

Brigitte Heberle

---

**Verwendung von verdoppelt haploiden Linien  
zur Schätzung von genetischen Distanzen,  
Genzahl und epistatischen Effekten  
bei Winterraps**

---



Cuvillier Verlag Göttingen

**Verwendung von verdoppelt haploiden Linien zur Schätzung  
von genetischen Distanzen, Genzahl und epistatischen  
Effekten bei Winterraps**

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Fakultät für Agrarwissenschaften  
der Georg-August-Universität Göttingen

vorgelegt von  
**Brigitte Heberle**  
geboren in Groß-Gerau

Göttingen, September 2002

## **Bibliografische Information Der Deutschen Bibliothek**

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

1. Aufl. - Göttingen : Cuvillier, 2003  
Zugl.: Göttingen, Univ., Diss., 2002  
ISBN 3-89873-623-7

D7

Referent: Prof. Dr. Heiko C. Becker  
Korreferent: Prof. Dr. Bernward Märländer  
Tag der mündlichen Prüfung: 04. November 2002

© CUVILLIER VERLAG, Göttingen 2003  
Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen  
Telefon: 0551-54724-0  
Telefax: 0551-54724-21  
[www.cuvillier.de](http://www.cuvillier.de)

Alle Rechte vorbehalten. Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es nicht gestattet, das Buch oder Teile daraus auf fotomechanischem Weg (Fotokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.

1. Auflage, 2003  
Gedruckt auf säurefreiem Papier

ISBN 3-89873-623-7

Inmitten von Schwierigkeiten  
liegt immer eine Insel der Möglichkeiten

Für meine Eltern



## Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung und Fragestellung</b>	<b>1</b>
<b>2 Analyse von DH – Populationen</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Einleitung</b>	<b>3</b>
<b>2.2 Material und Methoden</b>	<b>7</b>
2.2.1 Material	7
2.2.1.1 Pflanzenmaterial	7
2.2.1.2 Enzyme und Chemikalien	7
2.2.1.3 DNA-Längenmarker	8
2.2.1.4 DNA-Sonden	8
2.2.2 RFLP-Analyse	9
2.2.2.1 Isolation von Gesamt-DNA	9
2.2.2.2 Restriktion von DNA	10
2.2.2.3 DNA-Konzentrationsbestimmung	10
2.2.2.4 Gelelektrophorese und Southern-Transfer	11
2.2.2.5 DNA-DNA Hybridisierung	12
2.2.3 AFLP-Analyse	15
2.2.3.1 Verdau der Gesamt-DNA mit Restriktionsenzymen	15
2.2.3.2 Adapterligation	16
2.2.3.3 Präamplifikation	16
2.2.3.4 Selektive AFLP-Amplifikation	18
2.2.3.5 Gelelektrophorese	19
2.2.4 Feldversuche	21
2.2.5 Merkmalerfassung	21
2.2.6 Bestimmung genetischer Distanzen	22
2.2.7 Statistische Analyse der Feldversuche	23
2.2.8 Genzahlschätzung	23

<b>2.3 Ergebnisse</b>	24
2.3.1 Polymorphismen und Bestimmung genetischer Distanzen	24
2.3.1.1 RFLP-Analyse	24
2.3.1.2 AFLP-Analyse	26
2.3.2 Vergleich der DH – Linien mit den Eltern	27
2.3.3 Varianzanalyse und Heritabilität	30
2.3.4 Genzahlschätzung	32
<b>2.4 Diskussion</b>	38
2.4.1 Markeranalyse	38
2.4.2 Vergleich der DH – Linien mit den Eltern	42
2.4.3 Genzahlschätzung	43
<b>3 Vergleich von Generationsmittelwerten</b>	47
<b>3.1 Einleitung</b>	47
<b>3.2 Material und Methoden</b>	48
3.2.1 Pflanzenmaterial	48
3.2.2 Feldversuche	49
3.2.3 Statistische Analyse	49
3.2.4 Schätzung epistatischer Effekte	50
<b>3.3 Ergebnisse</b>	51
3.3.1 Schätzung epistatischer Effekte	51
<b>3.4 Diskussion</b>	57
<b>4 Zusammenfassung</b>	59
<b>5 Literaturverzeichnis</b>	62
<b>6 Anhang</b>	67

## 1 Einleitung und Fragestellung

Körnerraps ist eine Ölfrucht mit weltweit zunehmender Bedeutung. Diese Entwicklung zeigt sich auch in Deutschland an der stetig steigenden Anbaufläche. Zur Ernte 2002 wurde sie für Winterraps um 13% auf rund 1,26 Mio. ha ausgeweitet (UFOP 2002). In der heutigen Zeit, in der die fossilen Energieträger immer knapper werden, gewinnt der Raps unter anderem als nachwachsender Rohstoff immer mehr an Bedeutung. Rapsöl kann als Biodiesel verwendet werden und trägt zur Stärkung des Umweltbewußtseins in der Öffentlichkeit bei. Ein Hektar Raps liefert fast 1600 Liter Öl, weiterverarbeitet zu Biodiesel trägt jeder Hektar Raps zu einer CO<sub>2</sub>-Einsparung in Höhe von 5,4 Tonnen bei (UFOP 2002). Wegen einer guten Fruchtfolgewirkung und vielseitigen Nutzungsmöglichkeiten (menschliche Ernährung, Tierernährung, nachwachsender Rohstoff) ist der Raps eine züchterisch intensiv bearbeitete Kulturart (Cramer 1990, Lickfett 2000).

In der Rapszüchtung wird in zunehmendem Maße die Doppelhaploiden (DH)-Technik eingesetzt. Es werden aus Mikrosporenkulturen Pflanzen regeneriert, deren haploider Chromosomensatz durch Colchizinbehandlung verdoppelt werden kann. Die Herstellung von DH-Pflanzen bei Raps ist relativ einfach und hat mehrere Vorteile (sofortige Homozygotie, bessere Auslesebedingungen aufgrund der großen Einheitlichkeit aller Pflanzen in einer Prüfparzelle, größere Häufigkeit rezessiver Phänotypen und trotz Homozygotie teils hohe Vitalität einzelner DH-Linien). Für die Untersuchungen in dieser Arbeit standen sieben DH-Populationen zur Verfügung, die aus fünf Elterngenotypen hergestellt wurden (Tabelle 1).

Die vorliegende Arbeit gliedert sich in zwei Abschnitte. Im ersten Teil wurden die fünf Elterngenotypen mit zwei verschiedenen Markersystemen (AFLP, RFLP) analysiert. Mit Hilfe der Markerdaten wurden genetische Distanzen zwischen den fünf Eltern geschätzt. Der Kernpunkt in diesem Teil der Arbeit ist die Schätzung der Anzahl genetischer Faktoren aus DH-Populationen für die Ausprägung von sechs quantitativen Merkmalen. Dazu wurden die fünf Eltern und die sieben DH-Populationen in einem zweijährigen Feldversuch an drei Orten geprüft. Die erfaßten Merkmale sind bedeutende Qualitätsparameter (Öl-, Protein-, Glucosinolatgehalt) und wichtige Ertragskomponenten (Kornzahl je Schote, Tausend-Korn-Gewicht, Schotenlänge) bei Raps.

Im zweiten Teil dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob eine Schätzung epistatischer Summeneffekte aus Generationsmittelwerten geeignet ist, die Bedeutung der Epistasie für die Ausprägung eines quantitativen Merkmals (Ölgehalt) wiederzugeben. Dafür wurden in einem Kreuzungsprogramm sechs Generationen, nämlich die beiden Eltern  $P_1$  und  $P_2$ ,  $F_1$ ,  $F_2$ , sowie die beiden Rückkreuzungen  $BC_{11}$  und  $BC_{12}$  erstellt. Verwendet wurden drei DH-Populationen (Population 1, 2 und 3), die auch für die Untersuchungen im ersten Abschnitt dieser Arbeit eingesetzt wurden. Es wurden neun Kreuzungen mit den jeweils sechs Generationen in einem zweijährigen Feldversuch an drei Orten geprüft. Weil der Ölgehalt das wichtigste Qualitätskriterium bei Raps ist, wurde er für die Untersuchung ausgewählt. Es wurden jedoch noch weitere Merkmale (Proteingehalt, Glucosinolatgehalt, Tausend-Korn-Gewicht) erfaßt, deren Ergebnisse im Anhang (Tabelle 22) dargestellt sind. Einen Überblick über die Zuchtprogramme in den Jahren 1996 bis 2001 gibt Tabelle 24 im Anhang dieser Arbeit.

## 2 Analyse von DH-Populationen

### 2.1 Einleitung

In der Rapszüchtung sind Ertrag und Qualität gleichwertige Zuchtziele. Der Ertrag wird von der Ertragshöhe (Anzahl Schoten/m<sup>2</sup>, Anzahl Samen/Schote, Tausend-Korn-Gewicht) und der Ertragssicherheit (Winterfestigkeit, Regenerationsvermögen, Standfestigkeit, Platzfestigkeit der Schoten u.a.m.) beeinflusst. Die Qualitätszüchtung betrifft einerseits das Öl und andererseits das Rapsschrot. Wichtigstes Qualitätskriterium ist der Ölgehalt, der zusammen mit dem Kornertrag den Ölertrag bestimmt. Je nach Verwendungsart werden unterschiedliche Forderungen an die Fettsäurezusammensetzung des Öls gestellt. Für die menschliche bzw. tierische Ernährung sind Rapssorten mit Doppelnull-Qualität (niedriger Glucosinolatgehalt und erucasäurefrei) erwünscht. Öle für technische Zwecke (z.B. als Tensid) sollten reich an Erucasäure sein. Für die Herstellung von Ölfarben eignet sich Rapsöl mit hohen Anteilen an Linolensäure.

Für die Untersuchungen in dieser Arbeit wurden Merkmale ausgewählt, die zum einen wichtige Ertragskomponenten (Kornzahl je Schote, Tausend-Korn-Gewicht, Schotenlänge) sind und zum anderen bedeutende Qualitätsparameter (Öl-, Protein-, Glucosinolatgehalt) darstellen.

Molekulare Marker können in der Pflanzenzüchtung und so auch beim Raps verwendet werden, um genetische Unterschiede aufzudecken, die der Züchter auf herkömmliche Weise überhaupt nicht erkennen oder erst viel später für eine züchterische Auslese heranziehen könnte. Eine ausführliche Darstellung über züchterische Anwendungsmöglichkeiten molekularer Marker geben WEBER und WRICKE (1994) oder LEE (1995).

Bisher sind Marker in der Pflanzenzüchtung vor allem bei der Kontrolle von Kreuzungen und von Saatgutpartien eingesetzt worden. In Zukunft werden sie aber auch in der Selektion von großer Bedeutung sein (WEBER 2002). In der Selektion sind Marker jedoch nur dann einsetzbar, wenn sie mit züchterisch relevanten Merkmalen gekoppelt sind und beide, Marker und Merkmal, im Zuchtmaterial polymorph sind (WEBER und WRICKE 1994).

Besonders schwierig gestaltet sich die Nutzung von Markern bei quantitativen Eigenschaften, zu denen die meisten agronomisch wichtigen Merkmale gehören. Sie werden polygenisch vererbt und zeigen in den spaltenden Generationen keine Phänotypenklassen sondern eine kontinuierliche phänotypische Variation (KAPPERT 1948). Diese quantitative Variation entsteht durch das Zusammenwirken vieler verschiedener Gene, die als „quantitative trait loci“ (QTL) bezeichnet werden (GELDERMANN 1975). Der Beitrag eines einzelnen QTL zu der Merkmalsvariation ist gering und wird durch Umwelteinflüsse überdeckt. Dadurch ist er an einer einzelnen Pflanze nicht zu erkennen (NILSSON-EHLE 1909, JOHANNSEN 1913, EAST 1915). Für eine züchterische Nutzung ist es erforderlich, daß die Umweltabhängigkeit so gering ist, daß die gleichen QTLs für das gleiche Material auch in anderen Umwelten gefunden werden können. Dies ist keineswegs immer der Fall (BÖRNER et al. 2002).

Bei nahezu allen wichtigen Nutzpflanzen und so auch bei Raps sind inzwischen molekulare Marker wie beispielsweise RAPDs, RFLPs, AFLPs und SSRs verfügbar. Die RAPD-Methode (Random Amplified Polymorphic DNA) nach WILLIAMS et al. (1990) ist ein kostengünstiger und mit geringem Laboraufwand nutzbarer Markertyp. Da die Reproduzierbarkeit von RAPD-Analysen häufig sehr schwierig ist, werden RAPD-Marker immer öfter in Sequence Characterized Amplified Regions (SCAR-Marker, PARAN und MICHELMORE 1993) oder in Sequence Related Amplified Regions (SRAP-Marker, LI und QUIROS 2001) umgewandelt. Dafür müssen die durch die RAPD-Analyse amplifizierten Genorte sequenziert werden. Zusätzlich ist für die Enden des DNA-Fragmentes die Synthese eines längeren, spezifischen Primers notwendig. Der Einsatz dieser Marker ist insbesondere für die markergestützte Selektion auf gekoppelte Merkmale von Bedeutung (LIU et al. 1999).

Die AFLP-Methode (Amplified Fragment Length Polymorphism) und die RFLP-Methode (Restriction Fragment Length Polymorphism) werden in dieser Arbeit noch genauer beschrieben (Material und Methoden 2.2.2 ff. und Diskussion 2.4.1). Das AFLP-Verfahren bezeichnet eine Markermethode, welche die Vorteile der RFLP-Marker mit denen der PCR-gestützten RAPD-Marker verbindet (VOS et al. 1995). Entwickelt wurde das Verfahren von ZABEAU und VOS (1993) und patentiert von der Firma Keygene (Wageningen, Niederlande).

Die AFLP-Methode ist zeitaufwendiger als die RAPDs, durch die erforderlichen Restriktions- und Ligationsschritte vor der PCR. Die Anzahl polymorpher Marker je Probeneinheit (Primerkombination) ist bei der AFLP-Methode jedoch höher als bei dem RAPD-Verfahren.

Den zur Zeit vielversprechensten Markertyp in der Pflanzenzüchtung stellen die z.B. von LAGERCRANTZ et al. (1993) beschriebenen Mikrosatellitenmarker dar. Solche SSR-Marker (Simple Sequence Repeats) bestehen aus einer Einheit von eins bis sechs Basenpaaren, die sich mehrfach hintereinander wiederholen. In *Brassica napus* bilden sie eine umfangreiche Basis zur Gewinnung von PCR-Markern, da sie durchschnittlich ungefähr alle 29 kb im Rapsgenom auftreten. Wegen ihrer hochgradigen Automatisierbarkeit sind sie für umfangreiche Analysen mit vielen Genotypen geeignet. Die Auswertung ist leicht durchzuführen, weil jeweils nur ein Genort erfasst wird. Allerdings ist die Entwicklung von SSR-Primern sehr aufwendig und teuer (RUDOLPH 2002). Für den Raps wurden mittlerweile einige Hundert SSR-Marker entwickelt. Sie bilden die Grundlage für verschiedene Anwendungsbereiche in der heutigen Pflanzenzüchtung. Dieser Markertyp wird unter anderem zur Identifizierung abgeleiteter Sorten und zur Gewinnung eng gekoppelter Marker in `marker assisted selection` (MAS)-Programmen eingesetzt. RUDOLPH (2002) konnte in Untersuchungen zur genetischen Diversität bei *Brassica napus* bereits mit 25 SSR-Primerpaaren 38 Rapsgenotypen identifizieren. FÖRSTER et al. (1999) konnten mit 48 SSR-Primerpaaren 68 Rapsorten eindeutig bestimmen. Die gefundenen Gruppierungen entsprachen der genetischen Struktur des Zuchtmaterial wie sie von KNAAK (1996) für RFLPs beschrieben worden sind und weist darauf hin, daß dieser Markertyp zur Ermittlung genetischer Distanzen bei *Brassica napus* geeignet ist.

Entscheidend für die Auswahl eines Markertyps ist die einfache Anwendbarkeit, ein hoher Polymorphiegrad bei gleichzeitig guter Auswertbarkeit der Bandenmuster und eine gleichmäßige Verteilung im Genom der zu untersuchenden Pflanzenart. Eine entscheidende Rolle spielt auch die Automatisierbarkeit des Analyseverfahrens.

Mit Hilfe quantitativ-genetischer Methoden kann eine Schätzung über die Anzahl der QTLs für ein Merkmal gemacht werden. Es gibt unterschiedliche Verfahren mit denen die Anzahl Gene, die an der Variation für ein quantitatives Merkmal beteiligt sind,

geschätzt werden können (Übersicht bei KEARSEY und POONI 1996). Die bekannteste Methode geht auf Sewall WRIGHT zurück. Allerdings beruht der Ansatz auf der Annahme, daß ein Elter alle günstigen Allele und der andere Elter alle ungünstigen Allele trägt. Diese Annahme dürfte nur selten erfüllt sein. Als alternative Methode wurde die Verwendung einer DH-Population vorgeschlagen (CHOO und REINBERGS 1982, SNAPE et al. 1984). Bei einer zuverlässigen Genzahlschätzung ist dann eine Vorhersage über die Anzahl der vorhandenen QTLs möglich.

**Zielsetzung dieses Abschnittes der Arbeit ist:**

- Schätzung genetischer Distanzen zwischen fünf Elterngenotypen mit RFLP- und AFLP-Markern
- Identifizierung geeigneter Marker für eine spätere Charakterisierung von DH-Populationen, die aus den fünf Elterngenotypen hergestellt wurden
- Untersuchung der Variation in sieben DH-Populationen aus Kreuzungen zwischen diesen Eltern in zweijährigen mehrortigen Feldversuchen
- Schätzung der Anzahl genetischer Faktoren aus DH-Populationen für die Ausprägung von sechs quantitativen Merkmalen

Die Merkmale (Ölgehalt, Proteingehalt, Glucosinolatgehalt, Tausend-Korn-Gewicht, Kornzahl je Schote, Schotenlänge) wurden gewählt, da sie (i) eine breite quantitative Variation zeigen, (ii) dennoch wahrscheinlich von einer begrenzten Anzahl Genen gesteuert werden, (iii) relativ umweltstabil sind und daher bereits bei nur wenigen Versuchsstandorten zuverlässig erfasst werden können, und (iv) mit vergleichsweise geringem Aufwand durch Schnellbestimmung über Nah-Infrarot-Reflexions-Spektroskopie (NIRS) bzw. durch Wiegen, Zählen und Messen bestimmt werden können.

## 2.2 Material und Methoden

### 2.2.1 Material

#### 2.2.1.1 Pflanzenmaterial

Das untersuchte Pflanzenmaterial waren fünf Elternlinien und 411 verdoppelt haploide Linien (DH – Linien), die die Saatzucht Hadmersleben GmbH zur Verfügung gestellt hatte. Die Elterngenotypen der DH - Populationen waren die zugelassenen Rapssorten Eurol und Accord und Genotypen aus der Zuchtarbeit der Saatzucht Hadmersleben GmbH. Diese Genotypen (LP32/85T.3.1, T7.133.dh.5, TAG31) wiesen gegenüber mitgeprüften Vergleichssorten erhöhte Ölgehalte auf. Bezüglich anderer Merkmale entsprachen sie eher dem Durchschnitt.

Es wurden sieben Populationen mit insgesamt 411 DH – Linien untersucht. Die Anzahl der DH – Linien in den einzelnen Populationen schwankte zwischen 14 Linien in Population 7 und 100 Linien in Population 3. In der Tabelle 1 sind die Eltern ( $P_1$ ,  $P_2$ ) und die Anzahl der DH – Linien der Populationen 1 bis 7 angegeben.

**Tab. 1:** Elterngenotypen und Anzahl der DH – Linien der Populationen 1 bis 7

Population	$P_1$	$P_2$	Anzahl DH-Linien
1	Accord	LP32/85T.3.1	90
2	LP32/85T.3.1	T7.133.dh.5	64
3	Eurol	TAG31	100
4	Accord	TAG31	42
5	Accord	T7.133.dh.5	41
6	Eurol	LP32/85T.3.1	60
7	Eurol	Accord	14

#### 2.2.1.2 Enzyme und Chemikalien

Die Restriktionsenzyme *Bam*HI, *Eco*RI, *Hind*III und *Mse*I wurden von der Firma MBI Fermentas (St.-Leon-Rot) bezogen. In Tabelle 2 sind Informationen über die Herkunft und die Erkennungssequenz der Schnittstellen der Restriktionsenzyme zusammengestellt.

**Tab. 2:** Restriktionsendonukleasen für die RFLP- und die AFLP-Analyse

Restriktionsenzym	Herkunft	Erkennungssequenz der Schnittstelle
<i>Bam</i> HI	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> H	G/GATCC
<i>Eco</i> RI	<i>Escherichia coli</i> RY 13	G/AATTC
<i>Hind</i> III	<i>Haemophilus influenzae</i> Rd	A/AGCTT
<i>Mse</i> I	<i>Micrococcus</i> species	T/TAA

Die verwendeten Chemikalien wurden, soweit nicht anders vermerkt, von den Firmen Merck (Darmstadt) oder Sigma (Taufkirchen) bezogen. Sie hatten den Reinheitsgrad „pro analysis“. Eine Chemikalienliste ist im Anhang (Tabelle 17) aufgeführt.

### 2.2.1.3 DNA - Längenmarker

Die verwendeten DNA-Längenmarker sind nachfolgend mit Angabe der Fragmentgröße aufgeführt:

$\lambda$ -DNA, *Hind*III und *Eco*RI geschnitten (New England Biolabs, Beverly, USA)

Fragmentgrößen in bp: 21266, 5148, 4973, 4277, 3530, 2027, 1904, 1584,  
1330, 983, 831, 564, 125

ALFexpress™ Sizer™ 50-500 (Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg)

Fragmentgrößen in bp: 500, 450, 400, 350, 300, 250, 200, 150, 100, 50

### 2.2.1.4 DNA-Sonden

Die verwendeten DNA-Sonden stammten aus der im Rahmen einer Dissertation (UZUNOVA 1994) am Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung in Göttingen entwickelten und getesteten genomischen DNA-Bibliothek von *Pst*I-DNA-Fragmenten der Sommerrapssorte 'Duplo'. Sie wurden ergänzt durch genomische DNA-Sonden aus dem Labor von Prof. T. OSBORN (Madison, Wisconsin, USA), von denen 51 aus der Klonierung von *Pst*I-DNA-Fragmenten der kanadischen Sommerrapssorte 'Westar' und sieben aus der Klonierung von *Eco*RI-DNA-Fragmenten aus der Rübensorte 'Tobin' stammten. Diese Sonden wurden am Department of Agronomy

der Universität of Wisconsin, Madison, USA für Diversitätsanalysen und genetische Kartierungen in der Gattung *Brassica* entwickelt und stellten eine vorselektierte Auswahl gut auswertbarer DNA-Sonden dar. Zusätzlich wurde eine cDNA-Sonde verwendet, die Dr. R. TÖPFER (MPI für Züchtungsforschung, Köln) zur Verfügung gestellt hatte.

## 2.2.2 RFLP-Analyse

### 2.2.2.1 Isolation von Gesamt-DNA

Zur Gewinnung ausreichender Mengen DNA wurde das nach ROGERS und BENDICH (1988) modifizierte Extraktionsverfahren angewendet, welches sich nach UZUNOVA (1994) für Raps als sehr gut geeignet erwiesen hat.

#### Protokoll der CTAB-Gesamt-DNA Präparation:

Verwendete Lösungen:

2 x CTAB-Puffer	100 mM 20 mM 1,4 M 1% 2%	Tris-HCl (pH 8,0) EDTA NaCl PVP 40000 CTAB
10% CTAB-Lösung	10% 0,7 M	CTAB NaCl
CTAB-Präzipitationspuffer	50 mM 10 mM 1%	Tris-HCl (pH 8,0) EDTA CTAB
High Salt TE-Puffer	10 mM 1 mM 1 M	Tris-HCl (pH 8,0) EDTA NaCl
1 x TE-Puffer	10 mM 1 mM	Tris-HCl (pH 8,0) EDTA

- 5-10 g frisches oder tiefgefrorenes Blattmaterial in flüssigem Stickstoff zu Pulver mörsern
- Pulver in 250 ml Erlenmeyerkolben überführen
- in 10 ml warmen (65°C) 2 x CTAB-Puffer aufnehmen
- Proteinase K auf Endkonzentration von 100 µg/ml zugeben
- 30 min bei 65°C unter leichtem Schütteln inkubieren
- mit einem Volumen Chloroform/Isoamylalkohol (24:1) in 50 ml Zentrifugenröhrchen extrahieren
- 10 min bei 4°C und 12000 rpm zentrifugieren (Sigma Zentrifuge 4K 10, Rotor Nr. 12166)
- wässrige Phase in neues Röhrchen überführen
- 1/10 Volumen 10% CTAB-Lösung zugeben
- mit einem Volumen Chloroform/Isoamylalkohol erneut extrahieren
- wässrige Phase in neues Röhrchen überführen
- mit einem Volumen warmen (65°C) CTAB-Präzipitationspuffer versetzen
- CTAB-DNA Komplex 10 min bei 12000 rpm und ca. 20°C pelletieren
- Pellet in 2 ml High Salt TE bei 65°C lösen
- mit 2 Volumina kaltem 96% Ethanol bei -20°C über Nacht fällen
- 15 min bei 12000 rpm zentrifugieren (Hettich Tischzentrifuge)
- Salzreste mit kaltem 70% Ethanol auswaschen
- 5 min bei 12000 rpm zentrifugieren
- Pellet im Exsikkator trocknen
- trockenes Pellet in 1 ml TE-Puffer aufnehmen

#### 2.2.2.2 Restriktion von DNA

Der vollständige Verdau von Raps-Gesamt-DNA mit den Restriktionsenzymen *Bam*HI, *Eco*RI und *Hind*III erfolgte in den vom Hersteller mitgelieferten Puffern über Nacht bei 37°C. Pro µg DNA wurden 4U des entsprechenden Enzyms eingesetzt.

#### 2.2.2.3 DNA-Konzentrationsbestimmung

DNA-Konzentrationen wurden mit dem Fluorometer der Firma BioRad (Hercules, USA) nach Herstelleranweisung bestimmt. Gemessen wird die Fluoreszenz des Komplexes, der durch Bindung von Fluorochrom bis-Benzimidazol (Hoechst 33258) an

DNA entsteht. Dieser Farbstoff ist hoch spezifisch für DNA. Dadurch haben Verbindungen wie Proteine oder RNA keine Auswirkungen auf die DNA-Quantifizierung. Somit ermöglicht die fluorimetrische Methode im Vergleich zu spektrophotometrischen Meßtechniken eine wesentlich genauere DNA-Konzentrationsbestimmung.

#### 2.2.2.4 Gelelektrophorese und Southern-Transfer

##### Verwendete Lösungen:

TAE-Puffer	40 mM	Tris-Acetat (pH 8,0)
	1 mM	EDTA
	0,1 µg/ml	Ethidiumbromid
TAE-Laufpuffer	40 mM	Tris-Acetat (pH 8,0)
	1 mM	EDTA
Farbmarker	40 %	Saccharose
	0,25 %	Xylene-Cyanol
	0,25 %	Bromphenol-Blau
Denaturierungslösung	1,5 M	NaCl
	0,5 M	NaOH
Neutralisierungslösung	1,5 M	NaCl
	0,5 M	Tris-HCl (pH 7,2)
	1 mM	EDTA
20 x SSC	3,0 M	NaCl
	0,3 M	Na-Citrat (pH 7,0)

Von der restringierten genomischen DNA wurden 5 µg je Genotyp in horizontalen Agarosegelen (0,8% Agarose in 400 ml TAE) elektrophoretisch aufgetrennt. Die Gele maßen 20 x 30 x 0,7 cm. Pro Gel wurden zwei Kämme mit je 40 Zähnen gesetzt, je einer an die obere Kante des Gels und einer auf halber Trennstrecke. Als DNA-Längenstandard wurden 100 ng *EcoRI*- und *HindIII*-verdaute λ-DNA verwendet. Die DNA-Proben wurden vor dem Auftragen mit 1/5 Volumen Farbmarker gemischt. Die Elektrophorese erfolgte für 16 h bei 40 V.

Der Transfer der DNA auf eine Nylon-Membran wurde nach dem Southern-Verfahren (SOUTHERN 1975) durchgeführt. Das Agarosegel wurde in 0,25 M HCl partiell depuriniert, bis das Bromphenol-Blau des Farbmehrsers seine Farbe auf gelb gewechselt hatte. Der DNA-Transfer aus dem Gel auf die positiv geladene Membran Hybond™-N<sup>+</sup> (Amersham, UK) erfolgte durch einen Vakuumblot (Blotapparatur VacuGene XL, Pharmacia, Freiburg) mit 0,4 M NaOH bei einem Druck von 50 mbar für 1 h. Nach Beendigung des Blots wurde die Membran kurz in 5 x SSC gespült, getrocknet und anschließend 1 h bei 80°C gebacken. Bis zur Hybridisierung wurde der Filter bei 4°C aufbewahrt.

### 2.2.2.5 DNA-DNA Hybridisierung

#### *Radioaktive Markierung der DNA-Sonden*

Die Markierung der DNA-Sonden mit radioaktivem  $\alpha$ -<sup>32</sup>P-dCTP (ICN Biomedicals, Costa Mesa, USA) erfolgte mit Hilfe des Prime-It™ Random Prime Labelling Kits der Firma Stratagene (La Jolla, USA) entsprechend der 'random primed labelling' Methode, modifiziert nach FEINBERG und VOGELSTEIN (1983). Als 'random primer' diente ein Gemisch aus Nonanukleotiden. Alternativ wurden die Sonden mit dem Rediprime™II Random Prime Labelling System von Amersham Pharmacia Biotech (Buckinghamshire, UK) radioaktiv markiert.

#### Prime-It™ - Markierungsansatz:

- 25 ng DNA-Sonde
- 8  $\mu$ l Nonamer random primer (dNTP)<sub>9</sub>
- 8  $\mu$ l Reaktionspuffer (dATP, dGTP, dTTP)
- 5  $\mu$ l  $\alpha$ -<sup>32</sup>P-dCTP
- 1  $\mu$ l EXO (-) Klenow DNA-Polymerase I (5 U/ $\mu$ l)  
mit H<sub>2</sub>O auf 40  $\mu$ l Gesamtvolumen auffüllen

DNA-Sonden und 'Nonamer primer' wurden für 5 min bei 100°C im Wasserbad denaturiert. Alle weiteren Komponenten des Markierungsansatzes wurden bei einer Temperatur von 37°C dazugegeben und für 15 min bei 37°C im Wasserbad inkubiert.

Vor Verwendung in der Hybridisierung wurde die markierte DNA-Sonde erneut durch 5-minütiges Erhitzen auf 95-100°C denaturiert.

*Hybridisierung der markierten Sonden auf Southern-Filtern*

Verwendete Lösungen:

100 x Denhardt's	2%	PVP-40
	2%	Ficoll-400
	2%	BSA (Fraktion V)
Vorhybridisierungslösung	5 x	SSC
	0,6%	SDS
	50 mM	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
	5 x	Denhardt's
	200 µg/ml	Heringssperma DNA
Hybridisierungslösung	5 x	SSC
	0,6%	SDS
	50 mM	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
	5 x	Denhardt's
	100 µg/ml	Heringssperma DNA
	5%	Dextransulfat
Waschpuffer I	2 x	SSC
	0,1%	SDS
Waschpuffer II	1 x	SSC
	0,05%	SDS
Waschpuffer III	0,5 x	SSC
	0,025%	SDS
Rehybridisierungspuffer	0,2 M	Tris-HCl (pH 7,5)
	0,1%	SDS
	0,1 x	SSC

Die Hybridisierung der radioaktiv markierten DNA-Sonde gegen die Southern-Filter erfolgte nach einer modifizierten Methode von BERNATZKY und TANKSLEY (1986). Vorhybridisierung, Hybridisierung und Waschen wurde bei 65°C in einem Hybridisierungsrollofen (Appligene, Illkirch) durchgeführt. Zur Absättigung unspezifischer Bindungsstellen auf den Membranen wurden die Filter mit 50 ml Vorhybridisierungslösung über Nacht inkubiert. Die Hybridisierung mit der denaturierten radioaktiven Sonde erfolgte ebenfalls über Nacht in 15 ml Hybridisierungslösung. Anschließend wurde in drei Waschschrritten die unspezifisch gebundene radioaktive DNA von den Filtern entfernt. Die Filter wurden nacheinander je 20 min in den Waschpuffern I und II mit 200 ml pro Röhrchen im Hybridisierungsofen und anschließend 20 min in 500 ml Waschpuffer III ausgerollt im Wasserbad gewaschen. Die feuchten Filter wurden in Frischhaltefolie verpackt und mit Verstärkerfolien (Intas, Göttingen) bei -80°C für fünf bis sieben Tage auf Röntgenfilmen (BioMax MS, Kodak) exponiert. Die spezifischen Hybridisierungssignale wurden auf den Autoradiogrammen sichtbar. Zur Wiederverwendung der Filter wurde die gebundene Sonden-DNA mit 0,2 M NaOH für 30 min bei 45°C entfernt und nachfolgend für 30 min mit Rehybridisierungspuffer bei 45°C neutralisiert. Sie wurden bei 4°C feucht gelagert und konnten bis zu acht mal zur Hybridisierung verwendet werden.

### 2.2.3 AFLP-Analyse

Für die AFLP-Analyse wurden DNA-Proben eingesetzt, die noch aus der RFLP-Analyse zur Verfügung standen.

#### 2.2.3.1 Verdau der Gesamt-DNA mit Restriktionsenzymen

Die Restriktion der Gesamt-DNA wurde gleichzeitig mit dem häufig schneidenden Restriktionsenzym *MseI* und dem selten schneidenden Enzym *EcoRI* durchgeführt.

##### Verwendete Lösung:

10 x RL-Puffer	100 mM	Tris-Acetat (pH 7,5)
	100 mM	Mg-Acetat (pH 7,5)
	500 mM	K-Acetat (pH 7,5)
	50 mM	DTT

Für den Verdau der Gesamt-DNA mit den beiden Restriktionsenzymen wurde folgender Reaktionsansatz verwendet:

250 ng	Gesamt-DNA
1x	RL-Puffer
4 U	<i>EcoRI</i>
4 U	<i>MseI</i>
	mit H <sub>2</sub> O auf 30 µl Gesamtvolumen auffüllen

Der Ansatz wurde gemischt, an zentrifugiert und für 1,5 h bei 37°C inkubiert.



Struktur der Primer für die Präamplifikation:

*EcoRI* +1: 5' – CTG CGT ACC AAT TCA – 3'

*MseI* +1: 5' – GAT GAG TCC TGA GTA AC – 3'

Verwendete Lösung:

10 x PCR-Puffer (Pharmacia Biotech, Freiburg)

100 mM Tris-HCl (pH 8,3)

15 mM MgCl<sub>2</sub>

500 mM KCl

Für die Präamplifikation wurde folgender Reaktionsansatz verwendet:

5 µl	verdünnte Ligationsmischung	(Kapitel 2.2.3.2)
6 pM	<i>EcoRI</i> +1-Primer	
6 pM	<i>MseI</i> +1-Primer	
0,2 mM	dNTP	
1x	PCR-Puffer	
1 U	Taq DNA-Polymerase	
	mit H <sub>2</sub> O auf 20 µl Gesamtvolumen auffüllen	

Die Präamplifikation erfolgte im DNA Thermocycler TGRADIENT der Firma Whatman Biometra® (Göttingen).

PCR-Programm:	1. Zyklus	30 s	94°C
	2. – 20. Zyklus	30 s	94°C (Denaturierung)
		30 s	56°C (Annealing)
		1 min	72°C (Elongation)
	terminale Verlängerung	5 min	72°C
Endtemperatur			4°C

Zur Verdünnung (1:10) wurden die 20 µl des Präamplifikationsansatzes mit 180 µl TE-Puffer gemischt.

### 2.2.3.4 Selektive AFLP-Amplifikation

Für die selektive Amplifikationsreaktion wurden Cy5-markierte *EcoRI*-Primer von der Firma Amersham Pharmacia Biotech (Buckinghamshire, UK) verwendet. Die *MseI*-Primer wurden von der Firma MWG-Biotech (Ebersberg) bezogen.

In der Tabelle 3 sind die verwendeten *EcoRI*- und *MseI*-Primer mit den zugehörigen Nukleotidendungen aufgeführt. Es wurden fünf verschiedene *EcoRI*-Primer und neun verschiedene *MseI*-Primer eingesetzt, insgesamt standen 45 verschiedene *EcoRI/MseI*-Primerkombinationen für die selektive AFLP-Amplifikationsreaktion zur Verfügung.

**Tab. 3:** *EcoRI*- und *MseI*-Primer für die selektive Amplifikationsreaktion

<i>Eco RI</i> -Primer	selektive Erweiterung	<i>Mse I</i> -Primer	selektive Erweiterung
<b>E32</b>	AAC	<b>M47</b>	CAA
<b>E33</b>	AAG	<b>M48</b>	CAC
<b>E35</b>	ACA	<b>M49</b>	CAG
<b>E38</b>	ACT	<b>M50</b>	CAT
<b>E40</b>	AGC	<b>M51</b>	CCA
		<b>M59</b>	CTA
		<b>M60</b>	CTC
		<b>M61</b>	CTG
		<b>M62</b>	CTT

Für die Amplifikation wurde folgender Reaktionsansatz verwendet:

5 µl	verdünnte Template-DNA aus der Präamplifikation (vgl. 2.2.3.3)
1 pM	<i>EcoRI</i> +3-Primer (Cy5 markiert)
6 pM	<i>MseI</i> +3-Primer
0,2 mM	dNTP
1x	PCR-Puffer (Kapitel 2.2.3.3 Präamp.)
0,5 U	Taq DNA-Polymerase
	mit H <sub>2</sub> O auf 20 µl Gesamtvolumen auffüllen

Die PCR-Amplifikation erfolgte im DNA Thermocycler TGRADIENT der Firma Whatman Biometra® (Göttingen) nach folgendem Protokoll:

Denaturierung	94°C	30 Sekunden
Annealing	65°C	30 Sekunden
Elongation	72°C	60 Sekunden

Die Annealing-Temperatur wurde in den folgenden 13 Zyklen bei jedem Zyklus im Wechsel um 0,7°C bzw. 0,8°C gesenkt, bis eine Annealing-Temperatur von 56°C erreicht war. Die Temperaturen für Denaturierung und Elongation blieben dabei unverändert. Abschließend folgten 23 Zyklen nach folgendem Protokoll:

Denaturierung	94°C	30 Sekunden
Annealing	56°C	30 Sekunden
Elongation	72°C	60 Sekunden
Endtemperatur	4°C	

Die in der selektiven Amplifikationsreaktion entstandenen Fragmente verschiedener Länge wurden im automatischen ALFexpress™ DNA Sequencer der Firma Amersham Pharmacia Biotech (Freiburg) aufgetrennt.

### 2.2.3.5 Gelelektrophorese

#### Verwendete Lösungen:

10 x TBE	890 mM	Tris-HCl
	890 mM	Borsäure
	20 mM	EDTA
	pH 8,4 einstellen	
Bindesilan-Lösung:	2 ml	96% (v/v) Ethanol
	7,5 µl	Bindesilan
	0,5 ml	10% (v/v) Essigsäure

deionisiertes Formamid:	100 ml	Formamid
	1 g	Dowex mixed bed 50 W x 8 (H <sup>+</sup> ) / 1 x 8 (OH <sup>-</sup> ) (1:1) (Ionenaustauscher)
	1 h bei 4°C rühren durch Faltenfilter 5951/2 geben portioniert bei -20°C lagern	
Ladepuffer:	5 mg	Dextranblau in
	1 ml	deionisiertem Formamid
ReproGel Long Read Lösung A:	keine Herstellerangaben enthält Acrylamid/Bisacrylamid 14% (w/v)	
ReproGel Long Read Lösung B:	keine Herstellerangaben enthält 1,5x TBE Denaturierungsagenzien UV-Initiator (Patent-Nr. SE 9604730-3)	

Zur Analyse der Amplifikationsprodukte wurden ALFexpress™-Gelplatten mit einer Trennstrecke von 200 mm verwendet. Diese sowie die dazugehörigen Glas-Spacer wurden sorgfältig mit H<sub>2</sub>O und mit 96% igem (v/v) Ethanol gesäubert. Die vordere Glasplatte wurde im Kammbereich mit 50 µl Bindesilan-Lösung eingerieben. Beide Glasplatten und die Spacer wurden staubfrei zusammengesetzt und der Kamm hineingesetzt.

Die Auftrennung erfolgte in einem denaturierendem Polyacrylamid-Gel, dafür wurde das ReproGel™ Long Read von Amersham Pharmacia Biotech (Freiburg) verwendet. Das ReproGel™ Long Read besteht aus zwei Lösungen: Lösung A enthält das Acrylamid/Bisacrylamid und Lösung B den UV-Initiator in TBE gelöst. Dieses Gelsystem hat den Vorteil, daß der Polymerisationsstart durch UV-Licht im Wellenlängenbereich 315 bis 400 nm (ReproSet, Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg) ausgelöst wird. Dadurch konnte der Gel-Mix in Ruhe gegossen und von Luftblasen befreit werden, bevor die Polymerisation gestartet wurde. Ein weiterer

Vorteil war, daß das Gel bereits innerhalb von 10 min auspolymerisiert und sofort verwendet werden konnte.

Die Proben wurden mit 20 µl Ladepuffer (1:1) versetzt, für 5 min bei 95°C denaturiert und sofort auf Eis gestellt. Von diesem Proben-Puffer-Mix wurden 6 µl auf das Gel aufgetragen. Als Laufpuffer wurde 0,5x TBE verwendet. Die Gelelektrophorese erfolgte im ALFexpress™ DNA Sequencer (Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg) für 540 min bei 1500 V, 38 mA, 34 W und 50°C. Der Laser-Wert lag über 700. Alle 2 sec wurden Signale zum ALFwin™ Fragment Analyser V1.00.32 (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Schweden) übertragen. Diese Software diente auch zur Auswertung der Fragmente.

#### **2.2.4 Feldversuche**

Die 411 DH – Linien aus den sieben Populationen und die Eltern wurden im zweijährigen Feldversuch (1997/98 und 1998/99) an drei Orten (Göttingen, Grund-Schalweim, Teendorf) getestet. Der Versuch in Teendorf in dem Jahr 1998/99 fiel wegen Auflaufproblemen nach der Saat aus. Wegen Saatgutmangel konnten manche Eltern nur an ein bis zwei Umwelten geprüft werden. An jedem Ort wurde jeweils innerhalb der Population eine Gitteranlage mit zwei Wiederholungen angelegt. Die Parzellengröße war in Göttingen 1,9 m<sup>2</sup>, in Grund-Schalweim 3,75 m<sup>2</sup> und in Teendorf 1,5 m<sup>2</sup>. Die Aussaatstärke an den drei Orten lag zwischen 26 und 60 Samen je m<sup>2</sup>. Bei den Populationen 5, 6 und 7 wurden 1, 4 bzw. 2 weitere Prüfglieder (Standards oder Eltern) mitgeprüft. Die Pflanzen konnten offen abblühen.

#### **2.2.5 Merkmalerfassung**

Zur Merkmalerfassung wurden in jeder Parzelle drei zufällig ausgewählte Pflanzen geerntet, wobei von jeder Pflanze der Haupttrieb mit dem obersten Nebentrieb geerntet wurde. Die untersten drei Schoten des Haupttriebes wurden getrennt geerntet.

Ölgehalt, Proteingehalt und Glucosinolatgehalt im Samen wurde mit Hilfe der Nah Infrarot Reflektions Spektroskopie (NIRS) bestimmt (TILLMANN 1997). Das Tausend-Korn-Gewicht (TKG) wurde durch Wiegen von viermal 100 Samen ermittelt.

Schotenlänge und Anzahl Samen je Schote wurden an den drei getrennt geernteten Schoten bestimmt.

### 2.2.6 Bestimmung genetischer Distanzen

Die Auswertung der RFLP- und der AFLP-Daten für die fünf Elterngenotypen erfolgte durch Übertragung der Bandenmuster in eine binäre Matrix. Die Anwesenheit einer Bande wurde mit '1' und das Fehlen einer Bande wurde mit '0' gewertet. Monomorphe Banden wurden für die Berechnung der genetischen Distanzen nicht berücksichtigt.

Die Schätzung genetischer Distanzen für die fünf Elterngenotypen wurde für die RFLP-Daten nach dem von NEI und LI (1979) für RFLP-Analysen vorgeschlagenem Koeffizienten von DICE (1945) durchgeführt:

$$GD_D = 1 - \frac{N_{ij}}{(N_{ij} + 1/2 N_i + 1/2 N_j)}$$

Die Schätzung genetischen Distanzen auf der Grundlage der AFLP-Daten erfolgte nach dem Koeffizienten von Jaccard (1908):

$$GD_J = 1 - \frac{N_{ij}}{(N_{ij} + N_i + N_j)}$$

$N_{ij}$  ist die Anzahl der Banden, die bei beiden Genotypen vorhanden sind.  $N_i$  ist die Anzahl der Banden, die bei Genotyp i vorhanden sind aber nicht bei Genotyp j und  $N_j$  ist die Anzahl der Banden, die bei Genotyp j auftreten aber nicht bei Genotyp i.

Anschließend wurden Clusteranalysen nach dem 'average linkage' Verfahren (BACKHAUS et al. 1990) durchgeführt, die zur Identifizierung von Genotypengruppen beitragen sollten. Sämtliche Berechnungen erfolgten mit dem Programm NTSYS-pc 2.1 (ROHLF 2000).

### 2.2.7 Statistische Analyse der Feldversuche

Es wurden Varianzanalysen (ANOVA) mit Hilfe des Programmes PLABSTAT (PLAnt Breeding STATistical program, Version 2F, UTZ 1992) durchgeführt. Zunächst wurden die Einzelversuche als Gitter analysiert, die Jahr-Ort Kombinationen wurden dann als Versuchsserie mit fünf Umwelten ausgewertet. Die PLABSTAT ANOVA wurde mit folgendem Modell gerechnet:

$$Y_{ij} = \mu + l_i + u_j + (lu)_{ij} + e_{ij}$$

Dabei entspricht:

$Y_{ij}$  = Beobachtungswert für die DH – Linie i in der Umwelt j

$\mu$  = Versuchsmittelwert

$l_i$  = DH - Linieneffekt (i = Anzahl der DH - Linien)

$u_j$  = Umwelteffekt (j = 1 bis 5)

$(lu)_{ij}$  = Interaktionseffekt der DH – Linie i mit der Umwelt j

$e_{ij}$  = Versuchsfehler (gepoolter Fehler der Gitteranalyse)

Die genetischen Varianzen der sieben Populationen wurden miteinander verglichen, indem den genetischen Varianzkomponenten der verschiedenen Merkmale Ränge von eins bis sieben zugeordnet wurden. Der höchste Wert für die genetische Varianz eines jeden Merkmals bekam die Rangnummer eins zugeordnet, der kleinste Wert bekam die Rangnummer sieben. Eine niedrige Rangnummer bedeutete also eine große Varianz und eine hohe Rangnummer eine kleine Varianz. Anschließend wurden die Rangnummern über die einzelnen Merkmale gemittelt.

### 2.2.8 Genzahlschätzung

In den Populationen 1 bis 7 wurden für die Merkmale Ölgehalt, Proteingehalt, Glucosinolatgehalt, Tausend-Korn-Gewicht, Schotenlänge und Kornzahl je Schote die Anzahl effektiver Faktoren (K) nach einer Näherungsformel von SNAPE et al. (1984) abgeschätzt:

$$K = [d]^2 / D, \text{ mit}$$

$$[d] = (DH_{\max.} - DH_{\min.}) / 2$$

$$D = \text{genetische Varianz der DH – Linien}$$

## 2.3 Ergebnisse

### 2.3.1 Polymorphismen und Bestimmung genetischer Distanzen

#### 2.3.1.1 RFLP-Analyse

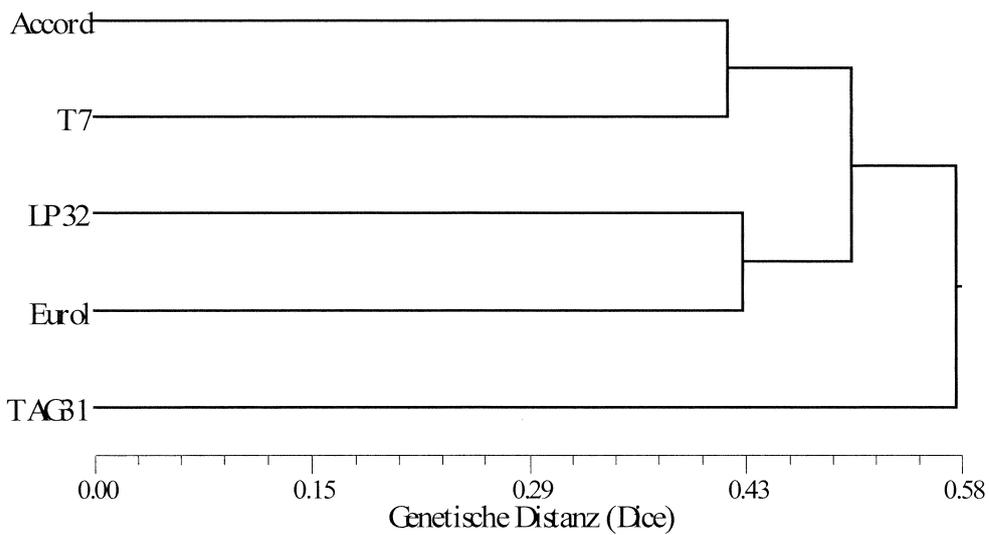
DNA-Sonden, die bei der Hybridisierung gegen die Screening-Filter mindestens eine polymorphe Bande (RFL-Polymorphismus) zwischen den fünf Eltern der DH-Populationen zeigten, wurden als informative Sonden ausgewertet. Es wurden insgesamt 399 Sonde-Enzym-Kombinationen (SEK) getestet. Von diesen erwiesen sich 256 SEK als informativ, die übrigen 143 SEK zeigten entweder monomorphe Bandenmuster oder wurden wegen zu schwacher bzw. nicht auswertbarer Hybridisierungsmuster verworfen. Mit den informativen 256 SEK konnten 581 polymorphe Banden ausgewertet werden.

Die errechneten genetischen Distanzen zwischen den fünf Eltern der DH-Populationen sind in der Tabelle 4 zusammengefasst. Die genetischen Distanzen sind dreimal berechnet worden. Einmal mit dem vollständigen Markersatz mit 581 Markern und zur Überprüfung der Zuverlässigkeit der RFLP-Daten mit zwei zufällig aufgeteilten Markersätzen mit 290 Markern bzw. mit 291 Markern. Die berechneten Distanzwerte der geteilten Markersätze sind miteinander korreliert worden. Der Korrelationskoeffizient ist 0,59 und damit signifikant bei einer Signifikanzgrenze von  $P \leq 0,1$ . Bei Betrachtung der genetischen Distanzen auf der Grundlage des vollständigen Markersatzes (581 Marker), zeigen sich deutliche Distanzunterschiede zwischen den Eltern. Die größte genetische Distanz besteht zwischen TAG31 und Eurol mit einem Wert von 0,67. Die geringste Distanz mit 0,42 ist die zwischen den Eltern T7 und Accord.

Mit den fünf Eltern der DH-Populationen wurde eine Clusteranalyse durchgeführt, mit deren Hilfe Aussagen über die Verwandtschaftsbeziehungen zwischen den einzelnen Eltern gemacht werden sollen. Das Ergebnis der Analyse kann in einem Dendrogramm graphisch dargestellt werden. Die Abbildung 1 zeigt das Dendrogramm der fünf Eltern der DH-Populationen. Es ist deutlich zu erkennen, daß der Elter TAG31 die größte genetische Distanz zu allen anderen Eltern besitzt.

**Tab. 4:** Genetische Distanzen der fünf Eltern der DH-Populationen, basierend auf RFLP-Daten

	Accord	LP32	T7	Eurol
<b>581 Marker</b>				
LP32	0,51			
T7	0,42	0,48		
Eurol	0,50	0,43	0,53	
TAG31	0,61	0,49	0,54	0,67
<b>290 Marker</b>				
LP32	0,56			
T7	0,43	0,44		
Eurol	0,51	0,49	0,45	
TAG31	0,62	0,48	0,55	0,70
<b>291 Marker</b>				
LP32	0,46			
T7	0,42	0,52		
Eurol	0,49	0,38	0,60	
TAG31	0,60	0,49	0,53	0,65



**Abb. 1:** Dendrogramm der Distanzbeziehungen zwischen den fünf Eltern der DH-Populationen, basierend auf der RFLP-Analyse

### 2.3.1.2 AFLP-Analyse

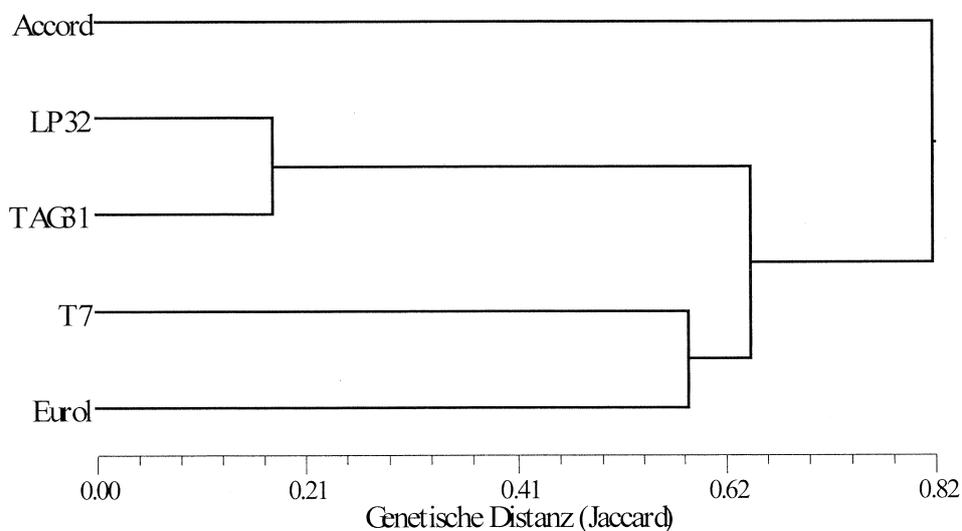
Für die AFLP-Analyse wurden 43 Primerkombinationen eingesetzt. Insgesamt konnten 696 polymorphe Banden ausgewertet werden. Die errechneten genetischen Distanzen zwischen den Eltern der DH-Populationen aus der AFLP-Analyse zeigt die Tabelle 5. Die Distanzen wurden, wie schon bei der RFLP-Analyse beschrieben, wieder dreimal berechnet. Sie wurden einmal mit dem vollständigem Markersatz mit 696 Markern und mit den beiden zufällig aufgeteilten Markersätzen mit jeweils 348 Markern durchgeführt. Bei der Korrelation der Distanzwerte der beiden geteilten Markersätze wurde ein Korrelationskoeffizient von 0,92 errechnet. Dieser Wert ist hoch signifikant für  $P \leq 0,01$  und zeigt, daß die Distanzwerte der geteilten Markersätze sehr gut miteinander korrelieren. Die genetischen Distanzen der Eltern schwanken sehr stark von 0,17 bis 0,85. Die meisten Werte liegen jedoch eher in dem Bereich zwischen 0,58 und 0,85. Der Wert von 0,17 ist gegenüber den anderen Distanzwerten auffallend niedrig. Die Eltern TAG31 und LP32 zeigen mit dem niedrigsten Wert (0,17) die engste Verwandtschaftsbeziehung und zwischen den Eltern Eurol und Accord besteht die größte genetische Distanz (0,85).

**Tab. 5:** Genetische Distanzen der fünf Eltern der DH-Populationen, basierend auf den AFLP-Daten

	<b>Accord</b>	<b>LP32</b>	<b>T7</b>	<b>Eurol</b>
<b>696 Marker</b>				
<b>LP32</b>	0,82			
<b>T7</b>	0,78	0,61		
<b>Eurol</b>	0,85	0,69	0,58	
<b>TAG31</b>	0,82	0,17	0,59	0,67
<b>348 Marker</b>				
<b>LP32</b>	0,78			
<b>T7</b>	0,74	0,64		
<b>Eurol</b>	0,85	0,73	0,64	
<b>TAG31</b>	0,79	0,16	0,63	0,73
<b>348 Marker</b>				
<b>LP32</b>	0,87			
<b>T7</b>	0,82	0,58		
<b>Eurol</b>	0,85	0,65	0,52	
<b>TAG31</b>	0,85	0,19	0,55	0,61

Die Abbildung 2 zeigt das Dendrogramm der Distanzbeziehungen zwischen den Eltern auf der Grundlage der AFLP-Analyse. Es ist zu erkennen, daß Accord die größte Distanz zu den übrigen vier Eltern zeigt, und TAG31 mit LP32 die geringste Distanz zueinander haben.

Das Ergebnis der Distanzbeziehungen zwischen den Eltern aufgrund der AFLP-Daten weicht völlig von dem Ergebnis der RFLP-Daten ab. Es ist sehr ungewöhnlich, daß Ergebnisse, die zwar mit unterschiedlichen Markertypen gewonnen wurden, aber dennoch annähernd übereinstimmen sollten derart große Unterschiede zeigen. Bei der Korrelation der Distanzwerte der RFLP-Analyse mit den Werten der AFLP-Analyse errechnet sich ein Korrelationskoeffizient von 0,1. Dieser Wert ist nicht signifikant. Dieses widerspricht den Erwartungen und in der Diskussion wird darauf näher eingegangen.



**Abb. 2:** Dendrogramm der Distanzbeziehungen zwischen den fünf Eltern der DH-Populationen, basierend auf der AFLP-Analyse

### 2.3.2 Vergleich der DH – Linien mit den Eltern

Es wurden die Mittelwerte der DH – Linien mit dem Elternmittel für die Merkmale Ölgehalt, Proteingehalt, Glucosinolatgehalt, Tausend-Korn-Gewicht, Schotenlänge und Kornzahl je Schote verglichen (Tabelle 6). In manchen Populationen war der Vergleich auf ein bis zwei Umwelten beschränkt, weil die Eltern nicht immer an allen fünf Orten geprüft werden konnten.

### *Ölgehalt*

Das Elternmittel für den Ölgehalt liegt zwischen 43,3% für die Eltern der Population 2 und 47,6% für die Eltern der Population 1. Der mittlere Ölgehalt der DH – Linien schwankt zwischen 44,2% in Population 2 und 48,0% in Population 6. Die Differenz zwischen dem Elternmittel und dem DH - Mittel ist für die Population 1, 2 und 7 signifikant.

### *Proteingehalt*

Der Mittelwert ist bei den Eltern der Population 7 mit 15,6% am niedrigsten und bei den Eltern der Population 2 mit einem Wert von 19,1% am höchsten. Bei den DH – Linien liegt der mittlere Proteingehalt zwischen 16,0% in Population 6 und 19,3% in Population 2. Bei dem Merkmal Proteingehalt treten keine signifikanten Differenzen auf.

### *Glucosinolatgehalt*

Die Eltern der Population 6 haben mit 9,1  $\mu\text{mol/g}$  den niedrigsten und die Eltern der Population 2 mit 20,5  $\mu\text{mol/g}$  den höchsten mittleren Glucosinolatgehalt. Der Mittelwert für die DH – Linien ist in Population 6 mit 8,3  $\mu\text{mol/g}$  am niedrigsten und in Population 4 mit 19,5  $\mu\text{mol/g}$  am höchsten. Die Differenzen sind fast alle signifikant aber mit verschiedenem Vorzeichen.

### *Tausend-Korn-Gewicht*

Das Elternmittel schwankt zwischen 4,7g bei den Eltern der Population 5 und 5,1g bei den Eltern der Population 3 und 4. Das mittlere TKG der DH – Linien liegt zwischen 4,7g in Population 5 und 5,0 g in Population 3, 6 und 7. Nur die Differenz bei Population 7 ist signifikant.

### *Schotenlänge*

Die Eltern der Population 4 haben mit 7,1 cm die längste mittlere Schotenlänge. Die kürzeste mittlere Schotenlänge tritt bei den Eltern der Population 6 mit einem Wert von 5,2 cm auf. Das Mittel der DH – Linien liegt zwischen 5,6 cm in Population 6 und 6,3 cm in Population 4. In Population 4, in der die Eltern den größten Wert haben, ist die Differenz signifikant.

**Tab. 6:** Mittelwerte der Eltern und DH – Linien für die Merkmale Ölgehalt, Proteingehalt, Glucosinolatgehalt, Tausend-Korn-Gewicht (TKG), Schotenlänge und Kornzahl je Schote in den Populationen 1 bis 7

Merkmal	Population	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	Eltern- mittel	DH- mittel	Anzahl Umwelten	Anzahl DH-Linien
Ölgehalt (%)	1	46,7	48,6	47,6	44,7 *	2	90
	2	45,3	41,3	43,3	44,2 *	5	64
	3	45,0	45,9	45,5	45,5	1	100
	4	46,7	44,8	45,8	45,2	2	42
	5	46,7	43,5	45,1	45,5	2	41
	6	45,0	49,3	47,2	48,0	1	60
	7	45,0	47,5	46,3	45,3 *	1	14
Proteingehalt (%)	1	15,3	15,9	15,6	17,2	2	90
	2	18,7	19,4	19,1	19,3	5	64
	3	16,7	14,8	15,8	16,7	1	100
	4	15,3	16,7	16,0	16,8	2	42
	5	15,3	17,0	16,2	16,8	2	41
	6	16,7	15,4	16,1	16,0	1	60
	7	16,7	14,4	15,6	17,0	1	14
Glucosinolatgehalt (µmol/g)	1	10,7	8,5	9,6	11,5 *	2	90
	2	11,0	30,0	20,5	13,8 *	5	64
	3	10,8	16,3	13,6	16,2 *	1	100
	4	10,7	14,7	12,7	19,5 *	2	42
	5	10,7	28,6	19,6	12,0 *	2	41
	6	10,8	7,4	9,1	8,3	1	60
	7	10,8	10,4	10,6	13,7 *	1	14
TKG (g)	1	4,9	4,8	4,8	4,9	2	90
	2	4,9	4,7	4,8	4,8	5	64
	3	4,7	5,5	5,1	5,0	1	100
	4	4,9	5,3	5,1	4,9	2	42
	5	4,9	4,4	4,7	4,7	2	41
	6	4,7	4,9	4,8	5,0	1	60
	7	4,7	4,8	4,7	5,0 *	1	14
Schotenlänge (cm)	1	6,8	6,0	6,3	6,0	2	90
	2	5,7	6,1	5,9	5,8	4	64
	3	5,0	7,2	6,1	5,6	1	100
	4	6,6	7,7	7,1	6,3 *	2	42
	5	6,6	6,2	6,4	6,3	2	41
	6	5,0	5,3	5,2	5,6	1	60
	7	5,0	6,2	5,6	5,8	1	14
Kornzahl / Schote	1	20,4	23,7	22,1	20,5	2	90
	2	21,4	23,7	22,6	20,7 *	4	64
	3	18,6	27,6	23,1	19,1 *	1	100
	4	20,4	28,7	24,5	20,6 *	2	42
	5	20,4	24,8	22,6	21,7	2	41
	6	18,6	19,3	18,9	21,2	1	60
	7	18,6	19,2	18,9	20,6	1	14

\* = Differenz zwischen Elternmittel und DH – Mittel signifikant bei P < 0,05 (t-Test)

### *Kornzahl je Schote*

Mit 18,9 Körnern je Schote haben die Eltern der Population 6 und 7 den niedrigsten und die Eltern der Population 4 mit 24,5 Körnern je Schote den höchsten Mittelwert. Die Kornzahlen der DH – Linien sind im Mittel in Population 3 mit 19,1 Körnern je Schote am niedrigsten und in Population 5 mit 21,7 Körnern je Schote am höchsten. In den Populationen 2, 3 und 4 treten signifikante Differenzen zwischen dem Elternmittel und dem Mittel der DH – Linien auf. Dies sind die Populationen mit den höchsten Elternmittelwerten, und das Mittel der DH-Linien ist in allen Fällen niedriger.

### **2.3.3 Varianzanalyse und Heritabilität**

In Tabelle 7 sind die varianzanalytischen Ergebnisse und die Heritabilität für die Merkmale Ölgehalt, Proteingehalt, Glucosinolatgehalt, Tausend-Korn-Gewicht, Schotenlänge und Kornzahl je Schote zusammengefasst. Die Korrelationen zwischen diesen Merkmalen sind im Anhang in Tabelle 23 dargestellt.

Die Ergebnisse der Varianzanalyse zeigen, daß der Einfluss der Einzelfaktoren (Umwelt, Linie) bei allen Merkmalen und in fast allen Populationen hoch signifikant ist. Auch die Interaktion (U x L) ist bei allen Merkmalen in fast allen Populationen hoch signifikant.

Die Heritabilität ( $h^2$ ) beschreibt den Anteil der genotypischen Varianz an der gesamten phänotypischen Varianz. Bei den DH-Populationen schwankt die Heritabilität für den Ölgehalt zwischen 65% und 89%. Für das Merkmal Proteingehalt sind die Werte insgesamt niedriger, sie liegen zwischen 52% und 84%. Die höchsten Werte für die Heritabilität treten bei dem Merkmal Glucosinolatgehalt auf. Sie schwanken zwischen 81% und 93%. Die Merkmale Tausend-Korn-Gewicht und Schotenlänge zeigen sehr ähnliche Werte für  $h^2$ . Für das Tausend-Korn-Gewicht liegen sie zwischen 69% und 90% und für die Schotenlänge zwischen 60% und 90%. Die niedrigsten Werte für die Heritabilität sind für das Merkmal Kornzahl je Schote berechnet worden, hier liegen die Werte zwischen 35% und 75%.

**Tab. 7:** Varianzanalyse und Heritabilität ( $h^2$ ) der Merkmale Ölgehalt, Proteingehalt, Glucosinolatgehalt, Tausend-Korn-Gewicht (TKG), Schotenlänge und Kornzahl je Schote in den Populationen 1 bis 7, geprüft an 5 Umwelten

Merkmal	Population	Anzahl Linien	Varianzkomponenten <sup>a</sup>					Fehler	$h^2$ (%)
			U	L	U x L				
Ölgehalt (%)	1	90	9,29 **	0,91 **	1,01 **	0,88	70,6		
	2	64	8,40 **	0,94 **	0,81 **	0,54	77,7		
	3	100	10,31 **	0,93 **	1,47 **	1,00	65,3		
	4	42	7,33 **	1,09 **	0,32 **	0,60	85,6		
	5	41	6,28 **	1,99 **	0,33 *	0,90	89,0		
	6	60	9,21 **	0,88 **	0,83 **	0,79	73,0		
	7	14	9,30 **	0,92 **	1,09 **	0,69	72,1		
Protein- gehalt (%)	1	90	10,76 **	0,35 **	0,77 **	0,83	52,0		
	2	64	8,25 **	0,40 **	0,61 **	0,44	65,5		
	3	100	9,69 **	0,45 **	0,85 **	0,83	57,4		
	4	42	6,47 **	0,61 **	0,16 *	0,50	82,3		
	5	41	4,50 **	1,12 **	0,39 **	0,66	84,3		
	6	60	6,97 **	0,37 **	0,41 **	0,52	66,5		
	7	14	6,91 **	0,40 **	0,42 *	0,52	68,0		
Glucosinolat- gehalt (µmol/g)	1	90	24,58 **	11,50 **	7,77 **	5,20	81,6		
	2	64	17,57 **	9,70 **	2,56 **	5,95	85,1		
	3	100	33,91 **	29,50 **	24,54 **	6,41	82,7		
	4	42	22,82 **	41,63 **	13,70 **	8,48	90,4		
	5	41	13,42 **	23,59 **	8,84 **	6,09	88,8		
	6	60	31,03 **	5,94 **	2,00 **	2,97	85,7		
	7	14	50,74 **	21,22 **	4,65 **	3,34	93,0		
TKG (g)	1	90	0,48 **	0,06 **	0,06 **	0,07	69,5		
	2	64	0,38 **	0,08 **	0,05 **	0,05	79,9		
	3	100	0,33 **	0,12 **	0,08 **	0,07	80,5		
	4	42	0,20 **	0,23 **	0,06 **	0,06	90,6		
	5	41	0,07 **	0,07 **	0,02 +	0,05	83,8		
	6	60	0,46 **	0,06 **	0,04 **	0,06	75,8		
	7	14	0,48 **	0,05 **	0,07 **	0,04	71,0		
Schotenlänge (cm)	1	90	0,10 **	0,14 **	0,10 **	0,13	75,3		
	2	64	0,11 **	0,06 **	0,08 **	0,12	60,8		
	3	100	0,19 **	0,26 **	0,07 **	0,12	87,2		
	4	42	0,16 **	0,45 **	0,13 **	0,15	86,7		
	5	41	0,07 **	0,40 **	0,06 *	0,16	90,1		
	6	60	0,21 **	0,09 **	0,08 **	0,09	67,5		
	7	14	0,15 **	0,28 **	0,08 +	0,11	85,1		
Kornzahl / Schote	1	90	0,55 **	2,72 **	4,08 **	5,13	54,1		
	2	64	5,73 **	1,06 *	3,33 **	4,24	35,9		
	3	100	10,20 **	5,01 **	2,69 **	5,16	71,9		
	4	42	8,52 **	2,42 **	2,28 *	4,85	57,6		
	5	41	0,26 *	4,43 **	1,93 *	5,26	75,5		
	6	60	1,40 **	3,19 **	3,09 **	4,77	61,9		
	7	14	0,84 +	3,00 *	4,00 *	4,77	57,8		

+ = signifikant bei  $P \leq 0,1$  \* = signifikant bei  $P \leq 0,05$ , \*\* = signifikant bei  $P \leq 0,01$ ;

F-Test der MQs

<sup>a</sup> U = Umwelten, L = DH - Linien

### 2.3.4 Genzahlschätzung

Mit der Näherungsformel von SNAPE et al. (1984) konnten für die Merkmale Ölgehalt, Proteingehalt, Glucosinolatgehalt, Tausend-Korn-Gewicht, Schotenlänge und Kornzahl je Schote die Anzahl effektiver Faktoren (K) abgeschätzt werden. Die Ergebnisse dieser Schätzung sind in Tabelle 8 dargestellt.

#### *Ölgehalt*

Für das wichtigste Qualitätsmerkmal, den Ölgehalt, liegt die Schätzung der effektiven Faktoren zwischen 1,8 in Population 7 und 10,0 in Population 3. Die genetische Varianz der DH – Linien ist in Population 5 mit einem Wert von 1,99 auffallend höher als in den übrigen Populationen, in denen die Varianz einen Wert um 0,9 zeigt.

#### *Proteingehalt*

Für den Proteingehalt ist die geschätzte Zahl effektiver Faktoren mit 3,3 in Population 7 am niedrigsten und in Population 1 mit 12,1 am höchsten. Bei der genetischen Varianz treten Werte zwischen 0,35 in Population 1 und 1,12 in Population 5 auf.

#### *Glucosinolatgehalt*

Bei diesem Merkmal liegen die Schätzwerte für die Genzahl zwischen 2,4 für Population 7 und 13,3 für Population 3. Die genetische Varianz schwankt stark von 5,94 in Population 6 bis 41,63 in Population 4. Im Vergleich mit den anderen Merkmalen ist auffallend, daß die Maximalwerte für den Glucosinolatgehalt in den einzelnen Populationen stark schwanken zwischen 20,5  $\mu\text{mol/g}$  in Population 6 und 49,9  $\mu\text{mol/g}$  in Population 3. Die mittleren Glucosinolatgehalte liegen mit Werten von 12,7  $\mu\text{mol/g}$  in Population 6 bis 22,4  $\mu\text{mol/g}$  in Population 4 noch unter dem Grenzwert von 25  $\mu\text{mol/g}$  für glucosinolatarmen Raps, sind aber doch deutlich erhöht.

**Tab. 8:** Genzahlschätzung für die Merkmale Ölgehalt, Proteingehalt, Glucosinolatgehalt, Tausend-Korn-Gewicht (TKG), Schotenlänge und Kornzahl je Schote in den Populationen 1 bis 7

Merkmal	Population	Mittelwert	Min.	Max.	Eff.Faktoren	
					Var.komp. D	K
Ölgehalt (%)	1	42,30	39,6	45,0	0,91	8,0
	2	44,15	40,5	46,1	0,94	8,3
	3	41,47	38,2	44,3	0,93	10,0
	4	42,57	39,4	44,2	1,09	5,3
	5	44,46	41,4	47,2	1,99	4,2
	6	44,16	40,7	45,7	0,88	7,1
	7	42,10	40,7	43,3	0,92	1,8
Proteingehalt (%)	1	19,66	17,6	21,7	0,35	12,1
	2	19,26	17,6	21,8	0,40	11,1
	3	20,69	18,8	22,8	0,45	8,8
	4	19,06	17,6	22,2	0,61	8,7
	5	17,64	15,9	21,3	1,12	6,5
	6	19,23	17,4	21,6	0,37	12,0
	7	19,56	18,2	20,5	0,40	3,3
Glucosinolatgehalt (µmol/g)	1	14,86	8,9	22,4	11,50	4,0
	2	13,78	8,8	26,1	9,70	7,7
	3	20,51	10,3	49,9	29,50	13,3
	4	22,41	9,9	40,5	41,63	5,6
	5	13,69	5,2	34,5	23,59	9,1
	6	12,64	8,6	20,5	5,94	6,0
	7	17,50	10,4	24,7	21,22	2,4
TKG (g)	1	5,02	4,4	6,0	0,06	10,6
	2	4,81	4,3	5,9	0,08	8,2
	3	5,02	4,1	5,9	0,12	6,7
	4	4,95	3,9	6,0	0,23	4,8
	5	4,68	4,1	5,1	0,07	3,5
	6	5,03	4,4	5,7	0,06	7,0
	7	4,99	4,5	5,4	0,05	3,7
Schotenlänge (cm)	1	5,90	4,8	6,8	0,14	7,1
	2	5,74	5,1	6,6	0,06	8,9
	3	5,79	4,7	7,1	0,26	5,6
	4	6,25	5,1	8,0	0,45	4,7
	5	6,12	4,3	7,0	0,40	4,6
	6	5,73	4,8	6,8	0,09	10,8
	7	5,84	4,6	6,6	0,28	3,6
Kornzahl / Schote	1	21,06	14,2	28,1	2,72	17,8
	2	20,72	16,7	24,5	1,06	14,4
	3	22,87	16,2	28,1	5,01	7,1
	4	21,38	17,0	25,7	2,42	7,8
	5	21,47	15,4	26,3	4,43	6,7
	6	21,60	14,0	29,3	3,19	18,4
	7	20,85	16,5	24,6	3,00	5,5

### *Tausend-Korn-Gewicht*

Die genetische Variation für das Tausend-Korn-Gewicht ist in Population 7 mit einem Wert von 0,05 am kleinsten und in Population 4 mit 0,23 am größten. Die Schätzwerte für die effektiven Faktoren liegen zwischen 3,5 in Population 5 und 10,6 in Population 1. Die Mittelwerte mit dem niedrigsten Wert von 4,7 g in Population 5 und dem höchsten Wert in Population 6 mit 5,0 g zeigen nur wenig Variation.

### *Schotenlänge*

Bei der Schotenlänge sind die geschätzten Zahlen für die effektiven Faktoren denen des Tausend-Korn-Gewichtes sehr ähnlich. Sie sind in Population 7 mit 3,6 am niedrigsten und in Population 6 mit 10,8 am höchsten. Für die Varianzkomponenten wurden für dieses Merkmal Werte zwischen 0,1 in Population 2 und 0,5 in Population 4 ermittelt.

### *Kornzahl je Schote*

Im Vergleich mit den anderen Merkmalen variieren die Werte für die effektiven Faktoren bei diesem Merkmal am stärksten. Sie schwanken zwischen 5,5 in Population 7 und 18,4 in Population 6. Die genetische Variation schwankt auch stärker zwischen 1,1 in Population 2 und 5,0 in Population 3.

Die Anzahl der effektiven Faktoren (Tabelle 8) und die Heritabilität (Tabelle 7) der einzelnen Populationen wurde für jedes Merkmal über die Populationen gemittelt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 9 dargestellt. Die mittlere Heritabilität liegt zwischen 59% für das Merkmal Kornzahl je Schote und 87% für das Merkmal Glucosinolatgehalt. Die durchschnittliche Anzahl effektiver Faktoren liegt zwischen 6,4 für die Merkmale Ölgehalt und Tausend-Korn-Gewicht und 11,1 für das Merkmal Kornzahl je Schote. Zwischen der mittleren Heritabilität und der durchschnittlichen Anzahl effektiver Faktoren scheint ein Zusammenhang zu bestehen. Je kleiner die Heritabilität ist, desto größer ist die Anzahl der effektiven Faktoren. Dieses wird besonders deutlich bei den Merkmalen Kornzahl je Schote und Proteingehalt. Für das Merkmal Kornzahl je Schote ist die Heritabilität mit 59% am kleinsten und der Wert für die effektiven Faktoren mit 11,1 am größten. Der zweitniedrigste Wert für die

Heritabilität wurde für das Merkmal Proteingehalt mit 68% berechnet. Die Anzahl der effektiven Faktoren ist bei diesem Merkmal mit 8,9 der zweitgrößte Wert.

**Tab. 9:** Durchschnittliche Anzahl effektiver Faktoren und mittlere Heritabilität für die Merkmale Ölgehalt, Proteingehalt, Glucosinolatgehalt, Tausend-Korn-Gewicht, Schotenlänge und Kornzahl je Schote

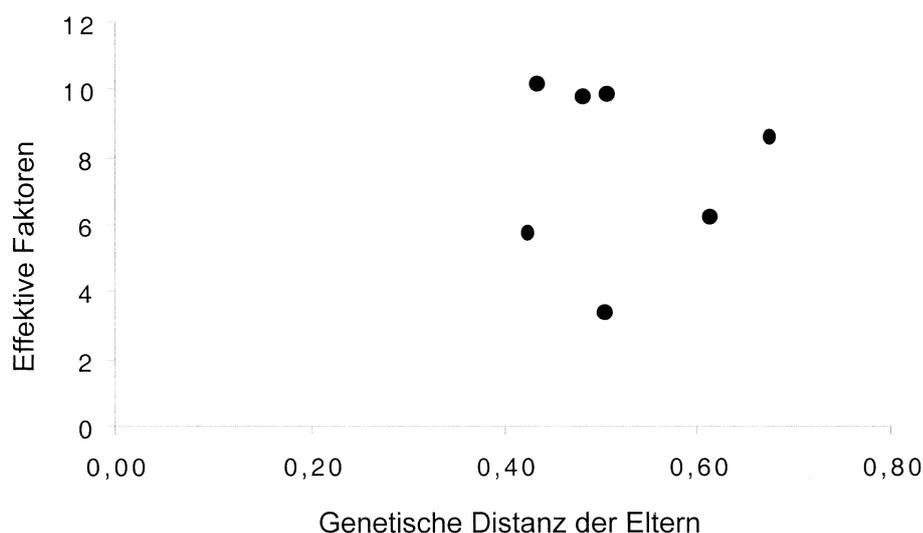
Merkmal	Durchschnittliche Anzahl effektiver Faktoren	Mittelwert für $h^2$ (%)
Ölgehalt	6,4	76
Proteingehalt	8,9	68
Glucosinolatgehalt	6,9	87
TKG	6,4	79
Schotenlänge	6,5	79
Kornzahl / Schote	11,1	59

Die Anzahl effektiver Faktoren wurde auch für jede Population über alle Merkmale gemittelt. Diese Ergebnisse wurden den genetischen Varianzen und den genetischen Distanzen der jeweiligen Eltern der Population 1 bis 7 gegenübergestellt (Tabelle 10). Die durchschnittliche Anzahl effektiver Faktoren liegt zwischen 3 in Population 7 und 10 in Population 6. Die genetische Distanz der Eltern schwankt in dem Bereich zwischen 0,42 (Population 5) und 0,67 (Population 3). Für die genetische Varianz liegen die Werte für den mittleren Rang zwischen 2,2 (Population 4 und 5) und 5,7 (Population 1 und 6).

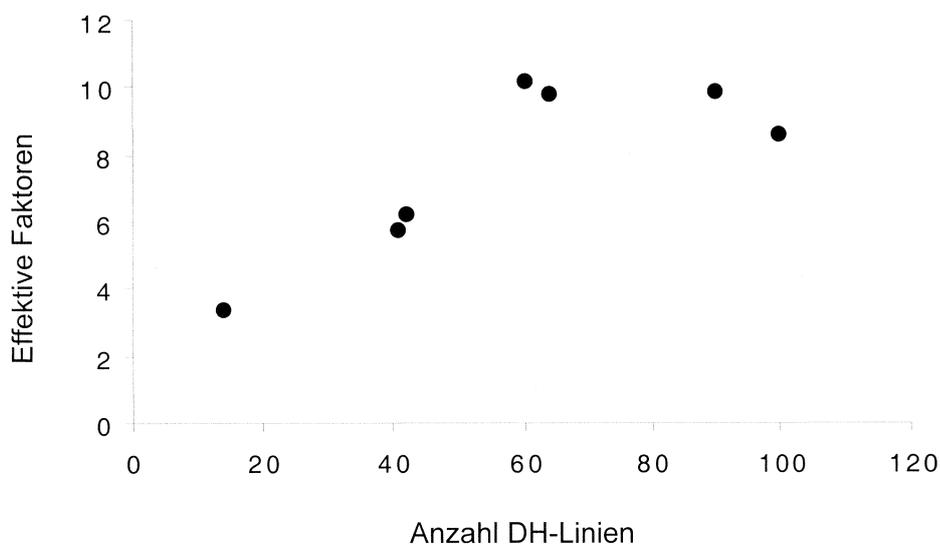
**Tab. 10:** Durchschnittliche Anzahl effektiver Faktoren, genetische Distanz der Eltern (RFLP-Daten) und mittlerer Rang der genetischen Varianz über die Merkmale Ölgehalt, Proteingehalt, Glucosinolatgehalt, Tausend-Korn-Gewicht, Schotenlänge und Kornzahl je Schote der Populationen 1 bis 7

Population	Durchschnittliche Anzahl effektiver Faktoren	Anzahl Linien	Genetische Distanz der Eltern	Genet. Varianz [mittlerer Rang]
1	9,9	90	0,51	5,7
2	9,8	64	0,48	5,2
3	8,6	100	0,67	2,7
4	6,2	42	0,61	2,2
5	5,8	41	0,42	2,2
6	10,2	60	0,43	5,7
7	3,4	14	0,50	4,5

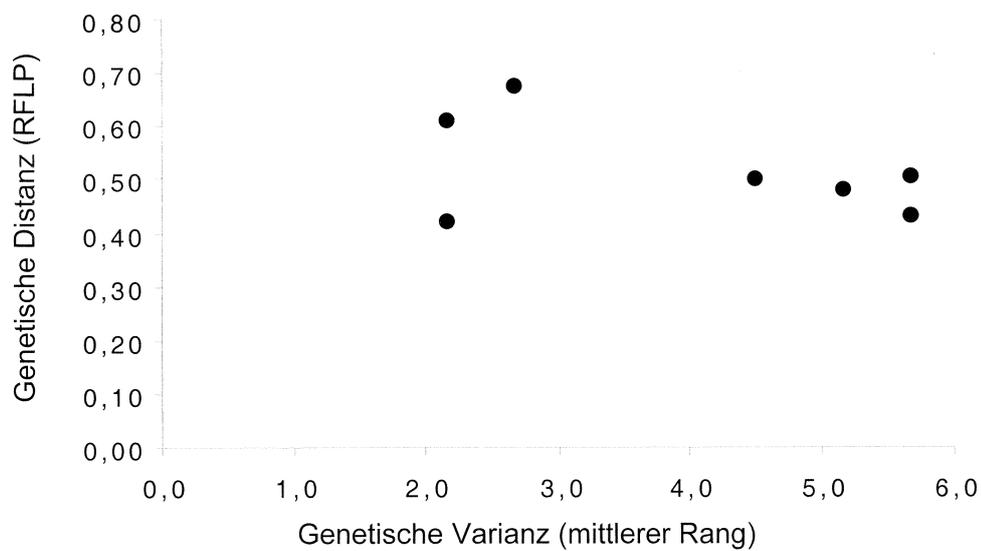
In der Abbildung 3 ist die genetische Distanz der Eltern der Populationen 1 bis 7 mit der durchschnittlichen Anzahl effektiver Faktoren in Beziehung gesetzt worden. Es ist kein Zusammenhang zwischen der genetischen Distanz der Eltern und der Anzahl der effektiven Faktoren zu erkennen. Setzt man jedoch die Anzahl der DH-Linien der einzelnen Populationen in Beziehung zu der Anzahl der effektiven Faktoren, ist eine gewisse Abhängigkeit zu erkennen (Abbildung 4). Je geringer die Anzahl der Linien in der Population ist, desto geringer ist auch die durchschnittliche Anzahl der geschätzten effektiven Faktoren. Für die beiden größten Populationen 1 und 3 mit jeweils 90 bzw. 100 DH-Linien trifft diese Aussage nicht vollständig zu. Die Anzahl der geschätzten effektiven Faktoren ist für diese Populationen mit Werten von 9,9 und 8,6 etwas niedriger als in Population 6. Die Abbildung 5 zeigt die Beziehung zwischen dem mittleren Rang der genetischen Varianz und der genetischen Distanz der sieben Populationen. Es ist kein Zusammenhang zu erkennen. Die Populationen 4 und 5 haben den gleichen Wert (2,2) für den mittleren Rang der genetischen Varianz. Die genetische Distanz der Eltern unterscheidet sich jedoch in ihren Werten, für die Population 4 ist der Wert 0,6 und für die Population 5 ist der errechnete Wert 0,4.



**Abb. 3:** Genetische Distanz der Eltern und durchschnittliche Anzahl effektiver Faktoren der Populationen 1 bis 7



**Abb. 4:** Anzahl der DH-Linien und durchschnittliche Anzahl effektiver Faktoren der Populationen 1 bis 7



**Abb. 5:** Mittlerer Rang der genetischen Varianz und genetische Distanz der Eltern der Populationen 1 bis 7

## 2.4 Diskussion

### 2.4.1 Markeranalyse

Die Untersuchung genetischer Distanzen ist mit verschiedenen Markertypen (AFLP, RAPD, RFLP, SSLP) möglich. In der vorliegenden Arbeit wurden zwei verschiedene Markertypen (RFLP und AFLP) zur Schätzung der genetischen Distanzen zwischen fünf Elterngenotypen eingesetzt. Für die RFLP-Marker standen besonders informative Sonde-Enzym-Kombinationen mit einem hohen Polymorphiegrad zur Verfügung (KNAAK 1996), durch die das Rapsgenom weitgehend abgedeckt wurde. Die Anzahl benötigter Sonden kann dadurch erheblich reduziert werden. Allerdings steigt mit zunehmender Markerzahl die Zuverlässigkeit der Distanzwerte an. KNAAK (1996) zeigte bei einem Vergleich von genetischen Distanzen, die mit unterschiedlichem Markerumfang ermittelt wurden, daß sich bei wiederholter Auswertung von 150 polymorphen Banden die mittlere Distanz um einen Wert von 0,05 verändert. Dieser Wert stimmt gut überein mit den Markerdaten der vorliegenden Arbeit, bei der sich die mittlere Distanz um einen Wert von 0,06 verändert (Tabelle 4). Damit ist bestätigt, daß die Anzahl der Marker (581 RFLP-Marker) ausreichend war, um zuverlässige Daten zu erhalten. Bei einer Anzahl von 300 polymorphen Banden lag der Variationskoeffizient der mittleren genetischen Distanz unter 10% (KNAAK 1996). Andere Untersuchungen zum Einfluß der Anzahl polymorpher Loci auf die Varianz der Distanzwerte von Winterraps zeigten, daß bei einem Einsatz von 20 bis 30 Sonde-Enzym-Kombinationen der Variationskoeffizient der Distanzwerte kleiner als 0,2 ist (HALLDÉN et al. 1994). In einer Diversitätsuntersuchung von 45 *Brassica oleracea* Genotypen erzielten DOS SANTOS et al. (1994) ähnliche Ergebnisse. Mit 55 RFLP-Banden wurde ein Variationskoeffizient von 10% für die Distanzwerte errechnet.

Zur Bestimmung genetischer Distanzen ist die RFLP-Methode in der praktischen Pflanzenzüchtung nicht sehr gut geeignet. Es ist ein aufwendiges und kostenintensives Analyseverfahren, das eine umfangreiche Laborausstattung erfordert. Außerdem sind relativ große DNA-Mengen in guter Qualität erforderlich. Die Verwendung radioaktiver Isotope sowie der hohe zeitliche Aufwand des Verfahrens führte zur Entwicklung anderer Markertypen.

Mit dem Einsatz der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) können die für die Untersuchung eingesetzten DNA-Mengen (ng-Bereich) stark reduziert werden. Die Analysen können bereits in sehr frühen Entwicklungsstadien der Pflanzen durchgeführt werden. Sie sind schnell und mit relativ geringem Aufwand durchführbar. Wegen der hohen Automatisierbarkeit der Analytik sind diese Methoden besser geeignet als die RFLPs. Daher wurden die Analysen im weiteren Verlauf mit der AFLP-Methode (Amplified Fragment Length Polymorphism, VOS et al. 1995) fortgesetzt. Bei dieser Methode können mit wenigen Primerkombinationen eine Vielzahl polymorpher Marker amplifiziert werden. Der Einsatz einer lasergestützten Analyseverfahren und entsprechende Computersoftware zur Auswertung der Amplifikationsprodukte erlaubt eine einfache und schnelle Anwendung dieses Markertyps. In Untersuchungen von LOMBARD et al. (2000) wurden Rapssorten mit wenigen Primerkombinationen identifiziert. Mit nur zwei Primerkombinationen konnten 83 Sorten eindeutig unterschieden werden. Es wurden sogar nah-isogene Linien, die sich nur für das Merkmal Pollensterilität unterschieden, erfolgreich identifiziert. Den großen Informationsgewinn, den die AFLP-Methode ermöglicht, wird durch die hohe Anzahl (bis zu 30) polymorpher Marker je Primerkombination (im Mittel 19,1 Marker je Primerkombination) belegt.

Die Zuverlässigkeit der Distanzwerte steigt mit zunehmender Markerzahl an. In der vorliegenden Arbeit war die Anzahl der polymorphen Marker bei den RFLPs und den AFLPs ausreichend hoch, um zuverlässige Distanzwerte zu ermitteln. Es traten jedoch starke Abweichungen zwischen den Ergebnissen der RFLP-Analyse und denen der AFLP-Analyse auf. Der Korrelationskoeffizient der Distanzwerte aus RFLP- und AFLP-Analyse ist lediglich 0,1. Erwartungsgemäß hätten die Ergebnisse aus beiden Analysemethoden annähernd übereinstimmen sollen.

In einer Studie mit 21 Winterrapsgenotypen fanden FÖRSTER und KNAAK (1995) eine enge Korrelation ( $r=0,87$ ) zwischen den nach dem Koeffizienten von JACCARD (1908) geschätzten genetischen Distanzen einer RAPD-Analyse und RFLP-Daten, die nach DICE (1945) bestimmt wurden. Die Anwendung des Distanz-Koeffizienten nach Jaccard führte zwar zu höheren mittleren genetischen Distanzen (0,47 zu 0,29) aber die daraus resultierenden Dendrogramme stimmten mit Ausnahme weniger Genotypen überein. Eine gute Übereinstimmung zwischen RFLP, RAPD und Abstammungsdaten von drei eng verwandten Sommerrapssorten fanden auch

HALLDÉN et al. (1994). Auch in der Untersuchung von LÜBBERSTEDT et al. (1998), in der verschiedene Markersysteme (AFLP, RFLP, RAPD und SSR) zur Analyse der genetischen Diversität zwischen Maislinien eingesetzt wurden und in der Untersuchung von BOHN et al. (1998), in der AFLP-, RFLP- und SSR-Marker zur Untersuchung der genetischen Distanz zwischen Winterweizensorten verwendet wurden, stimmten die ermittelten Daten der unterschiedlichen Markersysteme gut überein.

In der RFLP-Analyse hat TAG31 die größte genetische Distanz zu allen übrigen Eltern, die mittlere Distanz zu allen anderen Eltern ist 0,58. Bei dem Ergebnis der AFLP-Analyse dagegen, zeigt TAG31 zu LP32 eine große Ähnlichkeit. Der Wert für die genetische Distanz ist nur 0,17. Der Elter Accord dagegen hat in der Untersuchung mit den AFLP-Markern die größte genetische Distanz zu den übrigen Eltern (mittlere genetische Distanz 0,82). In der RFLP-Analyse zeigt Accord dagegen eine Ähnlichkeit zu T7. Die genetische Distanz zwischen diesen beiden Eltern ist mit einem Wert von 0,42 die kleinste Distanz der gesamten RFLP-Analyse. Auch die aus den Distanzwerten resultierenden Dendrogramme stimmen nicht überein. Für diese großen Unterschiede der Ergebnisse, die mit den beiden verschiedenen Markertypen gewonnen wurden, lässt sich keine eindeutige Erklärung finden. Allerdings erscheinen die Daten der RFLP-Analyse aus folgenden Gründen vertrauenswürdiger:

- Die RFLP-Analyse wurde zu Beginn der Untersuchungen durchgeführt. Es waren die ersten Daten, die gewonnen wurden. Die Zahl möglicher Fehlerquellen (Verwechslungen u. ä. ) könnte mit fortschreitender Untersuchung zunehmen und zu Beginn der Versuchsdurchführungen noch relativ klein gewesen sein.
- Der Elter TAG31 geht auf eine Kreuzung mit einer resynthetisierten Rapslinie zurück. Damit kann die große genetische Distanz zu den übrigen Eltern erklärt werden.
- Die sehr große Ähnlichkeit zwischen LP32 und TAG31 in der AFLP-Analyse, sowie die große Distanz von Accord zu allen anderen Eltern ist aufgrund des Pedigrees nicht zu erklären.

Hinweise auf die große genetische Distanz von Resynthesen zu Winterraps sind in mehreren Diversitätsstudien zu finden (DIERS und OSBORN 1994, SONG und

OSBORN 1992). Auch die Untersuchungen von BECKER et al. (1995), in denen eine größere Anzahl resynthetisierter Linien in einer RFLP-Studie mit konventionellem Zuchtmaterial verglichen wurde, dokumentieren die große genetische Distanz zwischen Resynthesen und Zuchtmaterial. Für die Mehrzahl der Resynthesen wurde eine mittlere genetische Distanz von 0,35 zum Zuchtmaterial ermittelt. Dieses Ergebnis wurde in Untersuchungen von GIRKE (2002) bestätigt.

In der vorliegenden Arbeit hat der Elter TAG31, der auf eine Resynthese zurückgeht, eine mittlere genetische Distanz von 0,58 zu den übrigen vier Eltern. Die genetische Verschiedenheit von TAG31 ist damit sehr groß.

Die einzig mögliche Erklärung ist daher, daß bei Vermehrung des Materials, Pflanzenanzucht oder DNA-Extraktion für AFLP ein Fehler aufgetreten ist, und die untersuchten Genotypen teilweise nicht mit den wirklich verwendeten Kreuzungseltern identisch waren.

### 2.4.2 Vergleich der DH-Linien mit den Eltern

Für die Merkmale Ölgehalt, Proteingehalt, Glucosinolatgehalt, Tausend-Korn-Gewicht, Schotenlänge, und Kornzahl je Schote wurden die Mittelwerte der DH-Linien mit dem Elternmittel verglichen. Die Ergebnisse zeigten, daß die Differenzen zwischen den Mittelwerten bei den beiden Merkmalen Ölgehalt und Glucosinolatgehalt für die einzelnen Populationen unterschiedliche Richtungen haben. Für das Merkmal Ölgehalt ist in der Population 1 und 7 der Wert für das Elternmittel höher als der Wert für das DH-Mittel. In der Population 2 ist es umgekehrt. Hier liegt der Mittelwert der DH-Linien über dem Elternmittel. Für das Merkmal Glucosinolatgehalt liegt das Elternmittel in Population 2, 5 und 6 über dem Mittelwert der DH-Linien. In den Populationen 1, 3, 4 und 7 ist es umgekehrt, hier ist das DH-Mittel größer als das Elternmittel. Wenn der Mittelwert der Eltern für ein Merkmal höher ist, als der Mittelwert der DH-Linien dieser Kreuzung, kann es daran liegen, daß epistatische Effekte vorhanden sind. Dabei gehen die günstigen Allel-Kombinationen der Eltern (z.B. hoher Ölgehalt) durch Rekombination bei der Kreuzung verloren. Die mittlere Leistung der DH-Linien liegt dann unter dem Elternmittel. In Abwesenheit von Epistasie entspricht der Mittelwert aller DH-Linien einer Kreuzung dem Elternmittel. In diesem Zusammenhang ist besonders das Merkmal Kornzahl je Schote interessant und auffallend. Bei diesem Merkmal sind für die signifikanten Differenzen der Populationen 2, 3 und 4 die Werte für das Elternmittel alle deutlich höher als die DH-Mittelwerte. Es sind die Kreuzungen mit dem höchsten Elternmittelwerten. Das Ergebnis zeigt signifikante epistatische Effekte. ENGQVIST und BECKER (1991) berichten in ihrer Untersuchung über ähnliche Ergebnisse. In allen vier Kreuzungen zwischen schwedischem und französischem Sommerraps waren die Mittelwerte der Eltern für den Kornertrag größer als die Mittelwerte der F<sub>6</sub> -Generation. Dieses Ergebnis belegt die Anwesenheit einer positiven additiv x additiv Epistasie in den auf hohe Leistung selektierten Elternlinien.

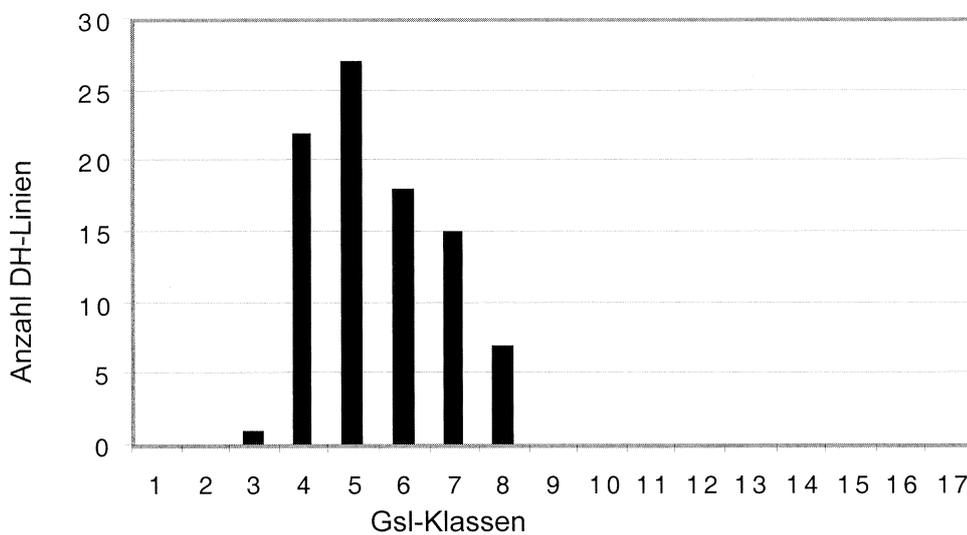
### 2.4.3 Genzahlschätzung

Es gibt verschiedene Methoden mit denen die Anzahl Gene, die an der Variation für ein quantitatives Merkmal beteiligt sind, geschätzt werden können (Übersicht bei KEARSEY und POONI 1996). Das bekannteste Verfahren geht auf WRIGHT zurück und setzt Kenntnisse der Variation von Eltern und einer  $F_2$  – Generation voraus. Dieser Ansatz beruht allerdings auf der Annahme, daß ein Elter alle günstigen Allele und der andere Elter alle ungünstigen Allele trägt. Diese Annahme dürfte in den meisten Kreuzungen nur selten erfüllt sein. Als alternative Methode wurde die Verwendung einer DH-Population vorgeschlagen (CHOO und RHEINBERGS 1982, SNAPE et al. 1984).

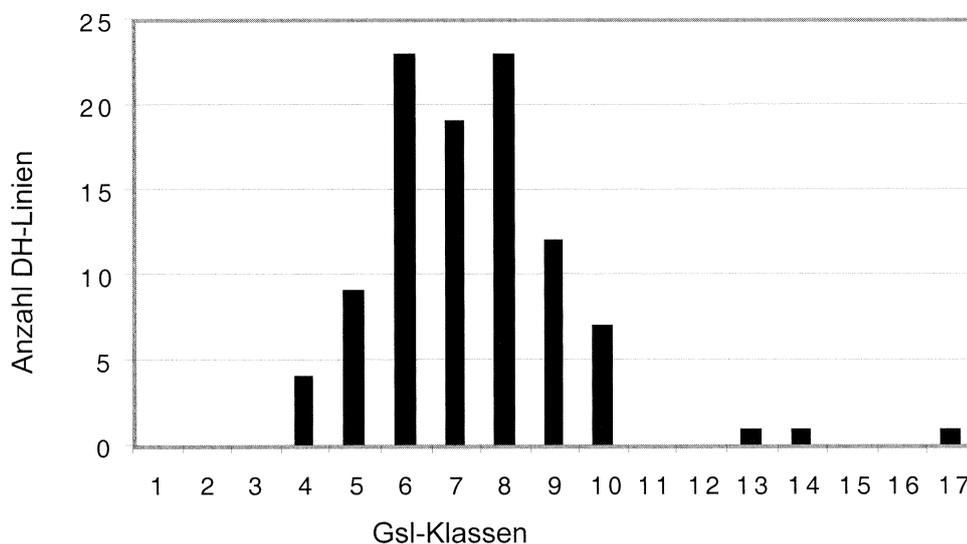
In der vorliegenden Arbeit wurde mit der Näherungsformel von SNAPE et al. (1984) in sieben DH-Populationen die Anzahl effektiver Faktoren für die Merkmale Ölgehalt, Proteingehalt, Glucosinolatgehalt, Tausend-Korn-Gewicht, Schotenlänge und Kornzahl je Schote geschätzt. In einigen Populationen wurden teilweise sehr hohe Genzahlen geschätzt. Auffallend ist besonders Population 3 für das Merkmal Glucosinolatgehalt mit 13,3 effektiven Faktoren (Tabelle 8). Bei dem Merkmal Kornzahl je Schote wurden für die Populationen 1, 2 und 6 mit 17,8, 14,4 und 18,4 auch sehr hohe Werte geschätzt. Die Frage ist, wie realistisch diese Schätzmethode zu beurteilen ist. In die verwendete Formel gehen neben der genetischen Varianz der DH-Linien für ein bestimmtes Merkmal der maximale und der minimale Wert der beiden Extremlinien (höchste bzw. niedrigste Merkmalsausprägung) der Population ein. Der Nachteil dieser Methode ist, daß nur diese Spannweite zwischen den beiden extremen Linien zur Berechnung herangezogen wird. Gegenüber Schätzfehlern solcher Einzelwerte zeigt die Methode von SNAPE et al. eine große Anfälligkeit.

Dieses Problem wird im Folgendem bei einem Vergleich von zwei DH-Populationen (Population 1 und 3) für das Merkmal Glucosinolatgehalt gezeigt. Die Population 3 wurde ausgewählt, weil in dieser Population für den Glucosinolatgehalt die größte Anzahl effektiver Faktoren (13,3) geschätzt wurde. Für die Population 1 ist die Schätzung mit einem Wert von 4,0 vergleichsweise niedrig. Beide Populationen sind mit 90 DH-Linien (Population 1) bzw. 100 DH-Linien (Population 3) annähernd gleich groß. Der Glucosinoaltgehalt wurde in Klassen eingeteilt. Die Breite ist in allen Klassen mit 3  $\mu\text{mol/g}$  gleich groß. Alle Genotypen in Klasse 1 haben demnach einen Glucosinolatgehalt zwischen 0 und 3  $\mu\text{mol/g}$  und in Klasse 17 einen

Glucosinolatgehalt zwischen 48,1 und 51  $\mu\text{mol/g}$ . In der Häufigkeitsverteilung der DH-Linien der Population 1 (Abbildung 6) zeigt sich, daß über die Hälfte aller Linien (53,3%) zu den niedrigen Klassen 4 und 5 gehören (Glucosinolatgehalt 9,1 bis 15  $\mu\text{mol/g}$ ). In der Häufigkeitsverteilung der DH-Linien der Population 3 (Abbildung 7) sind die meisten Linien (65%) den Klasse 6, 7 und 8 (Glucosinolatgehalt 15,1 bis 24  $\mu\text{mol/g}$ ) zugeordnet. Auffallend sind in der Population 3 die Klassen 13, 14 und 17 mit jeweils einer DH-Linien. In diesen drei Klassen sind in der Population 1 keine DH-Linien vorhanden. Es scheint sich um Ausreißer zu handeln, also um Linien, die wahrscheinlich nicht zu dieser Kreuzungspopulation gehören.



**Abb. 6:** Häufigkeitsverteilung der DH-Linien in Population 1 für das Merkmal Glucosinolatgehalt



**Abb. 7:** Häufigkeitsverteilung der DH-Linien in Population 3 für das Merkmal Glucosinolatgehalt

Bei einer erneuten Schätzung der effektiven Faktoren in Population 3 ohne die DH-Linie der Klassen 13, 14 und 17 errechnet sich ein Wert von 5,5. Dieses Ergebnis unterscheidet sich sehr stark von dem zuvor berechneten Wert von 13,3. Mit der Streichung von drei Extremwerten ist die geschätzte Genzahl nur noch halb so groß wie zuvor. Dieses verdeutlicht ganz klar die große Abhängigkeit der Schätzmethode von einzelnen Werten.

Die Anzahl der geschätzten Gene für ein Merkmal ist nicht nur von Einzelwerten abhängig, sondern es scheint auch ein Zusammenhang zwischen der geschätzten Anzahl der effektiven Faktoren und der Anzahl der Linien in einer Population zu bestehen. Die Abbildung 4 zeigt diesen Zusammenhang. Es ist zu erkennen, daß mit sinkender Anzahl der Linien in einer Population auch die geschätzten Genzahlen kleiner werden. So hat die kleinste Population 7 mit 14 DH-Linien die geringste durchschnittliche Anzahl effektiver Faktoren mit einem Wert von 3,4 (Tabelle 10). In sehr kleinen Populationen ist zu erwarten, daß Linien mit extremer Merkmalsausprägung nicht auftreten und damit die Anzahl der effektiven Faktoren unterschätzt wird.

KEARSEY und POONI (1996) sind der Meinung, daß die Methode von SNAPE et al. wenig informativ ist, da der Unterschied zwischen den Extremlinien nur von der Größe der genetischen Varianz abhängt. In der Formel (Kapitel 2.2.10) wird die Differenz zwischen dem höchsten und niedrigsten Wert durch die genetische Varianz geteilt. Wenn die genetische Varianz den Abstand der Extremlinien beeinflusst, die Differenz des Maximal- und Minimalwertes anschließend durch die genetische Varianz geteilt wird, wären immer gleiche Schätzwerte als Ergebnis zu erwarten. Bei vielen Genen ist der Schätzwert eine Funktion der Normalverteilung. Die geschätzte Anzahl effektiver Faktoren liegt dann zwischen vier und neun. Allerdings ist bei einer Normalverteilung nicht zu erwarten, daß die beste Linie mit allen günstigen Allelen und die schlechteste Linie mit allen ungünstigen Allelen tatsächlich auftreten. Bei wenigen Genen ist die Wahrscheinlichkeit viel größer, daß die beste und schlechteste Linie gefunden werden. Das Problem ist, daß es sich dann nicht mehr um eine Normalverteilung handelt.

In der Tabelle 9 wurde die durchschnittliche Anzahl effektiver Faktoren über die einzelnen Merkmale gemittelt und den mittleren Heritabilitäten gegenübergestellt. Für das Merkmal Kornzahl je Schote ist die geschätzte durchschnittliche Anzahl effektiver Faktoren mit einem Wert von 11,1 am größten. Die mittlere Heritabilität für dieses

Merkmal ist mit 59% am niedrigsten. Dem zweitgrößten Wert von 8,9 für die effektiven Faktoren bei dem Merkmal Proteingehalt kann die zweitniedrigste mittlere Heritabilität von 68% zugeordnet werden. Den kleinsten Heritabilitäten sind die größten Werte für die Anzahl der effektiven Faktoren zugeordnet. Dies kann ein Hinweis darauf sein, daß die hohen Werte für die effektiven Faktoren eine Überschätzung der tatsächlichen Genzahlen sind.

Bei einer Heritabilität von 100% sind die phänotypischen Werte gleich den genotypischen Werten. Diese 'echten' Werte werden für eine 'wahre' Schätzung benötigt. Ist der Wert für die Heritabilität klein, dann beruht die Spannweite zwischen den extremen Linien nicht nur auf den genotypischen Werten, sondern auch auf Interaktionen der Genotypen mit der Umwelt und auf Versuchsfehlern. Die Anzahl der effektiven Faktoren wird dann überschätzt. Die Überschätzung ist um so größer je kleiner die Heritabilität ist.

Eine Genzahlschätzung nach der Methode von SNAPE et al. ist dann zuverlässig, wenn die Heritabilität hoch ist und die Anzahl der Linien in einer Population ausreichend groß ist, damit die Extremlinien auch tatsächlich vertreten sind. Die Anzahl Gene hat wiederum Einfluß auf die notwendige Anzahl Linien, denn bei wenigen Genen ist die Anzahl möglicher Genkombinationen kleiner und damit ist die Wahrscheinlichkeit viel größer, daß der beste und schlechteste mögliche Genotyp gefunden wird.

### 3 Vergleich von Generationsmittelwerten

#### 3.1 Einleitung

Die meisten wirtschaftlich wichtigen Sorteneigenschaften bei Raps (z.B. Ertragshöhe, Ölgehalt, Streßresistenz) sind quantitativer Natur, d.h. sie werden von vielen Genen gleichzeitig beeinflusst. Eine genetische Analyse als Voraussetzung für eine gezielte züchterische Bearbeitung solcher quantitativ vererbter Merkmale stößt in konventionellen Kreuzungsexperimenten schnell an ihre Grenzen. Die individuelle Wirkung einzelner Gene mit den Methoden der qualitativen Genetik zu untersuchen ist nicht möglich. Ziel der quantitativen Genetik ist es deshalb, die durchschnittliche Größe von Additiv-, Dominanz- und Epistasieeffekten abzuschätzen. Dies ermöglicht die Berechnung der Erblichkeit und eine Abschätzung des Selektionserfolges. Diese empirischen Methoden haben sich in ihrer praktischen Anwendung häufig bewährt. Die Wirkung der einzelnen Gene ist oft nicht voneinander unabhängig, sondern es können Wechselwirkungen zwischen ihnen auftreten. Aus den bisher vorliegenden Ergebnissen ergibt sich ein sehr uneinheitliches Bild über die Bedeutung von Epistasie. Während SCHÖN et al. (1994) beim Mais keine signifikanten epistatischen Effekte beobachten konnten, traten bei Sojabohne (LARK et al. 1995), Pfeffer (LEFEBVRE und PALLOIX 1996) und Reis (LI et al. 1997) sehr große epistatische Effekte auf.

In dieser Arbeit soll am Beispiel des wichtigsten Merkmals bei Raps, dem Ölgehalt, untersucht werden, ob die Schätzung epistatischer Summeneffekte aus Generationsmittelwerten (siehe z.B. KEARSEY und POONI 1996) geeignet ist, die Bedeutung der Epistasie für die Ausprägung des Merkmals wiederzugeben. Für diese Untersuchung wurden neun Kreuzungen aus DH-Linien (aus den Populationen, die auch im ersten Abschnitt dieser Arbeit verwendet wurden) mit jeweils sechs Generationen ( $P_1$ ,  $P_2$ ,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $BC_{11}$ ,  $BC_{12}$ ) erstellt. Diese wurden in einem zweijährigen Feldversuch an drei Orten getestet.

## 3.2 Material und Methoden

### 3.2.1 Pflanzenmaterial

Das Ausgangsmaterial waren verdoppelt haploide Linien (DH – Linien) aus drei Kreuzungspopulationen. In Tabelle 1 (Kapitel 2.2.1.1) sind die Eltern der DH-Populationen dargestellt. Die DH – Linien wurden von der Saatzucht Hadmersleben GmbH zur Verfügung gestellt. Als Kreuzungseltern wurden Linien verwendet, die sich in den Merkmalen Ölgehalt, Proteingehalt und Blühzeitpunkt stark unterschieden.

Für jeden Generationsmittelwertvergleich wurden sechs Generationen verwendet: P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, BC<sub>11</sub>, BC<sub>12</sub>. Die beiden Eltern P<sub>1</sub> und P<sub>2</sub> lagen als DH - Linien bereits vor. Die F<sub>1</sub> wurde aus der Kreuzung P<sub>1</sub> mit P<sub>2</sub> hergestellt, wobei die Kreuzungsrichtung vernachlässigt wurde. Die F<sub>2</sub> entstand durch Selbstung der F<sub>1</sub>. Die F<sub>1</sub> wurde für die Rückkreuzung BC<sub>11</sub> mit dem Elter P<sub>1</sub> und für BC<sub>12</sub> mit dem Elter P<sub>2</sub> gekreuzt. Es wurden insgesamt neun Kreuzungen mit jeweils sechs Generationen hergestellt. Die Kreuzungen 1 bis 3 gingen aus Linien der Population 1, Kreuzung 4 und 5 aus Linien der Population 2 hervor. Kreuzung 6 bis 9 entstanden aus Linien der Population 3. Die verwendeten DH – Linien aus den Populationen 1 bis 3 sind in der Tabelle 11 angegeben. Die Pflanzenanzucht, die Kreuzungen und Selbstungen fanden im Gewächshaus statt.

**Tab. 11:** Selektierte DH – Linien für neun Kreuzungen

Kreuzung	Population	Kreuzungseltern
1	1	47 x 43
2	1	37 x 22
3	1	51 x 37
4	2	8 x 51
5	2	57 x 32
6	3	89 x 32
7	3	51 x 82
8	3	49 x 60
9	3	54 x 53

### 3.2.2 Feldversuche

Die neun Kreuzungen mit den sechs Generationen wurden in einem zweijährigem Feldversuch (1999/2000 und 2000/2001) an drei Orten (Göttingen, Grund-Schwalheim und Teendorf) getestet. An jedem Ort wurde eine randomisierte Spaltanlage mit neun Großteilstücken (Kreuzungen) und sechs Kleinteilstücken (Generationen) mit zwei Wiederholungen angelegt. Die Auswertung erfolgte aber für jede Kreuzung getrennt als Blockanlage. Die Parzellengröße war in Göttingen 1,9 m<sup>2</sup>, in Grund-Schwalheim 3,75 m<sup>2</sup> und in Teendorf 1,5 m<sup>2</sup>. Die Aussaatstärke an den drei Orten lag zwischen 26 und 60 Samen je m<sup>2</sup>. Die Pflanzen konnten im Feld offen abblühen.

Zur Merkmalerfassung wurden von jeder Generation zehn Pflanzen geerntet, wobei von jeder Pflanze der Haupttrieb mit dem obersten Seitentrieb geerntet wurde.

Ölgehalt, Proteingehalt und Glukosinolatgehalt im Samen wurde an einer Mischprobe der zehn Pflanzen mit Hilfe der Nah Infrarot Reflektions Spektroskopie (NIRS) bestimmt (TILLMANN 1997). Zusätzlich wurde das Tausend-Korn-Gewicht ermittelt. Dafür wurden mit viermaliger Wiederholung 100 Samen gewogen.

### 3.2.3 Statistische Analyse

Zur Ermittlung der Generationsmittelwerte wurden Varianzanalysen (ANOVA) mit Hilfe des Programmes PLABSTAT (UTZ 1994) durchgeführt. Die Jahr-Ort Kombinationen wurden als sechs Umwelten betrachtet. Die PLABSTAT ANOVA wurde mit folgendem Modell gerechnet:

$$Y_{ijk} = \mu + g_i + u_j + w_{kj} + (gu)_{ij} + e_{ijk}$$

Dabei entspricht:

$Y_{ijk}$  = Beobachtungswert für die Generation  $i$  in der Umwelt  $j$  und der Wiederholung  $k$

$\mu$  = Versuchsmittelwert

$g_i$  = Generationseffekt ( $i$  = Anzahl der Generationen)

$u_j$  = Umwelteffekt ( $j$  = 1 bis 6)

$w_{kj}$  = Wiederholungseffekt ( $k$  = 1 bis 2) innerhalb der Umwelt  $j$

$(gu)_{ij}$  = Interaktionseffekt der Generation  $i$  mit der Umwelt  $j$

$e_{ijk}$  = Versuchsfehler

### 3.2.4 Schätzung epistatischer Effekte

Es wurden Additiv- (a) und Dominanzeffekt (d) und deren Interaktionen Additiv x Additiv (aa), Additiv x Dominanz (ad) und Dominanz x Dominanz (dd) nach KEARSEY und POONI (1996) geschätzt. Scaling Tests zur Schätzung signifikanter epistatischer Effekte, basierend auf Generationsmittelwerten und Variation (MATHER und JINKS 1982), wurden nach HILL et al. (1998) berechnet.

Für jede Kreuzung wurden drei Scaling Tests auf Vorhandensein epistatischer Effekte, A, B und C durchgeführt. So setzt sich zum Beispiel die  $F_2$  Generation in Abwesenheit von Epistasie aus  $\frac{1}{4} P_1$ ,  $\frac{1}{4} P_2$  und  $\frac{1}{2} F_1$  zusammen. Der entsprechende Scaling Test wurde daher wie folgt berechnet:  $C = 4 F_2 - P_1 - 2 F_1 - P_2$ . Die Differenzen von Null wurden über den t-Test auf Signifikanz geprüft. Ein Joint Scaling Test nach HILL et al. (1998) zur Schätzung von Additiv-(a) und Dominanzeffekt (d) und deren Interaktionen (aa, ad, dd) wurde für Ölgehalt in Kreuzung 9 durchgeführt. Die Ergebnisse des Joint Scaling Test konnten dann mit den Schätzwerten nach der Berechnung von KEARSEY und POONI (1996) verglichen werden.

### 3.3 Ergebnisse

#### 3.3.1 Schätzung epistatischer Effekte

In diesem Kapitel ist die Schätzung epistatischer Effekte auf den Ölgehalt, das wichtigste Qualitätsmerkmal bei Raps, beschränkt. Die Ergebnisse für Proteingehalt, Glucosinolatgehalt und Tausend-Korn-Gewicht sind im Anhang (Tabelle 22) dargestellt.

Die Generationsmittelwerte und Fehlervarianzen für den Ölgehalt der sechs Generationen  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $BC_{11}$ ,  $BC_{12}$  in den Kreuzungen 1 bis 9 sind in Tabelle 12 wiedergegeben. Die Mittelwerte wurden über sechs Umwelten errechnet. Die mittleren Ölgehalte der Eltern liegen zwischen 39,9% und 44,8%. Der Unterschied zwischen  $P_1$  und  $P_2$  ist in Kreuzung 4 mit fast 3% Ölgehalt am größten. Die mittleren Ölgehalte der  $F_1$  – Generation liegen zwischen 41,5% und 44,0% und sind in allen Kreuzungen, mit Ausnahme von Kreuzung 4 und 9, höher, als die der Eltern. Die  $F_2$  – Generation weist mittlere Ölgehalte zwischen 40,67% und 43,75% auf. In den meisten Kreuzungen sind sie niedriger als in der  $F_1$  – Generation. In den Kreuzungen 3, 8 und 9 sind die mittleren Ölgehalte der  $F_2$  – Generation höher, in Kreuzung 3 um 0,3%, in Kreuzung 8 um 0,47% und in Kreuzung 9 um 0,13%, als die der  $F_1$  – Generation. Bei den Rückkreuzungen  $BC_{11}$  und  $BC_{12}$  schwanken die Werte für den mittleren Ölgehalt zwischen 40,67% und 43,70%.

**Tab. 12:** Generationsmittelwerte und Fehlervarianzen für Ölgehalt (%) von jeweils sechs Generationen in neun Kreuzungen, die Mittelwerte ( $\mu$ ) und Fehlervarianzen ( $S^2\mu$ ) wurden über sechs Umwelten errechnet.

	Kreuzung 1		Kreuzung 2		Kreuzung 3		Kreuzung 4		Kreuzung 5		Kreuzung 6		Kreuzung 7		Kreuzung 8		Kreuzung 9	
	$\mu$	$S^2\mu$																
<b>P<sub>1</sub></b>	43,20	0,31	42,78	0,03	42,75	0,02	44,80	0,28	42,27	0,09	39,88	0,05	42,03	0,06	41,86	0,06	41,60	0,19
<b>P<sub>2</sub></b>	42,91	0,13	42,54	0,07	43,28	0,10	41,75	0,04	43,10	0,04	40,78	0,10	40,26	0,23	41,66	0,06	43,48	0,14
<b>F<sub>1</sub></b>	43,63	0,12	42,87	0,17	42,87	0,05	43,60	0,06	43,99	0,04	41,54	0,07	42,84	0,04	42,50	0,05	43,33	0,02
<b>F<sub>2</sub></b>	42,24	0,23	42,48	0,01	43,17	0,05	43,36	0,05	43,75	0,04	40,67	0,18	42,04	0,23	42,97	0,09	43,46	0,22
<b>BC<sub>11</sub></b>	43,06	0,02	42,44	0,08	43,24	0,21	43,92	0,13	43,68	0,08	40,67	0,12	41,86	0,03	42,24	0,05	42,39	0,16
<b>BC<sub>12</sub></b>	42,64	0,01	42,91	0,20	43,58	0,07	42,81	0,06	43,70	0,04	42,12	0,13	42,57	0,06	41,96	0,10	42,19	0,09

Die Varianzanalyse für den Ölgehalt in den neun Kreuzungen ist in Tabelle 13 dargestellt. In den Kreuzungen 1 bis 3 gibt es keine signifikante Variation zwischen den Generationen. In Kreuzung 5 und 8 gibt es signifikante ( $P \leq 0,05$ ) Unterschiede und in den Kreuzungen 4, 6, 7 und 9 ist die Variation zwischen den Generationen hoch signifikant ( $P \leq 0,01$ ). Die Varianzanalysen für die Merkmale Proteingehalt, Glucosinolatgehalt und Tausend-Korn-Gewicht sind im Anhang (Tabelle 19, 20 und 21) dargestellt.

**Tab. 13:** Varianzanalyse für den Ölgehalt in neun Kreuzungen

Kreuzung	Var.ursache <sup>a</sup>	DF	MS	Var.cp	F	
1	G	5	2,77	0,08	1,52	ns
	W:U	6	2,99	0,26	2,05	+
	U	5	59,66	4,85	41,0	**
	GU	25	1,82	0,18	1,25	ns
	GWU	30	1,45	1,45		
2	G	5	0,52	-0,06	0,42	ns
	W:U	6	1,82	0,16	2,10	+
	U	5	30,61	2,48	35,27	**
	GU	25	1,22	0,18	1,41	ns
	GWU	28	0,87	0,87		
3	G	5	1,07	0,00	1,04	ns
	W:U	6	2,93	0,41	6,43	**
	U	5	32,74	2,69	71,9	**
	GU	25	1,02	0,28	2,24	*
	GWU	29	0,46	0,46		
4	G	5	12,79	0,97	11,27	**
	W:U	6	3,46	0,44	4,11	**
	U	5	28,54	2,31	33,85	**
	GU	25	1,13	0,15	1,35	ns
	GWU	29	0,84	0,84		
5	G	5	4,77	0,29	3,72	*
	W:U	6	0,77	0,02	1,15	ns
	U	5	35,21	2,88	52,68	**
	GU	25	1,28	0,31	1,92	*
	GWU	28	0,67	0,67		
6	G	5	7,32	0,47	4,37	**
	W:U	6	2,24	0,16	1,75	ns
	U	5	40,25	3,25	31,37	**
	GU	25	1,67	0,20	1,31	ns
	GWU	30	1,28	1,28		
7	G	5	9,74	0,70	7,44	**
	W:U	6	2,29	0,21	2,21	+
	U	5	57,27	4,69	55,12	**
	GU	25	1,31	0,13	1,26	ns
	GWU	30	1,04	1,04		
8	G	5	2,77	0,15	0,97	*
	W:U	6	2,34	0,25	2,86	*
	U	5	28,58	2,31	34,85	**
	GU	25	0,93	0,06	1,14	ns
	GWU	30	0,82	0,82		
9	G	5	7,53	0,50	5,09	**
	W:U	6	2,07	0,12	1,51	ns
	U	5	56,55	4,60	41,16	**
	GU	25	1,48	0,05	1,08	ns
	GWU	30	1,37	1,37		

<sup>a</sup> G = Generation, W:U = Wiederholung innerhalb der Umwelt, U = Umwelt,  
 GU = Interaktion G x U, GWU = Interaktion G x W x U (Versuchsfehler)  
 ns = nicht signifikant, + = signifikant bei  $P \leq 0,1$   
 \* = signifikant bei  $P \leq 0,05$ , \*\* = signifikant bei  $P \leq 0,01$

Der Scaling Test bietet die Möglichkeit zu untersuchen, ob Epistasie vorhanden ist. Die Ergebnisse des Scaling Tests für die neun Kreuzungen sind in Tabelle 14 zusammengefasst.

**Tab. 14:** Scaling test A, B und C für Ölgehalt in neun Kreuzungen

	A	B	C
<b>Kreuzung</b>			
1	1,03	<b>2,26 *</b>	<b>2,07 *</b>
2	1,07	0,40	1,13
3	0,91	1,56	0,87
4	0,60	0,46	0,27
5	1,63	0,61	1,75
6	0,10	<b>2,32 *</b>	0,58
7	<b>2,40 *</b>	<b>2,80 *</b>	0,09
8	0,21	0,33	<b>2,51 *</b>
9	0,16	<b>3,32 *</b>	1,05

Test A und B:  $t_{0,05} = 2,04$

Test C:  $t_{0,05} = 1,98$

Die Ergebnisse des Scaling Tests zeigen, daß in den Kreuzungen 2 bis 5 keine signifikanten epistatischen Effekte vorhanden sind. In den Kreuzungen 1 und 7 zeigen zwei Tests (B und C bzw. A und B), und in den Kreuzungen 6, 8 und 9 jeweils ein Test (B, C, B) signifikante epistatische Effekte an.

Es wurden Additiveffekt (a), Dominanzeffekt (d) und deren Interaktionen Additiv x Additiv (aa), Additiv x Dominanz (ad) und Dominanz x Dominanz (dd) geschätzt (KEARSEY und POONI 1996). Die Schätzwerte für den Ölgehalt für neun Kreuzungen sind in der Tabelle 15 angegeben.

**Tab. 15:** Mittelwert für Additiv- (a) und Dominanzeffekt (d) und ihre epistatischen Effekte (aa, ad, dd) für Ölgehalt in neun Kreuzungen

Effekt	Kreuzung								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
a	0,16	0,12	-0,27	1,53	-0,42	-0,45	0,89	0,10	-0,94
d	3,46	1,41	3,65	0,08	2,24	8,85	3,99	-6,34	-11,15
aa	2,44	0,78	0,96	0,02	-0,24	2,90	0,70	-3,48	-4,68
ad	0,53	-1,18	-0,15	-0,83	0,79	-2,00	-3,19	0,36	2,60
dd	-0,45	-0,42	-2,83	0,27	-1,17	-4,74	-1,59	3,60	7,26

Die Schätzwerte für den Additiveffekt liegen zwischen 0,10 und 1,53. Es treten positive und negative Vorzeichen auf. Das Vorzeichen ist von der Reihenfolge der Eltern abhängig. Wenn  $P_1$  den höheren Wert hat, trägt der Schätzwert immer ein positives Vorzeichen. Die Schätzwerte für den Dominanzeffekt sind sehr unterschiedlich in den verschiedenen Kreuzungen und schwanken stark zwischen -11,15 und 8,85. Auch die Schätzwerte für die Interaktionen (aa, ad, dd) sind sehr unterschiedlich in Größe und Vorzeichen.

Der Joint Scaling Test nach HILL et al. (1998) war eine weitere Möglichkeiten zur Schätzung des Additiv- und Dominanzeffektes und deren Interaktionen. Der Joint Scaling Test wurde für die Kreuzung 9 berechnet und die Ergebnisse sind in der Tabelle 16 im Vergleich zur einfachen Generationsmittelwertanalyse wiedergegeben.

**Tab. 16:** Schätzwerte aus Generationsmittelwerten (nach KEARSEY und POONI) und durch Joint Scaling Test (nach HILL et al.) für den Additiv- (a) und Dominanzeffekt (d) und deren Interaktionen (aa, ad, dd) für Ölgehalt in Kreuzung 9

Effekt	Generations- mittelwert	Joint Scaling Test
a	-0,94	3,36
d	-11,15	-10,13
aa	-4,86	-4,79
ad	2,60	-2,66
dd	7,26	8,90

Der Additiveffekt für den Ölgehalt in Kreuzung 9 liegt mit einem Schätzwert von 3,36 bei dem Joint Scaling Test (Tabelle 16) wesentlich höher, als der geschätzte Additiveffekt, ermittelt durch die Generationsmittelwerte nach der Methode von KEARSEY und POONI, mit einem Wert von -0,94. Bei den Werten des Joint Scaling Tests für den Dominanzeffekt mit einem Wert von -10,13 und die Interaktionen mit Werten zwischen -4,79 für aa und 8,90 für dd gibt es kaum Abweichungen zu den Schätzwerten, die mit Hilfe der Generationsmittelwerte berechnet wurden.

### 3.4 Diskussion

Die Summe aller epistatischen Effekte kann aus einem Vergleich von Generationsmittelwerten geschätzt werden. Dazu wurden in neun Kreuzungen sechs Generationen untersucht, bei denen sich  $P_1$  und  $P_2$  in einem wichtigen Merkmal unterscheiden. Wenn für ein Merkmal die Werte für die Generationen  $P_1$ ,  $P_2$  und  $F_1$  bekannt sind und Epistasie nicht vorhanden ist, können die Werte für weitere Generationen vorhergesagt werden. Die Ergebnisse zeigten, daß die Generationsmittelwerte für den Ölgehalt in den meisten Kreuzungen signifikant von den erwarteten Werten abwichen. Daraus läßt sich ableiten, daß Epistasie in diesen Kreuzungen bedeutsam war.

Die neun Kreuzungen gingen auf drei unterschiedliche Populationen zurück (Tabelle 11). In den Kreuzungen 1 bis 3, die alle aus der Population 1 hervorgegangen waren, gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Generationen. Offensichtlich war in Population 1 wenig genetische Variation für den Ölgehalt vorhanden. In Kreuzung 4 und 5 zeigten sich zwischen den Generationen signifikante genetische Differenzen für den Ölgehalt. Beide Kreuzungen waren aus DH – Linien der Population 2 entstanden. Allerdings war nach den Werten des Scaling Tests keine Epistasie vorhanden. Diese Ergebnisse spiegelten sich auch in den Schätzwerten nach KEARSEY und POONI (Tabelle 15) wider, nach denen die epistatischen Effekte in den Kreuzungen 4 und 5 verhältnismäßig klein waren. Die vier Kreuzungen 6, 7, 8 und 9, die alle der Population 3 entstammten, zeigten in allen Kreuzungen signifikante Unterschiede zwischen den Generationen für das Merkmal Ölgehalt (Tabelle 13). Die Werte des Scaling Tests zeigten für diese Kreuzungen das Auftreten epistatischer Effekte an (Tabelle 14). Die Richtung und die Größe der Effekte war jedoch sehr unterschiedlich. Bei Betrachtung der Eltern, aus denen die Population 3 hervorgegangen war, fiel auf, daß einer der Eltern auf eine Kreuzung mit einem resynthesierten Raps zurückging. Möglicherweise ist unter Einbeziehung von Resynthesematerial eine größere Epistasie zu erwarten, als wenn zwei angepaßte Sorten miteinander gekreuzt werden. Bei einem Elter mit Resynthesehintergrund können wahrscheinlich mehr spezielle Kombinationen von Genen auftauchen, die besonders ungünstig sind.

Die ermittelten epistatischen Effekte hängen nur wenig von der verwendeten Schätzmethode ab. Dieses konnte in Kreuzung 9 exemplarisch gezeigt werden. Die

Kreuzung wurde für die Durchführung des Joint Scaling Tests gewählt, weil in dieser Kreuzung die epistatischen Effekte am größten waren. Die Schätzwerte für den Ölgehalt, die durch den Joint Scaling Test ermittelt wurden, stimmten mit den Schätzwerten nach der Methode von KEARSEY und POONI, auf der Grundlage der Generationsmittelwerte, weitestgehend überein (Tabelle 16). Bei der Berechnung des Joint Scaling Tests wurde der Versuchsfehler berücksichtigt. Die Generationsmittelwerte wurden an sechs Umwelten ermittelt und sind damit relativ zuverlässige Werte. Dennoch werden in den Kreuzungen 6 bis 9 erstaunlich große epistatische Effekte (Tabelle 15) beobachtet.

## 4 Zusammenfassung

Die Mehrzahl der wichtigen agronomischen Eigenschaften bei Raps gehören zu den quantitativen Merkmalen. Für solche Merkmale ist in den spaltenden Generationen eine kontinuierliche Variation zu beobachten. Diese quantitative Variation entsteht durch das Zusammenwirken vieler verschiedener Gene, die als „quantitative trait Loci“ (QTL) bezeichnet werden. Die Anzahl Gene, die an der Variation für ein quantitatives Merkmal beteiligt sind, können mit verschiedenen Methoden geschätzt werden. In der Literatur wird unter anderem die Verwendung einer Population aus verdoppelt haploiden (DH) Linien zur Schätzung der Anzahl der beteiligten Gene vorgeschlagen.

Die vorliegende Arbeit gliedert sich in zwei Abschnitte. In dem ersten Teil wurden genetische Faktoren aus sieben DH-Population für die Ausprägung von sechs quantitativen Merkmalen bei Raps geschätzt und die Variation in den DH-Populationen untersucht. Dafür wurden die DH-Populationen gemeinsam mit ihren fünf Eltern in einem zweijährigen Feldversuch an drei Standorten in Deutschland mit je zwei Wiederholungen geprüft. Die erfaßten Merkmale waren Sameninhaltsstoffe (Öl-, Protein-, Glucosinolatgehalt) und Ertragsparameter (Tausend-Korn-Gewicht, Kornzahl je Schote, Schotenlänge). Nach einer Formel von SNAPE et al. (1984) wurde die Anzahl effektiver Faktoren in den sieben Populationen für die erfaßten Merkmale geschätzt. In die Formel gehen zur Berechnung die Werte der beiden Extremlinien (höchste bzw. niedrigste Ausprägung für das jeweilige Merkmal) einer Population und die genetische Varianz ein. Die über die Merkmale gemittelten Schätzwerte schwankten zwischen den Populationen zwischen 3,4 und 10,2. Die einzelnen DH-Populationen umfaßten zwischen 14 und 100 Linien. Je geringer die Anzahl Linien in einer Population war, desto geringer war auch die durchschnittliche Anzahl der geschätzten effektiven Faktoren. Die Wahrscheinlichkeit ist sehr groß, daß in sehr kleinen Populationen die Extremwerte für ein Merkmal nicht auftreten, die Spannweite zwischen den Linien bleibt damit sehr klein und die Anzahl der effektiven Faktoren wird dadurch unterschätzt.

Die Anzahl effektiver Faktoren über die Populationen gemittelt ergab für die einzelnen Merkmale Werte zwischen 6,4 und 11,1. Die beiden Merkmale mit den höchsten Schätzwerten (Kornzahl je Schote und Proteingehalt) zeigten die

niedrigsten Heritabilitäten. Bei kleinen Werten für die Heritabilität beruht die Spannweite zwischen den extremen Linien nicht nur auf den genotypischen Werten, sondern auch auf Interaktionen der Genotypen mit der Umwelt und auf Versuchsfehlern. Die Anzahl der effektiven Faktoren wird dann überschätzt. Je kleiner die Heritabilität ist um so größer ist die Überschätzung.

Weiterhin wurden in dem ersten Abschnitt dieser Arbeit die fünf Elterngenotypen der DH-Populationen mit zwei verschiedenen Markersystemen (AFLP, RFLP) analysiert. Die Eltern waren die beiden zugelassenen Rapssorten Accord und Eurol und drei Zuchtstämme der Saatzucht Hadmersleben GmbH. Auf der Grundlage der Markerdaten wurden die genetischen Distanzen zwischen den fünf Eltern geschätzt. In der AFLP-Analyse wurden 696 polymorphe Marker und in der RFLP-Analyse 581 polymorphe Marker ausgewertet. Die Distanzen lagen nach den Ergebnissen der AFLP-Analyse zwischen 0,17 und 0,85 und nach den Ergebnissen der RFLP-Analyse zwischen 0,42 und 0,67. Die Ergebnisse der beiden Markeranalysen stimmten entgegen der Erwartungen nicht überein. Die Ergebnisse der RFLP-Analyse erschienen vertrauenswürdiger, weil der Elter mit der größten genetischen Distanz zu den übrigen Eltern aufgrund des Pedigrees zu erklären war. Die große Distanz von Accord zu allen anderen Eltern sowie die Ähnlichkeit zwischen zwei Zuchtstämmen in der AFLP-Analyse war aufgrund des Pedigrees nicht zu erklären. Da die RFLP-Analysen früher durchgeführt wurden, wird für die AFLP-Analysen eine teilweise Materialverwechslung vermutet.

Die Wirkung einzelner Gene, die an der quantitativen Variation für ein Merkmal beteiligt sind, ist nicht voneinander unabhängig, sondern es können auch epistatische Wechselwirkungen zwischen ihnen auftreten. Dieses zeigte sich im ersten Abschnitt dieser Arbeit bei einem Vergleich der DH-Linien mit den Eltern besonders deutlich bei dem Merkmal Kornzahl je Schote. Es traten signifikante Differenzen zwischen Elternmittel und DH-Mittel auf, bei denen die Mittelwerte der Eltern deutlich höher als die Mittelwerte der DH-Linien lagen. Dieses Ergebnis zeigte günstige epistatische Effekte in den Eltern, denn in Abwesenheit von Epistasie entspricht der Mittelwert aller DH-Linien einer Kreuzung dem Elternmittel.

In dem zweiten Teil dieser Arbeit wurde untersucht, ob die Schätzung epistatischer Summeneffekte geeignet ist, die Bedeutung der Epistasie für die Ausprägung des Merkmals Ölgehalt wiederzugeben. Dafür wurden aus den DH-Populationen neun Kreuzungen mit jeweils sechs Generationen ( $P_1$ ,  $P_2$ ,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $BC_{11}$ ,  $BC_{12}$ ) erstellt. Diese wurden in einem zweijährigen Feldversuch an drei Orten mit je zwei Wiederholungen geprüft. Die erfaßten Merkmale waren das Tausend-Korn-Gewicht und Sameninhaltsstoffe (Öl-, Protein-, Glucosinolatgehalt). Zur Ermittlung der Generationsmittelwerte wurden Varianzanalysen durchgeführt. Anschließend konnte die Summe aller epistatischen Effekte aus einem Vergleich der Generationsmittelwerte geschätzt werden. Wenn für ein Merkmal die Werte für die Generationen  $P_1$ ,  $P_2$  und  $F_1$  bekannt sind und Epistasie nicht vorhanden ist, können die Werte für weitere Generationen vorhergesagt werden. In der vorliegenden Arbeit wichen die Generationsmittelwerte für den Ölgehalt in den meisten Kreuzungen signifikant von den erwarteten Werten ab. In diesen Kreuzungen war Epistasie bedeutsam. Dieses Ergebnis wurde durch einen statistischen 'Scaling Test' bestätigt, der das Vorhandensein epistatischer Effekte für diese Kreuzungen anzeigte. Diese Kreuzungen gingen alle aus DH-Linien einer gemeinsamen Population hervor. Diese Population hatte einen Elter mit Resynthesehintergrund. Möglicherweise ist unter Einbeziehung von Resynthesematerial eine größere Epistasie zu erwarten als wenn zwei angepaßte Sorten miteinander gekreuzt werden. Bei einem Elter mit Resynthesehintergrund können wahrscheinlich mehr spezielle Kombinationen von Genen auftauchen, die besonders ungünstig sind. Die Schlußfolgerung ist daher, daß zumindest in bestimmten Kreuzungen mit sehr bedeutsamen epistatischen Wechselwirkungen zwischen Genen für Qualitätseigenschaften zu rechnen ist.

## 5 Literaturverzeichnis

- BACKHAUS, K., B. ERICHSON, W. PLINKE, R. WEIBER** (1990). Multivariate Analysemethoden. Springer Verlag, Berlin, 6. Aufl.: 115-160.
- BECKER, H.C., G.M. ENGQVIST and B. KARLSSON** (1995). Comparison of rapeseed cultivars and resynthesized lines based on allozyme and RFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 91: 62-67.
- BECKMANN, J.S. and M. SOLLER** (1986). Restriction fragment length polymorphisms and genetic improvement of agricultural species. *Euphytica* 35: 111-124
- BERNATZKY, R. and S.D. TANKSLEY** (1986). Toward a saturated linkage map in tomato based on isozymes and random cDNA sequences. *Genetics* 112: 887-898.
- BOHN, M., H.F. UTZ und A.E. MELCHINGER** (1998). Untersuchung zur genetischen Distanz zwischen Winterweizensorten mit AFLP, RFLP und SSR Markern und deren Beziehung zur Aufspaltungsvarianz und Brauchbarkeit von Kreuzungen. Bericht über die 49. Arbeitstagung 1998 der Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter, BAL Gumpenstein, 1-7.
- BÖRNER, A.E., A. SCHUMANN, H. FÜRSTE, B. CÖSTER, M. LEITHOLD, S. RÖDER, W.E. WEBER** (2002). Mapping of quantitative trait loci for agronomic important characters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. App. Genet.*, in press.
- BOTSTEIN, D., R.L. WHITE, M. SKOLNIK and R.W. DAVIS** (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32: 314-331.
- CHOO, T.M. and E. REINBERGS** (1982). Estimation of the number of genes in doubled haploid populations of barley (*Hordeum vulgare*). *Can. J. Genet. Cytol.* 24: 337-341.
- CRAMER, N.** (1990). Raps: Anbau und Verwertung. Ulmer, Stuttgart.
- DICE, L.R.** (1945). Measures of the amount of ecological association between species. *Ecology* 26: 297-302.
- DIERS, B.W. and T. OSBORN** (1994). Genetic diversity of oilseed *Brassica napus* germ plasm based on restriction fragment length polymorphisms. *Theor. Appl. Genet.* 88: 662-668.
- DOS SANTOS, J.B., J. NIENHUIS, P. SKROCH, J. TIVANG and M.K. SLOCUM** (1994). Comparison of RAPD and RFLP genetic markers in determining genetic similarity among *Brassica oleracea* L. genotypes. *Theor. Appl. Genet.* 87: 909-915.

- EAST, E.M.** (1915). Studies on the size inheritance in *Nicotinia*. *Genetics* 1: 164-176.
- ENGQVIST G.M. and H.C. BECKER** (1991). Heterosis and epistasis in rapeseed estimated from generation means. *Euphytica* 58: 31-35.
- FEINBERG, A.P. and B. VOGELSTEIN** (1983). A technique for radiolabelling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Anal. Biochem.* 132: 6-13.
- FÖRSTER, J., C. KNAAK and J. WEYEN** (1999). Microsatellites for analysing rapeseed genotypes. 10<sup>th</sup> International Rapeseed congress, Canberra, Australien.
- GELDERMANN, H.** (1975). Investigations on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers. 1. Methods. *Theor. Appl. Genet.* 46: 319-330.
- GIRKE A.** (2002). Neue Genpools aus resynthetisiertem Raps (*Brassica napus* L.) für die Hybridzüchtung. Dissertation Universität Göttingen.
- HALLDÉN, C., N.O. NILSSON, I.M. RADING, T. SALL** (1994). Evaluation of RFLP and RAPD markers in a comparison of *Brassica napus* breeding lines. *Theor. Appl. Genet.* 88: 123-128.
- HILL, J., H.C. BECKER, P.M.A. TIGERSTEDT** (1998). Quantitative and ecological aspects of plant breeding. Chapman and Hall, London.
- JACCARD, P.** (1908). Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.* 44: 223-270.
- JOHANNSEN, W.** (1913). Elemente der exakten Erblchkeitslehre. 2.Auflage, Verlag Gustav Fischer, Jena.
- KAPPERT, H.** (1948). Die vererbungswissenschaftlichen Grundlagen der Pflanzenzüchtung. Verlag Paul Parey, Berlin/Hamburg.
- KEARSEY, M.J. and H.S. POONI** (1996). The Genetical Analysis of Quantitative Traits. Chapman & Hall, London.
- KNAAK, C.** (1996). Schätzung genetischer Distanzen mittels RFLP zur Identifikation von Genpools für die Hybridzüchtung bei Winterraps. Dissertation Universität Göttingen.
- LAGERCRANTZ, U., H. ELLERGREEN and L. ANDERSSON** (1993). The abundance of various polymorphic microsatellite motifs between plants and vertebrates. *Nucl. Acid Res.* 21: 1111-1115.
- LARK, K.G., K. CHASE, F. ADLER, L.M. MANSUR and J.H. ORF** (1995). Interactions between quantitative trait loci in soybean in which trait variation at one locus is conditional upon a specific allele at another. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:4656-4660.

- LEE, M.** (1995). DNA Markers on plant breeding programs. *Adv. Agr.*55: 265-344.
- LEFEBVRE, V. and A. PALLOIX** (1996). Both epistatic and additive effects of QTLs are involved in polygenic resistance to disease: a case study, the interaction pepper-*Phytophthora capsici* Leonian.
- LI, G. and C.F. QUIROS** (2001). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. *Theor. Appl. Genet.* 103: 455-461.
- LI, Z., S.R.M. PINSON, W.D. PARK, A.H. PATERSON and J.W. STANSEL** (1997). Epistasis for three grain yield components in rice (*Oryza sativa* L.). *Genetics* 145: 453-465.
- LICKFETT, T.** (2000). Stickstoff-Problematik in Rapsfruchtfolgen. In: MÖLLERS, C. (Hrsg.) Stickstoffeffizienz Landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. Erich Schmidt Verlag Berlin.
- LIU, Z., Q. SUN, Z. NI, T. YANG** (1999). Development of SCAR markers linked to Pm21 gene conferring resistance to powdery mildew in common wheat. *Plant Breeding* 118: 215-220.
- LOMBARD, V., C.P. BARIL, P. DUBREUIL, F. BLOUET and D. ZHANG** (2000). Genetic Relationships and Fingerprinting of Rapeseed Cultivars by AFLP: Consequences for Varietal Registration. *Crop. Sci.* 40: 1417-1425.
- LÜBBERSTEDT, TH., M. VUYLSTEKE, C. DUSSLE, M. KUIPER und A.E. MELCHINGER** (1998). Untersuchungen zur genetischen Diversität zwischen europäischen Maisinzuchtlinien mit AFLPs, RFLPs, RAPDs und SSRs – ein Vergleich verschiedener Markersysteme. Bericht über die 49. Arbeitstagung 1998 der Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter, BAL Gumpenstein, 45-49.
- MATHER, K. and J.L. JINKS** (1982). *Biometrical Genetics*, 3rd edn. Chapman and Hall, London.
- NEI, M. and W. LI** (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 5256-5273.
- NILSSON-EHLE, H.** (1909). Kreuzungsuntersuchungen an Hafer und Weizen. *Lunds Univ. Arscrift N. F. Avd.* 2, Band 5.
- PARAN, I. and R.W. MICHELMORE** (1993). Development of reliable PCR-based markers linked to downey mildew resistance genes in lettuce. *Theor. Appl. Genet.* 85: 985-993.
- ROGERS, S. O. and A.J. BENDICH** (1988). Extraction of DNA from plant tissues. *Plant Mol. Biol. Manual* A6: 1-10.
- ROHLF, F.J.** (2000). NTSYS-pc Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.1. Setauket, New York: Exeter Publishing Co, Ltd.

- RUDOLPH, B.** (2001). Entwicklung, Charakterisierung und genetische Kartierung von Mikrosatelliten-Markern beim Raps (*Brassica napus* L.). Dissertation, Universität Göttingen.
- SCHÖN, C.C., A.E. MELCHINGER, J. BOPPENMAIER, E. BRUNKLAUS-JUNG, R.G. HERRMANN and J.F. SEITZER** (1994). RFLP Mapping in Maize: Quantitative trait loci affecting testcross performed elite European flint lines. *Crop Science* 34: 378-389.
- SNAPE J.W., A.J. WRIGHT and E. SIMPSON** (1984). Methods for estimation gene numbers for quantitative characters using doubled haploid lines. *Theor. Appl. Genetics* 67: 143-148.
- SONG, K.M. and T.C. OSBORN** (1992). Polyphyletic origins of *Brassica napus* L.: new evidence based on organelle and nuclear RFLP analyses. *Genome* 35: 992-1001.
- SOUTHERN, E.M.** (1975). Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.* 98: 503-517.
- TILLMANN, P.** (1997). Recent experiences with NIRS Analysis of Rapeseed. *CGIRC Bulletin* 13: 84-87.
- UFOP** (2002). [www.ufop.de](http://www.ufop.de) .
- UTZ, H.F.** (1992). Plabstat, Computerprogramm zur statistischen Analyse von pflanzenzüchterischen Experimenten, Version 2F. Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik der Universität Hohenheim.
- UZUNOVA, M.** (1994). Erstellung einer RFLP-Karte von Raps (*Brassica napus* L.) und Kartierung erster züchterisch wichtiger Gene. Dissertation Universität Göttingen.
- VOS, P., R. HOGERS, M. BLEEKER, M. REIJANS, T. VAN DE LEE, M. HORNES, A. FRIJTERS, J. POT, J. PELEMAN, M. KUIPER, M. ZABEAU** (1995). AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23: 4407-4414.
- WEBER, W.E. and G.WRICKE** (1994). Genetic Markers in Plant Breeding. *Advances in Plant Breeding* 16, Blackwell, Berlin.
- WEBER, W.E.** (2002). Gene als Träger des Zuchtfortschritts: Markierung durch Marker, Maskierung durch Umwelt. *Votr. Pflanzenzüchtg.* 54: 23-28.
- WILLIAMS, J.G.K., A.R. KUBILEK, J.L. KENNETH, J.A. RAFALSKI, S.V. TINGEY** (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* 18: 6531-6535.

**ZABEAU, M. and P. VOS** (1993). Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting. European Patent Application: No.92402629.7, publication No.: EP 0534858-A1.

## 6 Anhang

**Tab. 17:** Verwendete Chemikalien

<b>Substanz</b>	<b>Hersteller</b>
Agarose	PeqLab, Erlangen
Albumin Fraktion V (BSA)	Biomol, Hamburg
Chloroform	Fluka, Neu-Ulm
[ $\alpha$ - <sup>32</sup> P]dCTP	ICN Biomedicals Inc., Costa Mesa, USA
Dextranblau	Roth, Karlsruhe
dNTP-Set	PeqLab, Erlangen
EDTA	Roth, Karlsruhe
Ethanol	Euro-Alkohol, Nordhausen
Prime-It II random primer labeling kit	Stratagene Europe, Heidelberg
Proteinase K	Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim
RNase A	Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim
Röntgenentwicklerbad: LX24	Kodak Pathé, Paris, Frankreich
Röntgenfilme: Kodak Bio Max MS	Kodak Pathé, Paris, Frankreich
Röntgenfixierbad: AL 4	Kodak Pathé, Paris, Frankreich
SDS	BioRad, Hercules, USA
Tris-HCl	ICN Biochemicals, Eschwege

**Tab. 18:** Generationsmittelwerte und Fehlervarianzen für Protein- (%), Glucosinolatgehalt ( $\mu\text{mol/g}$ ) im Rapssamen und Tausend-Korn-Gewicht (g) von jeweils sechs Generationen in neun Kreuzungen. Die Mittelwerte ( $\mu$ ) und Fehlervarianzen ( $S^2\mu$ ) wurden über sechs Umwelten errechnet

	Kreuzung 1		Kreuzung 2		Kreuzung 3		Kreuzung 4		Kreuzung 5		Kreuzung 6		Kreuzung 7		Kreuzung 8		Kreuzung 9		
	$\mu$	$S^2\mu$																	
<b>Proteingehalt</b>																			
P <sub>1</sub>	20,41	0,18	19,75	0,24	21,02	0,10	19,97	0,13	22,19	0,20	22,49	0,07	20,78	0,06	21,22	0,07	22,92	0,30	
P <sub>2</sub>	19,69	0,18	20,95	0,07	19,48	0,06	22,24	0,05	19,86	0,08	21,82	0,17	22,12	0,21	21,21	0,04	21,52	0,09	
F <sub>1</sub>	19,86	0,19	20,05	0,48	20,33	0,04	20,67	0,08	20,43	0,06	20,94	0,04	20,70	0,04	20,93	0,07	21,32	0,02	
F <sub>2</sub>	20,66	0,09	20,15	0,06	20,13	0,10	20,80	0,04	21,17	0,05	21,57	0,09	21,38	0,25	21,32	0,05	21,04	0,20	
BC <sub>11</sub>	20,31	0,02	20,29	0,09	20,31	0,25	20,65	0,10	20,89	0,03	21,68	0,09	21,45	0,09	20,88	0,08	22,16	0,14	
BC <sub>12</sub>	20,72	0,02	20,37	0,22	19,45	0,01	21,30	0,15	20,06	0,24	20,61	0,06	20,74	0,06	21,11	0,11	22,50	0,13	
<b>Glucosinolatgehalt</b>																			
P <sub>1</sub>	14,57	0,54	21,72	0,10	10,68	1,23	17,41	2,13	21,45	8,37	23,81	1,57	28,81	0,06	30,86	1,43	19,50	0,70	
P <sub>2</sub>	12,45	5,00	22,03	0,08	20,86	1,22	22,65	0,74	14,34	4,96	15,89	4,66	21,14	1,04	33,89	1,86	22,78	1,16	
F <sub>1</sub>	15,33	2,10	22,88	1,16	17,34	3,00	20,20	1,18	16,46	0,30	21,57	0,48	27,59	0,17	32,86	2,38	22,02	0,88	
F <sub>2</sub>	18,92	1,26	21,62	0,30	16,44	3,00	20,05	2,62	18,08	1,14	15,77	1,37	27,06	0,69	26,17	1,26	21,79	0,35	
BC <sub>11</sub>	18,57	7,78	21,72	0,62	11,96	0,54	20,27	1,46	19,38	7,21	18,92	0,75	28,16	0,82	31,56	0,49	23,40	1,51	
BC <sub>12</sub>	17,56	0,85	23,78	3,21	20,40	5,84	20,61	0,24	17,33	3,07	19,30	1,32	25,65	0,27	34,51	1,03	24,72	1,12	
<b>Tausend-Korn-Gewicht</b>																			
P <sub>1</sub>	4,72	0,05	5,02	0,00	4,55	0,01	4,93	0,02	4,56	0,01	5,24	0,01	5,36	0,00	5,74	0,01	5,18	0,01	
P <sub>2</sub>	4,78	0,02	5,04	0,03	4,94	0,02	4,88	0,00	4,66	0,01	5,14	0,00	5,14	0,01	4,96	0,00	4,57	0,00	
F <sub>1</sub>	4,74	0,01	5,33	0,00	4,97	0,01	4,90	0,00	4,67	0,00	5,43	0,01	5,39	0,01	5,44	0,00	4,73	0,00	
F <sub>2</sub>	4,65	0,00	5,32	0,01	4,86	0,01	4,83	0,00	4,42	0,01	5,21	0,02	5,25	0,02	5,61	0,00	4,63	0,00	
BC <sub>11</sub>	4,59	0,02	5,24	0,00	4,83	0,02	5,01	0,00	4,45	0,00	5,24	0,00	5,51	0,01	5,58	0,01	4,93	0,01	
BC <sub>12</sub>	4,72	0,01	5,19	0,00	5,12	0,01	4,91	0,01	4,57	0,01	5,45	0,00	5,33	0,00	5,37	0,01	4,66	0,01	

**Tab. 19:** Varianzanalyse für Proteingehalt in neun Kreuzungen.

Kreuzung	Var.ursache <sup>a</sup>	DF	MS	Var.cp	F	
<b>1</b>	G	5	2,10	0,00	1,01	ns
	W:U	6	2,20	0,09	1,33	ns
	U	5	67,61	5,50	40,87	**
	GU	25	2,09	0,22	1,26	ns
	GWU	30	1,65	1,65		
<b>2</b>	G	5	1,94	0,03	1,20	ns
	W:U	6	6,55	0,83	4,13	**
	U	5	37,64	3,00	23,73	**
	GU	25	1,61	0,01	1,02	ns
	GWU	28	1,59	1,59		
<b>3</b>	G	5	4,18	0,26	4,11	**
	W:U	6	1,71	0,12	1,72	ns
	U	5	34,39	2,78	34,70	**
	GU	25	1,02	0,01	1,03	ns
	GWU	29	0,99	0,99		
<b>4</b>	G	5	7,04	0,50	6,91	**
	W:U	6	3,50	0,48	5,63	**
	U	5	30,88	2,52	49,71	**
	GU	25	1,02	0,20	1,64	ns
	GWU	29	0,62	0,62		
<b>5</b>	G	5	8,73	0,61	6,33	**
	W:U	6	1,36	0,03	1,14	ns
	U	5	33,58	2,70	28,22	**
	GU	25	1,38	0,09	1,16	ns
	GWU	28	1,19	1,19		
<b>6</b>	G	5	5,31	0,33	3,79	*
	W:U	6	2,30	0,25	2,77	*
	U	5	43,17	3,53	51,85	**
	GU	25	1,40	0,28	1,68	+
	GWU	30	0,83	0,83		
<b>7</b>	G	5	3,78	0,22	3,45	*
	W:U	6	2,59	0,24	2,26	+
	U	5	65,09	5,33	56,91	**
	GU	25	1,10	-0,02	0,96	ns
	GWU	30	1,14	1,14		
<b>8</b>	G	5	0,36	-0,03	0,47	ns
	W:U	6	1,70	0,15	2,06	+
	U	5	37,30	3,04	45,19	**
	GU	25	0,78	-0,02	0,95	ns
	GWU	30	0,83	0,83		
<b>9</b>	G	5	6,47	0,40	3,76	*
	W:U	6	2,65	0,20	1,82	ns
	U	5	47,55	3,84	32,63	**
	GU	25	1,72	0,13	1,18	ns
	GWU	30	1,46	1,46		

<sup>a</sup> G = Generation, W:U = Wiederholung innerhalb der Umwelt, U = Umwelt, GU = Interaktion G x U, GWU = Interaktion G x W x U (Versuchsfehler)

ns = nicht signifikant, + = signifikant bei  $P \leq 0,1$

\* = signifikant bei  $P \leq 0,05$ , \*\* = signifikant bei  $P \leq 0,01$

**Tab. 20:** Varianzanalyse für Glucosinolatgehalt in neun Kreuzungen.

Kreuzung	Var.ursache <sup>a</sup>	DF	MS	Var.cp	F	
<b>1</b>	G	5	77,53	4,10	2,73	*
	W:U	6	186,64	27,55	8,76	**
	U	5	610,19	49,07	28,62	**
	GU	25	28,38	3,53	1,33	ns
	GWU	30	21,32	21,32		
<b>2</b>	G	5	9,00	0,09	1,13	ns
	W:U	6	8,45	-0,96	0,60	ns
	U	5	335,79	26,80	23,65	**
	GU	25	7,98	-3,11	0,56	ns
	GWU	27	14,20	14,20		
<b>3</b>	G	5	0,11	0,00	0,76	ns
	W:U	6	0,54	0,08	8,41	**
	U	5	5,17	0,43	80,22	**
	GU	25	0,14	0,04	2,20	*
	GWU	29	0,06	0,06		
<b>4</b>	G	5	33,64	-1,24	0,69	ns
	W:U	6	20,30	0,95	1,39	ns
	U	5	372,29	29,81	25,50	**
	GU	25	48,53	16,97	3,32	**
	GWU	29	14,60	14,60		
<b>5</b>	G	5	71,71	4,22	3,40	*
	W:U	6	187,30	26,36	6,43	**
	U	5	977,47	79,03	33,55	**
	GU	25	21,09	-4,03	0,72	ns
	GWU	28	29,14	29,14		
<b>6</b>	G	5	119,32	7,38	3,88	**
	W:U	6	23,42	0,76	1,24	ns
	U	5	808,44	65,80	42,92	**
	GU	25	30,72	5,94	1,63	ns
	GWU	30	18,84	18,84		
<b>7</b>	G	5	93,50	6,17	4,81	**
	W:U	6	8,00	0,23	1,21	ns
	U	5	1134,00	93,95	171,48	**
	GU	25	19,46	6,42	2,94	**
	GWU	30	6,61	6,61		
<b>8</b>	G	5	108,84	7,77	7,00	**
	W:U	6	2,26	-2,75	0,12	ns
	U	5	936,39	76,47	49,95	**
	GU	25	15,55	-1,60	0,83	ns
	GWU	30	18,75	18,75		
<b>9</b>	G	5	37,05	2,18	3,39	*
	W:U	6	25,53	2,94	3,23	*
	U	5	320,31	26,04	40,59	**
	GU	25	10,94	1,52	1,39	ns
	GWU	30	7,89	7,89		

<sup>a</sup> G = Generation, W:U = Wiederholung innerhalb der Umwelt, U = Umwelt, GU = Interaktion G x U, GWU = Interaktion G x W x U (Versuchsfehler)

ns = nicht signifikant, + = signifikant bei  $P \leq 0,1$

\* = signifikant bei  $P \leq 0,05$ , \*\* = signifikant bei  $P \leq 0,01$

**Tab. 21:** Varianzanalyse für Tausend-Korn-Gewicht in neun Kreuzungen.

Kreuzung	Var.ursache <sup>a</sup>	DF	MS	Var.cp	F	
<b>1</b>	G	5	0,06	0,00	0,75	ns
	W:U	6	0,85	0,12	7,34	**
	U	5	6,29	0,51	54,60	**
	GU	25	0,07	-0,02	0,64	ns
	GWU	29	0,12	0,12		
<b>2</b>	G	5	0,21	0,01	1,64	ns
	W:U	6	0,12	0,01	1,48	ns
	U	5	4,73	0,39	56,58	**
	GU	25	0,13	0,02	1,55	ns
	GWU	28	0,08	0,08		
<b>3</b>	G	5	0,44	0,03	5,07	**
	W:U	6	0,64	0,10	13,71	**
	U	5	5,25	0,43	112,85	**
	GU	25	0,09	0,02	1,85	+
	GWU	29	0,05	0,05		
<b>4</b>	G	5	0,04	-0,01	0,36	ns
	W:U	6	0,08	0,00	0,91	ns
	U	5	3,00	0,24	35,05	**
	GU	25	0,12	0,02	1,38	ns
	GWU	29	0,09	0,09		
<b>5</b>	G	5	0,13	0,00	1,21	ns
	W:U	6	0,19	0,02	3,69	**
	U	5	3,61	0,30	70,63	**
	GU	25	0,10	0,03	2,05	*
	GWU	28	0,05	0,05		
<b>6</b>	G	5	0,18	0,01	1,63	ns
	W:U	6	0,03	-0,02	0,22	ns
	U	5	6,24	0,51	50,82	**
	GU	25	0,11	0,00	0,92	ns
	GWU	30	0,12	0,12		
<b>7</b>	G	5	0,18	0,00	1,40	ns
	W:U	6	0,27	0,03	4,19	**
	U	5	3,97	0,33	61,69	**
	GU	25	0,13	0,03	2,04	*
	GWU	30	0,06	0,06		
<b>8</b>	G	5	0,90	0,07	13,50	**
	W:U	6	0,13	0,01	1,58	ns
	U	5	4,46	0,36	55,18	**
	GU	25	0,07	-0,01	0,83	ns
	GWU	30	0,08	0,08		
<b>9</b>	G	5	0,63	0,04	6,72	**
	W:U	6	0,25	0,03	4,78	**
	U	5	3,85	0,32	75,03	**
	GU	25	0,09	0,02	1,83	+
	GWU	28	0,05	0,05		

<sup>a</sup> G = Generation, W:U = Wiederholung innerhalb der Umwelt, U = Umwelt,

GU = Interaktion G x U, GWU = Interaktion G x W x U (Versuchsfehler)

ns = nicht signifikant, + = signifikant bei  $P \leq 0,1$

\* = signifikant bei  $P \leq 0,05$ , \*\* = signifikant bei  $P \leq 0,01$

**Tab. 22:** Mittelwert für Additiv- (a) und Dominanzeffekt (d) und ihre epistatischen Effekte (aa, ad, dd) für Proteingehalt, Glucosinolatgehalt und Tausend-Korn-Gewicht in neun Kreuzungen.

Effekt	Kreuzung								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Proteingehalt</b>									
a	0,36	-0,60	0,77	-1,14	1,17	0,34	-0,67	0,01	0,70
d	0,89	1,66	-3,56	1,32	-7,17	-6,23	-2,95	-3,20	11,66
aa	-0,58	0,72	-1,00	0,70	-2,78	-1,70	-1,14	-1,30	5,16
ad	-1,54	1,04	0,18	0,97	-0,67	1,47	2,76	-0,47	-2,08
dd	-1,66	-1,24	2,64	-1,05	3,79	3,31	1,06	1,61	-7,40
<b>Glucosinolatgehalt</b>									
a	1,06	-0,16	-5,09	-2,62	3,56	3,96	3,84	-1,52	-1,64
d	10,64	11,54	-2,01	4,59	5,48	22,04	3,87	57,08	28,96
aa	-3,42	4,52	-1,04	1,14	1,10	13,36	-0,62	27,46	9,08
ad	-0,10	-3,81	-6,70	4,98	-3,01	-8,68	-2,65	-2,87	0,64
dd	-11,16	-6,01	2,54	-2,86	-5,81	-6,96	-1,87	-29,13	-19,00
<b>Tausend-Korn-Gewicht</b>									
a	-0,03	-0,01	-0,20	0,03	-0,05	0,05	0,11	0,39	0,31
d	-0,33	-0,40	1,62	1,27	0,26	1,46	1,90	-0,67	1,15
aa	0,02	-0,42	0,46	0,52	0,36	0,54	0,68	-0,54	0,66
ad	-0,20	0,12	-0,19	0,15	-0,14	-0,52	0,14	-0,36	-0,07
dd	0,34	0,28	-0,93	-0,75	0,16	-0,68	-1,08	0,22	-0,63

**Tab.23:** Korrelationen für die Merkmale Ölgehalt (Öl), Proteingehalt (Prot), Glucosinolatgehalt (Gsl), Tausend-Korn-Gewicht (TKG), Schotenlänge (SL) und Kornzahl je Schote (K/S) in den Populationen 1 bis 7

		Öl	Prot	Gsl	TKG	SL
Population 1	Prot	-0,711 **				
	Gsl	0,557 **	0,227 *			
	TKG	-0,061	-0,052	0,142		
	SL	0,267 *	-0,202	-0,210 *	-0,009	
	K/S	-0,225 *	-0,225 *	-0,283 **	-0,220 *	0,609 **
Population 2	Prot	-0,754 **				
	Gsl	-0,416 **	0,539 **			
	TKG	-0,251 *	0,117	0,181		
	SL	0,078	-0,304 *	-0,359 **	0,028	
	K/S	0,112	-0,208	-0,240	-0,323 **	0,540 **
Population 3	Prot	-0,755 **				
	Gsl	0,144	-0,108			
	TKG	0,023	0,056	-0,165		
	SL	0,057	-0,128	0,004	0,251 *	
	K/S	0,200 *	-0,209 *	-0,083	-0,051	0,556 **
Population 4	Prot	-0,711 **				
	Gsl	-0,386 *	0,395 **			
	TKG	-0,454 **	0,344 *	0,033		
	SL	0,019	-0,134	-0,099	-0,103	
	K/S	0,268	-0,405 **	-0,027	-0,406 **	0,586 **
Population 5	Prot	-0,804 **				
	Gsl	-0,496 **	0,408 **			
	TKG	-0,177	0,385 *	0,205		
	SL	0,348 *	-0,337 *	-0,366 *	-0,076	
	K/S	0,530 **	-0,688 **	-0,478 **	-0,332 *	0,589 **
Population 6	Prot	-0,690 **				
	Gsl	-0,475 **	0,343 **			
	TKG	-0,078	0,117	-0,271 *		
	SL	0,114	0,043	0,043	0,090	
	K/S	0,066	-0,046	0,148	-0,200	0,652 **
Population 7	Prot	-0,730 **				
	Gsl	-0,686 **	0,584 *			
	TKG	-0,209	0,196	0,462		
	SL	-0,290	0,196	0,153	-0,079	
	K/S	0,333	-0,505	-0,551 *	-0,468	0,439

**Tab.24:** Darstellung der Zuchtprogramme

<b>Jahr</b>	<b>Zuchtprogramme</b>	
1996/1997	Saatgutproduktion der DH-Linien für Feldversuche	
1997/1998	411 DH-Linien Feldversuch, drei Orte	
1998/1999	411 DH-Linien Feldversuch, drei Orte	Kreuzungen im Gewächshaus
1999/2000		9 Kreuzungen mit jeweils 6 Generationen Feldversuch, drei Orte
2000/2001		9 Kreuzungen mit jeweils 6 Generationen Feldversuch, drei Orte

## Danksagung

Herrn Prof. Dr. Heiko Becker danke ich für die Überlassung des Themas, die wissenschaftliche Betreuung, die ständige Diskussionsbereitschaft und das mir entgegengebrachte Vertrauen bei der Anfertigung der Arbeit.

Für die Übernahme des Korreferates bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. B. Märländer.

Herrn Dr. W. Ecke danke ich für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Herzlichst bedanken möchte ich mich bei den ehemaligen und jetzigen Mitgliedern unseres Gemeinschaftsbüros, Anja, Andreas, Bea, Barbara, Alex, Joe und Hom, für die anregende Atmosphäre und die Unterstützung in vielerlei Hinsicht. Sie haben die Arbeit am Schreibtisch erleichtert und enorm aufgelockert.

Bettina O. bin ich sehr dankbar für die Unterstützung im Labor und bei der Lösung aller größeren und kleineren Probleme.

Mein Dank gilt auch Bettina F. und Janine W. für die technische Hilfe.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, die direkt zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben und eine angenehme Arbeitsatmosphäre geschaffen haben, danke ich ganz herzlich. Besonders hervorzuheben sind hier Bloishenka, Silvia und Frau Funke, die unermüdlich Rapspflanzen kreuzten aber auch Jens, Antje, Kemal, Bettina K., Sonja, Nicole, Karla, Mahmoud, Rubens, Gerald M., Andreas H., Herr Heise,....

Andreas G. danke ich sehr für die Hilfestellung bei der Verrechnung der Daten und die moralische Unterstützung bei der Laborarbeit.

Uwe Ammermann und Johannes Hippe haben erstklassig dazu beigetragen, daß jedes computertechnische Problem gelöst werden konnte, dafür bin ich beiden sehr dankbar.

Für die Unterstützung von Seiten der Saatzucht Hadmersleben GmbH danke ich vor allem Jürgen Koch.

Meiner Familie danke ich für die tatkräftige Unterstützung. Steffi's Hilfe kam beim Messen der Pflanzenwuchshöhe zum Einsatz, Oma Klara half mit 94 Jahren im Gewächshaus und Mutti entfernte die Selbstungstüten von den Pflanzen in der Vegetationshalle bis spät in die Nacht. Ganz besonders danke ich meinen Eltern, die mich jederzeit unterstützt und damit diese Arbeit ermöglicht haben.

Fitti danke ich von ganzem Herzen für seine Hilfe, die moralische Unterstützung und daß er es in dieser Zeit mit mir ausgehalten hat.



## Lebenslauf

**Name:** Brigitte Claudia Heberle

**Geburtsdatum:** 04. August 1969

**Geburtsort:** Groß-Gerau

### Schulische Ausbildung:

1976 – 1980 Grundschule Borken

1980 – 1989 Sebastian-Münster-Gymnasium Ingelheim

Abschluß: Abitur

### Studium:

1990 – 1992 Studium der Pädagogik an der Pädagogischen Hochschule  
der Georg-August-Universität Göttingen

August 1992 Diplomvorprüfung in Pädagogik

1992 – 1998 Studium der Agrarwissenschaften  
an der Georg-August-Universität Göttingen  
Fachrichtung Pflanzenproduktion  
Abschluß: Diplom-Agraringenieurin (Dipl. Ing. agr.)

Juni 1997 – Sept. 1998 Durchführung experimenteller Arbeiten für die Diplomarbeit  
in Agrarwissenschaften bei der PLANTA Angewandte  
Pflanzengenetik und Biotechnologie GmbH

1998 – 2001 Promotionsstudium und wissenschaftliche Mitarbeit  
am Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung  
der Georg-August-Universität Göttingen

### Praktika:

1989 – 1990 Landwirtschaftliches Praktikum, Betrieb Wiese in Großburgwedel

1994 – 1995 Landwirtschaftliches Praktikum, Betrieb Hartmann in Kalefeld

September 1995 Praktikantenprüfung der Landwirtschaftskammer Hannover





