrosatelliten

Tab. IV: Mittelwerte und Standardabweichungen morphologischer Merkmale von überlebenden Einzelpflanzen von Sorten und Inzuchtlinien, die mit Mikrosatelliten und /oder AFLPs untersucht worden waren

Sorte / Inzuchtlinie	n	Merkmal	Bestockung	Umfang	Wuchsform	Wuchshöhe	Blattfarbe	F.-länge	F.-breite	Ährenlänge
„Avance“	14	Mittelwert	2,93	10,64	7,43	39,64	7,57	15,29	6,64	16,79
		Std Dev	0,83	3,30	0,51	9,74	1,02	5,50	2,27	4,41
„Baltimore“	13	Mittelwert	4,54	16,92	7,38	59,15	5,46	15,54	7,69	20,46
		Std Dev	1,66	6,30	0,77	12,70	1,13	3,67	1,03	2,93
„Dasas“	18	Mittelwert	2,72	11,72	7,89	53,28	4,94	12,11	5,39	19,78
		Std Dev	0,67	2,54	0,76	10,19	0,87	4,13	1,14	2,56
„Fastyl“	17	Mittelwert	3,06	10,29	8,35	54,00	6,06	14,00	6,76	22,47
		Std Dev	0,97	3,93	0,86	16,62	1,14	4,54	1,89	4,02
„Rustyl“	17	Mittelwert	2,88	10,88	7,59	53,41	6,18	10,82	5,53	20,71
		Std Dev	1,32	4,77	0,87	22,66	1,01	3,64	1,42	3,46
30	6	Mittelwert	5,67	18,33	6,33	45,33	2,33	12,67	4,83	14,00
		Std Dev	0,82	3,88	0,52	6,19	1,63	3,08	0,98	2,19
64	5	Mittelwert	4,40	12,00	7,40	54,20	5,60	7,20	3,80	14,60
		Std Dev	1,14	1,87	1,52	14,20	1,34	3,70	1,48	2,88
116	8	Mittelwert	5,38	13,13	7,00	64,00	5,88	12,63	5,50	17,88
		Std Dev	0,74	1,96	0,53	5,93	0,99	2,77	0,93	3,18
221	6	Mittelwert	4,17	11,83	7,67	56,83	4,33	13,00	5,17	19,00
		Std Dev	0,98	2,48	0,52	11,75	1,51	3,90	1,17	4,15
286	5	Mittelwert	3,60	11,00	8,00	56,40	6,20	11,20	4,80	15,80
		Std Dev	0,89	2,35	1,00	8,32	1,30	5,17	1,92	2,59
398	3	Mittelwert	4,00	10,33	9,00	53,00	2,67	11,67	6,67	14,67
		Std Dev	0,00	1,53	0,00	2,65	2,08	2,08	1,53	3,51
423	4	Mittelwert	3,50	9,50	7,25	42,25	2,00	11,75	5,00	16,75
		Std Dev	1,29	3,87	0,50	5,91	0,82	4,27	0,82	0,96
1063	7	Mittelwert	4,14	12,43	7,57	74,71	4,29	15,14	5,86	21,86
		Std Dev	0,69	1,62	0,98	8,86	1,50	4,98	1,07	4,98
1073	5	Mittelwert	4,80	12,60	7,60	53,60	4,80	16,40	6,60	20,40
		Std Dev	1,10	4,10	0,89	13,94	0,45	1,14	0,89	3,58
1304	8	Mittelwert	4,38	12,25	8,13	58,00	4,25	9,75	4,00	16,00
		Std Dev	1,06	3,15	0,35	7,43	2,05	1,83	0,76	2,33

F. – Fahnenblatt

Tab. V: Anzahl an Beobachtungen (n), Mittelwerten der Eltern und Kreuzungen von zwei Orten, Differenz zwischen Eltern und Kreuzungen in Hohenthurm (HT) und Thüle (TH), Standardabweichung (Std Dev), Minimal- und Maximalwerte von Merkmalen der Eltern und Kreuzungen

Merkmal		n	Mittelwert	Std Dev	Differenz	Minimum	Maximum
Bestockung	Eltern	168	6,3	1,23	.	3,0	9,0
	Kreuzungen (HT)	84	5,5	0,74	-0,9	3,4	7,2
	Kreuzungen (TH)	76	5,9	0,57	-0,5	4,6	7,5
Umfang	Eltern	168	20,3	5,23	.	7,0	41,0
	Kreuzungen (HT)	84	18,2	2,63	-2,0	11,4	24,1
	Kreuzungen (TH)	76	19,1	2,69	-1,1	12,8	24,8
Wuchsform	Eltern	168	6,7	1,00	.	5,0	9,0
	Kreuzungen (HT)	84	6,6	0,81	-0,1	4,5	8,9
	Kreuzungen (TH)	76	7,2	0,56	0,5	5,7	8,4
Wuchshöhe	Eltern	168	50,4	9,46	.	30,0	77,0
	Kreuzungen (HT)	84	101,9	10,63	51,3	72,5	119,0
	Kreuzungen (TH)	76	113,8	7,00	63,2	97,8	131,0
Fahnenblattlänge	Eltern	168	15,5	4,42	.	3,0	33,0
	Kreuzungen (HT)	84	19,0	2,04	3,5	13,6	24,1
	Kreuzungen (TH)	76	21,6	2,74	6,1	15,7	27,3
Fahnenblattbreite	Eltern	168	6,9	1,55	.	3,0	10,0
	Kreuzungen (HT)	84	8,4	0,78	1,5	6,5	10,8
	Kreuzungen (TH)	76	8,4	0,92	1,5	6,2	10,8
Ährenlänge	Eltern	168	21,4	5,73	.	8,0	37,0
	Kreuzungen (HT)	84	26,3	3,04	4,9	19,1	37,0
	Kreuzungen (TH)	76	27,3	2,76	5,9	22,4	39,8

Tab. VI: Heterosis der Merkmale der 98-er und 99-er Topcross-Nachkommen

Merkmal		n	Mittelwert	Std Dev	Minimalwert	Maximalwert	Mittelwertdifferenz
Bestockung	Inzuchtlinie	207	5,18	0,82	3,3	7,6	.
	Topcross	207	5,63	0,50	4,4	7,3	0,45
Umfang	Inzuchtlinie	207	9,85	2,22	4,9	16,0	.
	Topcross	207	16,69	2,79	11,3	27,4	6,84
Wuchsform	Inzuchtlinie	199	4,60	1,39	1,8	8,1	.
	Topcross	199	6,38	0,60	4,0	8,8	1,78
Wuchshöhe	Inzuchtlinie	207	63,90	8,53	39,7	95,8	.
	Topcross	207	86,71	13,6	53,6	122,5	22,81
Ährenlänge	Inzuchtlinie	162	20,10	3,74	7,8	29,6	.
	Topcross	158	24,14	1,95	17,0	29,3	24,04

Inzuchtlinie – Mittelwerte der Inzuchtlinien; Topcross – Mittelwerte der Topcrosse

Tab. VII: Ergebnisse des Rosttest von den sieben Inzuchtlinien des Deutschen Weidelgrases

Schale-Nr. 20 a+b				Schale-Nr. 21 a+b				Schale-Nr. 22 a+b			
Lfd. Nr.	Pfl.-Nr.	Bonitur (a+b)		Lfd. Nr.	Pfl.-Nr.	Bonitur (a+b)		Lfd. Nr.	Pfl.-Nr.	Bonitur (a+b)	
1	S05-11	0c	0c	1	S10-18	0c	2	1	S16-32	0c	0c
2	S05-12	0c	0c	2	S10-19	0c	1	2	S16-33	0c	0c
3	S05-13	0c	0c	3	S10-20	2	2	3	S16-34	0c	0c
4	S05-14	0c	0c	4	S10-21	0c	0c	4	S16-35	0c	0c
5	S05-15	0c	0c	5	S10-22	0c	0c	5	S16-36	0c	0c
6	S05-16	0c	0c	6	S10-23	1	0c	6	S16-37	0c	0c
7	S05-17	0c	0c	7	S10-24	0c	2	7	S16-38	0c	0c
8	S05-18	0c	0c	8	S10-25	2	2	8	S16-39	0c	0c
9	S05-19	0c	0c	9	S10-26	0c	0c	9	S26-11	0c	0c
10	Standard	3	3	10	Standard	2	3	10	Standard	2	3
11	S05-20	0c	0c	11	S10-27	1	1	11	S26-12	0c	0c
12	S05-21	0c	0c	12	S10-28	1	1	12	S26-13	0c	0c
13	S05-22	0c	0c	13	S10-29	3	3	13	S26-14	0c	0c
14	S05-23	0c	0c	14	S10-30	1	2	14	S26-15	0c	0c
15	S05-24	0c	0c	15	S10-31	0c	2	15	S26-16	0c	0c
16	S05-25	0c	0c	16	S10-32	1	2	16	S26-17	0c	0c
17	S05-26	0c	0c	17	S10-33	0c	2	17	S26-18	0c	0c
18	S05-27	0c	0c	18	S10-34	0c	1	18	S26-19	0c	0c
19	S05-28	0c	0c	19	S10-35	0c	2	19	S26-20	0c	0c
20	Standard	2	3	20	Standard	3	3	20	Standard	3	3
21	S05-29	0c	0c	21	S10-36	0c	0c	21	.	.	.
22	S05-30	0c	0c	22	S10-37	0c	0c	22	.	.	.
23	S05-31	0c	0c	23	S10-38	1	0c	23	.	.	.
24	S05-32	0c	0c	24	S10-39	0c	.	24	.	.	.
25	S05-33	0c	0c	25	S12-11	0c	1	25	.	.	.
26	S05-34	0c	0c	26	S12-12	0c	0c	26	S26-21	0c	0c
27	S05-35	0c	0c	27	S12-13	0c	1	27	S26-22	0c	0c
28	S05-02	0c	0c	28	S12-14	0c	0c	28	S26-23	0c	0c
29	S05-01	0c	0c	29	S12-15	0c	0c	29	S26-24	0c	0c
30	Standard	3	2	30	Standard	3	3	30	Standard	3	3
31	S05-07	0c	0c	31	S12-16	0c	0c	31	S26-25	0c	0c
32	S05-10	0c	0c	32	S12-17	0c	0c	32	S26-26	0c	0c
33	S05	0c	1	33	S12-18	0c	0c	33	S26-27	0c	0c
34	S08	1	0c	34	S12-19	0c	1	34	S26-28	0c	0c
35	S10	1	1	35	S12-20	0c	0c	35	S26-29	0c	0c
36	S12	0c	0c	36	S12-21	0c	0c	36	S26-30	0c	0c
37	S16	0c	0c	37	S12-22	0c	0c	37	S26-31	0c	0c
38	S26	0c	0c	38	S12-23	0c	0c	38	S26-32	0c	0c
39	S45	1	0c	39	S12-24	0c	0c	39	S26-33	0c	0c
40	Standard	3	3	40	Standard	2	3	40	Standard	3	3
41	S08-11	0c	0c	41	S12-25	0c	0c	41	.	.	.
42	S08-12	0c	0c	42	S12-26	0c	0c	42	S45-11	0c	0c
43	S08-13	0c	0c	43	S12-27	0c	0c	43	S45-12	0c	0c
44	S08-14	0c	0c	44	S12-28	0c	0c	44	S45-13	0c	0c
45	S08-15	0c	0c	45	S12-29	0c	0c	45	S45-14	0c	0c
46	S08-16	0c	0c	46	S12-30	0c	0c	46	S45-15	0c	0c

Tab. VII: Forts.

Schale-Nr. 20 a+b			
Lfd. Nr.	Pfl.-Nr.	Bonitur (a+b)	
47	S08-17	0c	0c
48	S08-18	0c	0c
49	S08-19	0c	0c
50	Standard	3	2
51	S08-20	0c	0c
52	S08-21	0c	0c
53	S08-22	0c	0c
54	S08-23	0c	0c
55	S08-24	0c	0c
56	S08-25	0c	0c
57	S08-26	0c	0c
58	S08-27	0c	0c
59	S08-28	0c	0c
60	Standard	3	3
61	S08-29	0c	0c
62	S08-30	0c	0c
63	S08-31	0c	0c
64	S08-32	0c	0c
65	S08-33	0c	0c
66	S08-34	0c	0c
67	S08-35	0c	0c
68	S08-36	0c	0c
69	S08-37	0c	0c
70	Standard	3	3
71	S08-38	0c	0c
72	S08-39	0c	0c
73	S10-11	0c	0c
74	S10-12	1	1
75	S10-13	1	0c
76	S10-14	0c	1
77	S10-15	0c	0c
78	S10-16	0c	0c
79	S10-17	0c	1
80	Standard	3	3

Schale-Nr. 21 a+b			
Lfd. Nr.	Pfl.-Nr.	Bonitur (a+b)	
47	S12-31	0c	0c
48	S12-32	0c	0c
49	S12-33	0c	0c
50	Standard	2	3
51	S12-34	0c	1
52	S12-35	0c	0c
53	S12-36	0c	0c
54	S12-37	0c	0c
55	S12-38	0c	0c
56	S12-39	0c	0c
57	S16-11	0c	0c
58	S16-12	0c	0c
59	S16-13	0c	0c
60	Standard	3	3
61	S16-14	0c	0c
62	S16-15	0c	0c
63	S16-16	0c	0c
64	S16-17	0c	0c
65	S16-18	0c	0c
66	S16-19	0c	0c
67	S16-20	0c	0c
68	S16-21	0c	0c
69	S16-22	0c	0c
70	Standard	2	2
71	S16-23	0c	0c
72	S16-24	0c	0c
73	S16-25	0c	0c
74	S16-26	0c	0c
75	S16-27	0c	0c
76	S16-28	0c	0c
77	S16-29	0c	0c
78	S16-30	0c	0c
79	S16-31	0c	0c
80	Standard	2	1

Schale-Nr. 22 a+b			
Lfd. Nr.	Pfl.-Nr.	Bonitur (a+b)	
47	S45-16	0c	0c
48	S45-17	0c	0c
49	S45-18	0c	0c
50	Standard	3	3
51	S45-19	vg	0c
52	S45-20	0c	0c
53	S45-21	0c	0c
54	S45-22	0c	0c
55	S45-24	0c	0c
56	S45-25	0c	0c
57	S45-26	0c	0c
58	S45-28	0c	0c
59	S45-29	0c	0c
60	Standard	3	3
61	S45-30	0c	0c
62	S45-31	0c	0c
63	S45-32	0c	0c
64	S45-33	0c	0c
65	S45-34	0c	0c
66	S45-35	0c	0c
67	S45-36	0c	0c
68	S45-37	0c	0c
69	S45-38	0c	0c
70	Standard	3	3
71	S45-39	0c	0c
72	S45-40	0c	0c
73	S45-72	0c	0c
74	.	.	.
75	.	.	.
76	.	.	.
77	.	.	.
78	.	.	.
79	.	.	.
80	Standard	3	3

Boniturnoten: 0c – keine Pusteln und Sporen (resistent), 1 und 2 – geringe Sporulation (partielle Resistenz), 3 – starke Sporulation (anfällig), vg – vergilbtes Blatt, nicht auswertbar

Tab. VIII: Verhalten der Kartierungspopulation gegenüber Kronenrost im Blattstückentest
Boniturnoten: Oc – keine Pusteln und Sporen (resistent), 1 und 2 – geringe Sporulation (partielle Resistenz),
3 – starke Sporulation (anfällig)

Schale S45 a+b			
Lfd. Nr.	Pfl.-Nr.	Bonitur (a+b)	
1	S45-22	Oc	Oc
2	S45-39	Oc	Oc
3	S45-40	Oc	Oc
4	S45-41	Oc	Oc
5	S45-43	.	.
6	S45-44	Oc	Oc
7	S45-45	Oc	Oc
8	S45-46	Oc	Oc
9	S45-47	Oc	Oc
10	S45-48	Oc	Oc
11	S45-49	Oc	Oc
12	S45-50	.	.
13	S45-51	Oc	Oc
14	Standard	3	3
15	S45-52	Oc	Oc
16	S45-53	Oc	Oc
17	S45-56	Oc	Oc
18	S45-58	Oc	Oc
19	S45-59	Oc	Oc
20	S45-60	.	.
21	S45-61	.	Oc
22	S45-62	Oc	Oc
23	S45-63	.	1
24	Standard	3	3
25	S45-64	.	Oc
26	S45-65	Oc	Oc
27	S45-66	Oc	Oc
28	S45-69	Oc	Oc
29	S45-74	vg	Oc
30	S45-81	Oc	Oc
31	S45-84	Oc	Oc
32	S45-90	vg	vg
33	S45-101	Oc	Oc
34	S45-107	Oc	Oc
35	S45-109	Oc	Oc
36	S45-110	Oc	Oc
37	S45-111	.	Oc
38	S45-116	Oc	Oc
39	S45-117	Oc	Oc
40	Standard	3	3
41	S45-118	Oc	Oc
42	S45-119	3	3
43	S45-120	3	3
44	S45-121	Oc	Oc
45	S45-122	Oc	Oc
46	S45-123	Oc	Oc

Schale S45 a+b			
Lfd. Nr.	Pfl.-Nr.	Bonitur (a+b)	
47	S45-124	1	Oc
48	S45-125	.	.
49	S45-127	Oc	Oc
50	Standard	3	3
51	S45-129	.	.
52	S45-130	.	Oc
53	S45-131	2	Oc
54	S45-135	Oc	Oc
55	S45-136	Oc	Oc
56	S45-137	Oc	.
57	S45-138	Oc	Oc
58	S45-139	Oc	.
59	S45-142	Oc	Oc
60	Standard	3	3
61	S45-144	Oc	Oc
62	S45-145	1	Oc
63	S45-146	Oc	Oc
64	S45-147	Oc	Oc
65	S45-149	Oc	1
66	S45-150	Oc	Oc
67	S45-152	.	.
68	S45-153	Oc	Oc
69	S45-155	Oc	Oc
70	Standard	3	3
71	S45-156	Oc	Oc
72	S45-157	Oc	.
73	S45-158	Oc	.
74	S45-159	Oc	Oc
75	S45-161	Oc	Oc
76	S45-162	Oc	Oc
77	S45-163	.	Oc
78	S45-165	1	1
79	S45-166	Oc	Oc
80	Standard	3	3
81	S45-167	Oc	Oc
82	S45-168	.	Oc
83	S45-169	1	.
84	S45-170	.	.
85	S45-171	1	Oc
86	S45-173	Oc	Oc
87	S45-174	Oc	Oc
88	S45-175	Oc	Oc
89	S45-177	Oc	Oc
90	Standard	3	Oc
91	S45-178	.	.
.	.	.	.

Tab. IX: Beispiele für mögliche Assoziationen molekularer Daten mit phänotypischen Merkmalsausprägungen

Merkmal	Fragment	Gruppe 1			Gruppe 2			t-Wert	Prob> t
		n	Mittelwert	Std Dev	n	Mittelwert	Std Dev		
Blattfarbe	P33M16-170	48	4,8	1,9	4	2,0	0,8	3,25	0,0020
	P33M70-206	9	2,6	1,3	43	5,0	1,6	-4,30	0,0000
	PR3-125	46	4,9	1,6	6	2,2	1,5	3,97	0,0002
Bestockung	P33M16-123	50	4,3	1,0	2	6,0	1,4	-2,31	0,0251
	P33M16-144	44	4,6	1,0	8	3,4	1,0	3,21	0,0023
	P40M54-211	46	4,3	1,0	6	5,3	0,8	-2,47	0,0171
	P44M75-086	41	4,2	1,0	11	5,2	1,0	-3,06	0,0036
	PR3-125	46	4,5	1,0	6	3,5	0,8	2,28	0,0268
Wuchsform	P33M16-123	50	7,7	0,9	2	6,5	0,7	1,8	0,0711
	P33M16-174	3	9,0	0,0	49	7,6	8,6	2,87	0,0061
	LPSSRH01A02-134	50	7,6	0,8	2	9,0	0,0	-2,25	0,0286
Umfang	P33M16-144	44	12,3	2,4	8	9,8	2,6	2,71	0,0091
	PR3-125	46	12,3	2,4	6	9,2	2,5	2,95	0,0048
Wuchshöhe	P35M73-088	33	62,0	11,8	19	51,9	9,9	3,14	0,0028
	P35M73-186	37	61,8	10,9	15	49,9	11,0	3,54	0,0009
	P35M73-199	16	51,0	9,4	36	61,6	11,8	-3,17	0,0026
	P44M75-138	21	51,8	10,9	31	62,8	10,8	-3,59	0,0007
	M1-44-147	41	56,1	10,0	11	15,7	66,7	-2,75	0,0082
	M1-44-150	38	61,6	10,3	14	49,4	12,4	3,59	0,0008
	PR3-125	46	60,0	12,0	6	48,0	7,2	2,33	0,0241
	PR3-150	23	65,0	11,6	29	53,0	9,7	4,07	0,0002
	PR08-131	28	63,4	11,7	24	52,5	9,8	3,62	0,0007
	PR08-123	26	52,9	10,6	26	63,8	11,1	-3,60	0,0007
	PR24-155	33	62,3	11,6	19	51,5	9,7	3,43	0,0012
	PR24-161	39	61,3	11,2	13	49,5	10,4	3,32	0,0017
	PR39-130	39	61,3	11,2	13	49,5	10,4	3,32	0,0017
Fahnenblattlänge	P33M70-219	26	9,7	3,2	26	14,7	3,4	-5,48	0,0000
	P44M75-158	25	10,0	3,5	27	14,2	3,6	-4,27	0,0001
	P44M75-228	34	13,4	4,1	18	9,8	3,1	3,31	0,0018
	M15-185-172	35	13,5	3,9	17	9,4	3,2	3,85	0,0003
	PR08-106	46	12,7	3,9	6	8,2	4,1	2,67	0,0103
	PR24-155	33	13,5	4,0	19	9,9	3,3	3,27	0,0019
Fahnenblattbreite	P33M70-219	26	4,5	1,4	26	5,8	1,1	-3,65	0,0006
	P33M70-447	34	4,8	1,4	18	5,9	0,9	-3,14	0,0028
	P35M73-185	24	4,5	1,3	28	5,8	1,2	-3,85	0,0003
	P40M67-098	18	6,1	1,2	34	4,7	1,2	4,01	0,0002
	P40M67-146	41	4,9	1,3	11	6,3	1,0	-3,20	0,0024
	P44M75-163	14	6,3	1,2	38	4,8	1,2	3,96	0,0002
	LPSSRH01E10-130	35	5,63	1,3	17	4,2	1,2	3,79	0,0004
	M15-190	25	5,9	1,1	27	4,5	1,3	4,00	0,0002
	PR14-139	29	4,7	1,4	23	5,8	1,2	-3,28	0,0019
Ährenlänge	P33M16-109	50	17,4	3,7	2	24,5	2,1	-2,67	0,0101
	P44M75-367	50	17,4	3,7	2	24,5	2,1	-2,67	0,0101
	P40M54-092	32	15,9	2,6	20	20,5	4,1	-4,95	0,0000

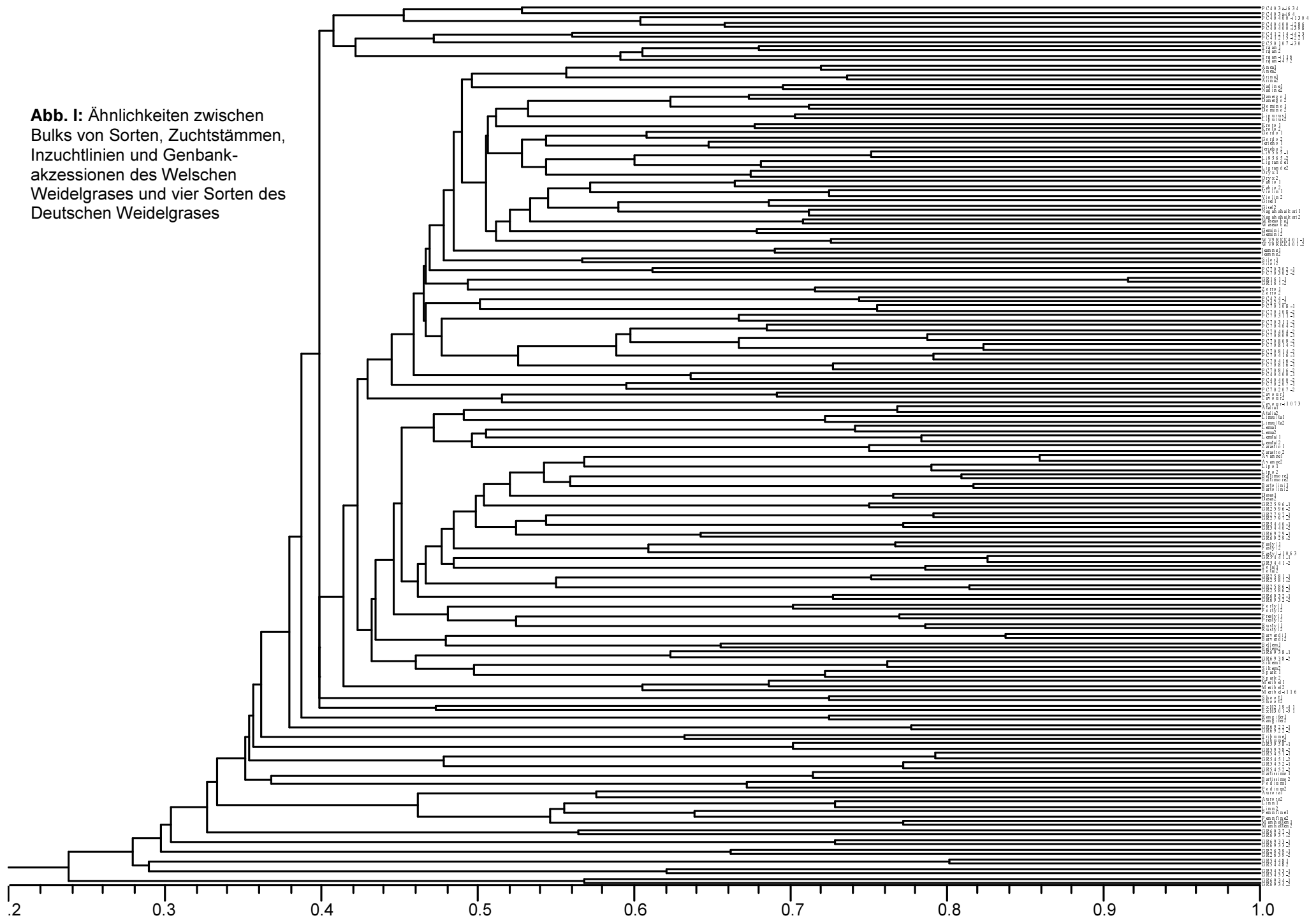
Gruppe 1 – fehlendes Fragment, Gruppe 2 – Fragment vorhanden, P..M.-... – AFLP-Fragment, M/PR/LPSSRH01 – Mikrosatelliten-Fragment.

Tab. X: Mikrosatelliten-haltige Sequenzen, abgeleitet aus öffentlichen Datenbanken

Name	ID	Mikrosatelliten-haltige Sequenzen	size	Produktgröße (bp)
OKssr01	embl:AF359513	(AT)3(AC)3tt agaat actgaaaaccccaaat gtgcacagagta(T)5	55	230
OKssr02	embl:AF538351	(C)6(T)5	11	139
OKssr03	embl:LPPISO1A	(CA)3(TA)3cgaggcgt gagacat acaagct catgatgagat att cactcat gccg(TA)3gagag(GA)4tgctt gaataagagtttgagatcgacacdt gtgagag(GT)3	125	275
OKssr04	embl:AF538351	(CA)3a(GC)3acgtg(CA)5a(AC)4caaggtagaagct gac(AT)3	59	191
OKssr05	embl:AF052222	(CA)3gtccaaaagctaaagtcag(AT)3tgtt cccaacdt(AC)3	50	230
OKssr06	embl:AF472592	(CAC)4gcacagacagagcagtt cccag(C)5gccggaaccggatggcacc(CGG)3agcagacggagcacc accagcacaccagggaaggcgtggggctggcg(GC)3	123	266
OKssr07	embl:AF290457	(G)6tgtgc(TGGT)3	24	236
OKssr08	embl:AY014278	(GA)3ggttact cdt(AC)3	26	166
OKssr09	embl:AF290446	(GC)3tg(GCC)4	20	212
OKssr10	embl:AF481763	(GC)4ggat ggtgaggatgatcacct act acat(ATAC)3	48	219
OKssr11	embl:AF325676	(GGT)4aaagggttagaagggt aat a(ATG)3	43	252
OKssr12	embl:AY061887	(T)7aat aact acacaagact aaaaagtt aaa(TC)4aagattgcgaaaact atagctat ctactg(AT)5	83	223
OKssr13	embl:MTLPATP9F	(TA)4(G)5	14	208
OKssr14	embl:AF271362	(TG)3aacccaagttat ctcctgt(GT)3at atttgatag ggt att gctttgataa gaa(TG)3	69	199
OKssr15	embl:AF159387	(CACG)3ccggccgcgccgcgact ccatccaatcccacgg(GCCGT)3(CGT)3*cc(TCG)3	81	235
OKssr16	embl:AF321273	(GC)3acgaa(GCC)4(CGCCAA)3*cgggggccat(GCC)7	67	189
OKssr17	embl:AY014277	(ACG)4	12	143
OKssr18	embl:AF356818	(CCA)5	15	270
OKssr19	embl:AF321855	(C)6	6	253
OKssr20	embl:AF035378	(GCCGT)3	18	127
OKssr21	embl:AY014277	(T)5atttgcagacttt gact cgagacatataaaaggc(TG)3	46	227
OKssr22	embl:AY014277	(A)7g(TA)4tt aagc(A)5	28	251
OKssr23	embl:A31057	(CCG)4	12	245
OKssr24	embl:A31060	(TGG)3cgct gttcgccgt gtt cctgggca(GC)3	39	163
OKssr25	embl:AX463084	(GT)4caccggcgct gccgatacatcgctcttggt cgt caagctgctcctg(GA)3	63	232
OKssr26	embl:AB016127	(A)6ttt gact cttt gctatgct cctct gttgggt gctt cgt gggtgata(ATT)3tggaattct gctatattcaag(GT)3	91	224
OKssr27	embl:AF010291	(CGG)3cgtcgcgct accgtggcgccat agccgcccact acccgcccatcaa(G)5tcaacttcgacct(C)5	80	267
OKssr28	embl:AF033540	(TGC)4	12	186
OKssr29	embl:AF052221	(CGA)5	15	146
OKssr30	embl:AF310684	(CGC)3ctccgcgacacg(CGC)3gaca(GCC)5	49	167
OKssr31	embl:AF321855	(TAAA)4	16	279
OKssr32	embl:AF465470	(GCG)3	9	159
OKssr33	embl:AY061887	(A)6cttcggctagacactc(G)6	28	126
OKssr34	embl:LPE243504	(CCG)4	12	266
OKssr35	embl:AF472591	(C)5	5	225
OKssr36	embl:AY061889	(CGTC)3cac(AT)3agcatcgacatgacctcgccgagtcgtggct gccggagaca(CCG)3	73	276
OKssr37	embl:LTMRHIS3	(GC)3ctaagccatctcgacgt gaat ctgat cggga(G)5	43	164
OKssr38	embl:AF290447	(GA)3acatctgcgaca(G)5tccat cccgtccgcccgcacgaagagcggcgtt g(GCC)3tcggccgt gccgcac accgcccgcagcagct gccgt acgc(GAA)3	118	247
OKssr39	embl:AF290453	(GC)4aaggcc(AG)3	20	160
OKssr40	embl:AF159387	(C)5tccccgcggct cttggcgccaaa(C)5ttt ccgatct cagggccttca(G)5	61	279
OKssr42	embl:AF033540	(TCG)3	9	194
OKssr43	embl:AF033540	(ATC)3	9	273
OKssr44	embl:AF321865	(TCC)3	9	175
OKssr45	embl:AF321867	(GCG)3	9	170
OKssr46	embl:AF356820	(CT)3ccccgtcga(AGC)4tccatggcgcccaaggcagagaagaagccagcggagaagaagccgt(GGA)3	84	254
OKssr47	embl:AF465466	(CAC)4	12	269
OKssr48	embl:AF465468	(CGG)3tgccgcagtcggtggacaggcgg(TTC)3	41	267
OKssr49	embl:AF492836	(GCG)3tgt cagggt(GC)3tgt cgcggcct cggccctgggtgct gctg(GTC)3	65	273
OKssr50	embl:AF492836	(CGC)3cggcgcatggagtcacgc(CGT)3	39	148
OKssr51	embl:AY061887	(TTC)4	12	233
OKssr52	embl:AY061887	(AT)3cggtgacat gaaggcct cgggaagctt cggg(AGA)3	50	185
OKssr53	embl:AY061887	(CA)4cgtacgcg(CA)4cgtgcgcaaac(A)5gaaactaggaacctct cactgacctaggctt gctct gtaag(A)6ccagggtccaccctagttt cgaacccaaaata(T)5gaagatacttagtaagata(T)5gaaataaaaaccgc(A)5gg gaatt(GA)5	184	266
OKssr54	embl:AY061888	(CGTC)3cac(AT)3agcatcgacatgacctcgccgagtcgtggct gccggagaca(CCG)3	73	276
OKssr55	embl:AY061888	(GCT)3	9	276
OKssr57	embl:AY061889	(GCG)3	9	263
OKssr58	embl:AY061889	(GT)3tt agtcaacatt aatgtgaggt catgtgat act ctt gctt gaaaga(TAC)3tgctacct cgtagaactg aatgaaagat gtgggactgt cag(CT)3gcacatgt caaatgtcgtact cat acctt cgtcagagatcct cgca(CG)3ccgggtgccgaaatttcgcc(GT)3	191	262
OKssr59	embl:LIT131339	(AGC)3	9	158
OKssr60	embl:LPITS	(GGC)3	9	279

ID – Erkennungsname der gesamten Sequenz, die die Mikrosatelliten-haltige Sequenz enthält, in der Datenbank, size – Anzahl der Nucleotide (der Mikrosatelliten-haltigen Sequenz), Produktgröße – berechnete und amplifizierte Fragmentgröße (bp) mit forward- und reverse-Primer

Abb. I: Ähnlichkeiten zwischen Bulks von Sorten, Zuchtstämmen, Inzuchtlinien und Genbankakzessionen des Welschen Weidelgrases und vier Sorten des Deutschen Weidelgrases



DANKSAGUNG

Die vorliegende Arbeit wurde von der Deutsche Forschungsgemeinschaft (We 647/14-1 und 14-2) auf Vorschlag meines Doktorvaters Prof. Dr. W. E. Weber gefördert. Ihm gilt mein besonderer Dank für seine engagierte Betreuung, seine Bereitschaft und Geduld, sich auf ständig wechselnde Fragestellungen einzulassen und diese mit mir – regelmäßig unter erheblichem Zeitaufwand – auszudiskutieren.

Das Projekt konnte nur gelingen, weil die Deutsche Saatveredelung (DSV) Lippstadt-Bremen GmbH Inzuchtlinien zur Verfügung stellte und die Saatgutvermehrung und Parzellenversuche entsprechend der Zielsetzung durchführte. Mein besonderer Dank gilt Dr. R. Bothe, Dr. U. Feuerstein und Frau C. Born.

Am Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) Gatersleben konnte ich umfangreiche molekulare Laboruntersuchungen vornehmen, deren Ergebnisse in dieser Arbeit vorgestellt wurden. Diese Untersuchungen ermöglichte mir Dr. K. J. Dehmer durch die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe. Er begleitete den Fortgang meiner Untersuchungen bis zum Abschluss mit substantiellen Hinweisen und Ratschlägen, wofür ich ihm besonders danke.

Im übrigen bedanke ich mich bei den folgenden Personen und Institutionen:

Saatgut von Sorten und Zuchtmaterial für die Erfassung des Genpools bei *L. multiflorum* wurden außer von der DSV von den Züchtern Norddeutsche Pflanzenzucht (Deutschland), Barenbrugg (Holland) und DLF-Trifolium (Dänemark) zur Verfügung gestellt; die Genbankakzessionen erhielt ich vom IPK Gatersleben, Abteilung Genbank.

Prof. Dr. A. Graner vom IPK Gatersleben stellte mir SNP-Primer und Gersten-Mikrosatellitenprimer zur Verfügung.

Mit Dr. H. Lellbach wurden die Blattstückentests für Kronenrost gemeinsam an der Bundesanstalt für Züchtungsforschung Groß Lüsewitz durchgeführt.

Zu Beginn des Projektes gab mir Dr. F. Eickmeyer von der Fa. Saatzucht Steinach wertvolle Hinweise vor allem zum Umgang mit Inzuchtlinien und ihrer Verklonung sowie zu Isoenzymen.

Von Dr. M. Humphreys und Mitarbeitern vom Institute of Grassland and Environmental Research in Aberystwyth, Wales, erhielt ich während meines dortigen Aufenthalts

weiterführende Anregungen und Informationen. Die von Frau Dr. L. Turner erhaltenen Hinweise zur Kartierung der STS-Marker ermöglichten mir die Benennung der hier erstellten Kopplungsgruppen entsprechend den Kopplungsgruppen der ILGI-Population.

Frau H. Ostermann half mir bei der Pflege des umfangreichen Pflanzenmaterials am IPK.

Frau PD Dr. E. Esch und Frau I. Robotta vom Institut für Angewandte Genetik der Universität Hannover stellten mir die notwendigen Gerätschaften zur Verfügung, wodurch mir ein hoher Probendurchsatz ermöglicht wurde.

Frau Dr. K. Förster vom Institut für Acker- und Pflanzenbau der Martin-Luther-Universität Halle erlaubte mir die Nutzung der Laboreinrichtungen für isoenzymatische Untersuchungen.

Frau Dr. E. Schumann aus dem Institut für Pflanzenzüchtung der Martin-Luther-Universität Halle gab mir wertvolle Hinweise bei der kritischen Durchsicht des Manuskripts. Frau M. Fricke half mir ihrer aufmunternden Art, auch schwierige Phasen zu überstehen und organisatorische Probleme zu lösen.

Meine studentischen Hilfskräfte Heike Gröber, Godwin Kalb, Karsten Köhler und Albrecht Serfling unterstützten mich tatkräftig bei den Feldarbeiten und der Dateneingabe.

LEBENS LAUF

Anschrift / Tel.	Ohrdrufer Weg 4 • 28329 Bremen • 0421-4367530
Geburtsdatum / -ort	01. April 1972 in Bremen
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	ledig
Schule	
1978 - 1983	Waldorfschule, Bremen
1983 - 1992	Kippenberg-Gymnasium Bremen, Abschluss Abitur
Ausbildung	
08.92 – 07.94	Ausbildung zur Gärtnerin der Fachrichtung Garten-, Landschafts- und Sportplatzbau
Studium	
10.95 – 04.00	Agrarwissenschaften an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Thema der Diplomarbeit: ‚Eignung agronomischer Merkmale für die züchterische Nutzung bei Inzuchtlinien von Welschem Weidelgras (<i>Lolium multiflorum</i>)‘.
Berufstätigkeit	
10.00-09.03	Wissenschaftliche Mitarbeiterin (BAT IIa/2) am Institut für Pflanzenzüchtung und Pflanzenschutz, Professur für Pflanzenzüchtung, der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Thema des Projektes und der Dissertation: ‚Zuchtmethodische Nutzung von Inzuchtlinien beim Welschen Weidelgras‘.
Praktika	
07.94 – 07.95	Praktikum auf einer Obstplantage in Blenheim/Neuseeland, vermittelt durch International Agricultural Exchange Organisation (I.A.E.A.)
Sommer 1998	10-wöchiges Praktikum bei Novartis Agro GmbH, Frankfurt
04.00 - 09.00	Betreuung von Versuchen für die Deutsche Saatveredelung Lippstadt-Bremen GmbH am Institut für Pflanzenzüchtung, Halle

PUBLIKATIONEN

- O. Kalb. 2000. Bericht von der EUCARPIA-Tagung. 42. Fachtagung des DLG-Ausschusses “Gräser, Klee und Zwischenfrüchte“ und GPZ-Tagung Futterpflanzen, Gräser. Dec 5-6, Fulda.
- O. Kalb, W.E. Weber, K.J. Dehmer. 2001. Vergleich von Detektionssystemen für Mikrosatelliten. Posterbeitrag GPZ-Tagung Molekulare Marker, Sept 25-26, Halle.
- O. Kalb, K.J. Dehmer, W.E. Weber. 2002. Mikrosatelliten-Analysen in Weidelgras. Vortr Pflanzenzüchtg 54:481-483.
- O. Kalb, W.E. Weber, K.J. Dehmer. 2002. AFLP- und SSR-Diversität in Inzuchtlinien von Weidelgras. 10. Tagung AG Molekulare Marker – Molekulare Marker in der Pflanzenzüchtung, Sept 16-17, Weihenstephan.
- O. Kalb, W.E. Weber, K.J. Dehmer. 2002. AFLP- und SSR-Diversität in Inzuchtlinien von Weidelgras. EuroTier, Intern DLG-Fachausstellung für Tierhaltung und Management, Oct 12-15, Hannover.
- O. Kalb, W.E. Weber, K.J. Dehmer. 2003. AFLP- und SSR-Diversität in Inzuchtlinien von Weidelgras. 11. Hochschultagung, Apr 19, Halle.
- O. Kalb, K.J. Dehmer, W.E. Weber. 2003. Genetic diversity in inbred lines of *Lolium multiflorum* revealed by AFLPs and SSRs. Vortr Pflanzenzüchtg 59:144-147.
- O. Kalb, K.J. Dehmer, W.E. Weber. 2003. Mapping molecular markers in a self progeny of the *Lolium perenne* variety ‘Magyar’. Molecular breeding of forage and turf. 3rd Intern Symp, May 18-22, Dallas and Ardmore.
- O. Kalb, K.J. Dehmer, W.E. Weber. 2003. Classification of *Lolium multiflorum* accessions by AFLP-markers. In: Biodiversity and genetic resources as the bases for future breeding. 25th Eucarpia fodder crops and amenity grasses section meeting, Sept 1-4, Brno.
- O. Kalb, K.J. Dehmer, W.E. Weber. 2003. Mapping molecular markers in a self progeny of the *Lolium perenne* variety ‘Magyar’. Posterbeitrag GPZ-Tagung Molekulare Marker, Sept 16-17, Gatersleben.
- O. Kalb. 2003. Zuchtmethodische Nutzung von Inzuchtlinien beim Welschen Weidelgras. 44. Fachtagung des DLG-Ausschusses “Gräser, Klee und Zwischenfrüchte“ und GPZ-Tagung Futterpflanzen, Gräser. Dec 2-3, Fulda.

ERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich, daß mit dieser wissenschaftlichen Arbeit noch keine vergeblichen Promotionsversuche unternommen wurden.

Die eingereichte Dissertation habe ich selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt.

Des weiteren erkläre ich, daß keine Strafverfahren gegen mich anhängig sind.

Halle/Saale, den 07. Nov. 2003

Ortrun Kalb