

## 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).