

Aus dem Institut für
Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik der
Universität Hohenheim
Lehrstuhl für Populationsgenetik
Prof. Dr. H.H. Geiger

Markergestützte Vererbungsanalyse der Pollenfertilitätsrestauration bei Winterroggen (*Secale cereale* L.)

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Agrarwissenschaften
der Fakultät III – Agrarwissenschaften I –
Pflanzenproduktion und Landschaftsökologie
der Universität Hohenheim

von
Dipl.-Ing. agr.
Markus Wolf
aus Tübingen

2001

Die vorliegende Arbeit wurde am 5. Oktober 2001 von der Fakultät III – Agrarwissenschaften I – der Universität Hohenheim als „Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Agrarwissenschaften“ angenommen.

Tag der mündlichen Prüfung:	12. November 2001
Dekan:	Prof. Dr. K. Hurle (i.V.)
Berichterstatter	1. Prüfer: Prof. Dr. H.H. Geiger
Mitberichterstatter	2. Prüfer: PD Dr. G. Reustle
	3. Prüfer: Prof. Dr. N. von Wirén

I Inhaltsverzeichnis

II Abkürzungsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Material und Methoden	5
2.1	Pflanzenmaterial	5
2.1.1	Kartierungspopulationen.....	5
2.1.2	Feldversuche	5
2.1.3	Merkmalerfassung	6
2.2	Molekulargenetische Untersuchungen	8
2.2.1	Isolierung und enzymatischer Verdau genomischer Roggen-DNA.....	8
2.2.2	Auftrennung genomischer Roggen-DNA	9
2.2.3	RFLP-Sonden.....	9
2.2.4	Southern Blot und Hybridisierung	11
2.3	Statistische Analysen	12
2.3.1	Auswertung der Feldversuche.....	12
2.3.2	Kopplungsanalysen	13
2.3.3	QTL-Analysen	14
2.3.4	Genetische Interaktionen	14
3	Ergebnisse	15
3.1	Feldversuche	15
3.2	Kopplungsanalysen	19
3.2.1	Eigenschaften der eingesetzten RFLP-Marker	19
3.2.2	Genetische Karten der Subpopulationen.....	19
3.2.3	Markerklassenmittelwerte und QTL-Analysen für die Antherenbonitur.....	23
3.2.4	Interaktionen der lokalisierten Restorerloci (Epistatische Effekte).....	27
3.2.5	QTL-Analysen für die Relative Wuchshöhe.....	28
3.2.6	Beziehungen zwischen Antherenbonitur, Relativer Wuchshöhe, Wüchsigkeit und Homozygotiegrad.....	30

4	Diskussion	32
4.1	Vergleich von unabhängigen Stichproben der Kartierungspopulation (Subpopulationen).....	32
4.2	Molekulare Marker und Syntäniebeziehungen zwischen genetischen Karten	32
4.3	Lokalisation eines Majorgens für die Pollenfertilitätsrestauration.....	36
4.4	QTL-Analysen und epistatische Effekte	39
4.5	Syntäniebeziehungen zu anderen Pflanzenarten	40
4.6	Beziehungen zwischen Wuchshöhe und Fertilitätsrestauration	43
4.7	Perspektiven der marker-gestützten Rückkreuzung (MAB) zur Verbesserung der Pollenfertilitätsrestauration	44
5	Zusammenfassung.....	47
6	Literaturverzeichnis.....	49
7	Anhang.....	57

II Abkürzungsverzeichnis

AB	Antherenbonitur
°C	Grad Celsius
CAPS	Cleaved Amplified Polymorphic Sequence
cDNA	Complementary DNA
cM	centiMorgan
cm	Zentimeter
cm ²	Quadratzentimeter
CMS	Cytoplasmatisch-männliche Sterilität
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
dCTP	Desoxycytosin-5' Triphosphat
DIG	Digoxigenin
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynucleosid-Triphosphat
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure (Titriplex III)
EtOH	Ethanol
EWE	Eckartsweier
g	Erdbeschleunigung
g	Gramm
gDNA	genomische DNA
h	Stunde
h ²	Heritabilität
HOH	Hohenheim
J	Jahr
kb	Kilobasen
LOD	Dekadischer Logarithmus aus dem Quotienten der Likelihood
M	Mol/Liter
MAB	Markergestützte Rückkreuzung
mf	männlich fertil
mg	Milligramm
min.	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimol/Liter
ms	männlich steril
mt	mitochondrial

N	Anzahl Genotypen
N-Cytoplasma	Normal-Cytoplasma
ng	Nanogramm
NH ₄ Ac	Ammoniumacetat
OLI	Oberer Lindenhof
P	Irrtumswahrscheinlichkeit
P-Cytoplasma	Pampa-Cytoplasma
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
pmf	partiell männlich fertil
QTL	Genloci für quantitativ vererbte Genloci
r	Korrelationskoeffizient
R	Roggen-Chromosom
R ²	Anteil phänotypisch erklärter Varianz
Rf	Restorer fertility
RFLP	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus
R-Linie	Restorer-Linie
RNA	Ribonukleinsäure
RNase	Ribonuclease
rpm	Revolutions per Minute (Umdrehungen pro Minute, U/min)
s	Standardabweichung
SCAR	Sequence Characterised Amplified Region
SDS	Natriumdodecylsulfat
SSC	Standard Saline Citrate (0,15 M NaCl; 0,015 M tri-Na-citrate; pH 7,0)
STS	Sequence Tagged Site
TAE	Tris-Acetat-Essigsäure
Taq-Polymerase	Thermostabile DNA-Polymerase aus <i>Thermus aquaticus</i>
T-Cytoplasma	Texas-Cytoplasma, Mais
TE-Puffer	Tris-EDTA-Puffer (10 mM Tris-HCl ; 1 mM EDTA)
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
μ	10 ⁻⁶
μg	Mikrogramm
U	Einheit (U)
V	Volt
V/V	Volumen/Volumen
V-Cytoplasma	Vavilov-Cytoplasma
vol.	Volumen

1 Einleitung

Die Hybridzüchtung ermöglicht bei Roggen und anderen Nutzpflanzen insbesondere durch die systematische Nutzung von Heterosiseffekten eine Steigerung und Stabilisierung der Ertragsleistung. Schnell (1961) definierte die Heterosis als die Mehrleistung einer Einfachkreuzung aufgrund von Heterozygotie gegenüber der mittleren Leistung ihrer beiden homozygoten Elterlinien. Die Höhe der realisierten Heterosis hängt dabei maßgeblich vom Befruchtungssystem der betreffenden Pflanzenart und dem Merkmal ab. So zeigen Fremdbefruchter wie Mais, Roggen und Zuckerrübe eine mehrfach höhere Heterosis als die Selbstbefruchter Weizen, Gerste und Reis (Geiger, 1990, Melchinger and Gumber, 1997). Für ein Merkmal gilt allgemein, je mehr Gene an der Ausprägung beteiligt sind, also je komplexer die Vererbung ist, desto größer die Heterosis ist (Becker, 1993). Eine weitere Steigerung der Heterosis läßt sich durch die Verwendung von zwei genetisch divergenten Formenkreise erzielen, aus denen die Saat- und Pollenelterlinien entwickelt werden. Bei dem Hohenheimer Roggenmaterial stammt der Saaterter deshalb aus dem Formenkreis „Petkus“ und der Pollenelter aus dem Formenkreis „Carsten“ (Geiger und Morgenstern, 1979). Bei der Panmixiezüchtung erfolgt nur eine unvollständige Ausnutzung der Heterosis im Vergleich zur Hybridzüchtung. Das größere Leistungspotential der Hybriden bezeichneten Geiger und Schnell (1973) daher als „zusätzlich nutzbare Heterosis“. Den Zuchtfortschritt beim Roggen durch die Hybridzüchtung verdeutlicht ein Vergleich der jeweils besten Hybridsorten mit der besten Populationssorte für die Jahre 1982 bis 1997 in den Wertprüfungen des Bundessortenamtes (Miedaner und Geiger, 1997). Dabei wiesen die Hybriden neben einem um 10 % bis 15 % höheren Kornertrag auch einen höheren jährlichen Zuchtfortschritt für dieses Merkmal auf.

Schon Anfang des Jahrhunderts erkannten Fruwirth (1913) bzw. von Rümker und Leidner (1914), daß die Ertragsleistung des Roggens durch eine Erhöhung des Heterozygotiegrads verbessert werden kann. Dies wurde in zahlreichen weiteren Untersuchungen bestätigt (Literaturübersicht s. Wahle, 1977). Die zügige Entwicklung von homozygoten Inzuchtlinien für den Aufbau von Hybriden wurde jedoch erst durch die Aufhebung des Selbstinkompatibilitätsmechanismus mit Hilfe von Selbstfertilitätsgenen, die in verschiedenen Wild- und Kulturformen gefunden wurden, ermöglicht (Wricke, 1979).

Um Hybriden auch im Feldanbau nutzen zu können, wurde beim fremdbefruchtenden Roggen wegen seiner zwittrigen Blüte nach einem wirkungsvollen System zur Befruchtungslenkung gesucht. Die Entfernung der männlichen Blütenorgane von Hand, wie sie etwa beim Mais durch die Entfernung der Fahne möglich ist, stellt beim Roggen kein praktikables Verfahren dar. Auch andere Möglichkeiten wie die genisch vererbte männliche Sterilität (GMS), Selbstinkompatibilität oder Gametozide wurden für den Einsatz als Hybridmechanismus im Roggen

diskutiert. Diese Verfahren wurden aber entweder nicht bis zur Praxisreife entwickelt oder sind im Roggen nicht einsetzbar. Die cytoplasmatisch-männliche Sterilität (CMS) stellt dagegen einen geeigneten Hybridmechanismus beim Roggen dar (Geiger und Wilde, 1985, Geiger, 1990). Durch den Einsatz von CMS-Pflanzen als weiblichem Elter kann bei einer Kreuzung mit anderen Pflanzen eine unerwünschte Selbstbefruchtung ausgeschlossen und so eine bestimmte Gameten-Kombination erzeugt werden. Um die CMS-Pflanzen ackerbaulich nutzen zu können, muß die männliche Fertilität des sterilen Saatelters wieder hergestellt werden. Die Restauration der Pollenfertilität erfolgt durch die Kreuzung mit einem Pollenelter, welcher im Kern lokalisierte, dominante Restorerogene trägt.

Cytoplasmatisch-männliche Sterilität (CMS)

Bereits seit Mitte des 19. Jahrhunderts sind Pflanzen bekannt, die keinen oder lediglich funktionsunfähigen Pollen bilden. Die Vererbung der männlichen Sterilität ließ sich jedoch nicht mit den Mendelschen Regeln erklären. Aufgrund der rein maternalen Vererbung der Sterilität schloß man, daß dieses Phänomen in direktem Zusammenhang mit dem Cytoplasma stehen muß. Bateson und Gairdner beschrieben 1921 für Flachs den ersten Fall cytoplasmatisch-männlicher Sterilität (CMS). Insgesamt wurde die CMS bei über 150 Pflanzenarten beobachtet (Laser und Lersten, 1972, Levings und Vasil, 1995). Sie tritt entweder spontan auf oder entsteht durch intraspezifische oder interspezifische Kreuzungen (Edwardson, 1970). Die ersten Berichte über das Auftreten von CMS beim Roggen stammen von Putt (1954). Mit der Entdeckung des Pampa-Cytoplasmas durch Geiger und Schnell (1970a) stand das erste Cytoplasma im Roggen zur Verfügung, welches die männliche Sterilität sehr stabil ausprägt. Es wird heute weltweit in der kommerziellen Hybridroggenzüchtung eingesetzt (Miedaner und Geiger, 1997). Mittlerweile sind für Roggen über 20 sterilitätsinduzierende Cytoplasmen beschrieben worden, die aufgrund ihrer unterschiedlichen Restaurationsansprüche in die zwei Grundtypen P (Pampa) und V (Vavilov) eingeteilt werden. Die Cytoplasmen des P-Typs bewirken eine schwer und die des V-Typs eine relativ leicht zu restaurierende männliche Sterilität (Geiger, 1982).

Morphologisch manifestiert sich der CMS-bedingte Abbruch der Mikrosporogenese in einer verfrühten Auflösung der Kallose, die die Tetrade umgibt und der Tapetumzellen (Scoles and Evans, 1979b, Holford *et al.*, 1991, Hanson, 1991). Hinweise auf eine Beteiligung der Mitochondrien an der CMS ergaben sich mit Hilfe der Protoplastenfusion (Belliard *et al.*, 1978, Clark *et al.*, 1985). Außerdem war das Auftreten der männlichen Sterilität bei den bisher untersuchten CMS-Systemen stets mit molekularen Veränderungen im mitochondrialen Genom korreliert (Schnable and Wise, 1998). Das mitochondriale Genom höherer Pflanzen reicht von 200 kb bei verschiedenen *Brassica*-Arten bis zu 2500 kb bei einigen *Cucurbitaceae* (Ward *et al.*, 1981, Newton, 1988) und weist damit im Vergleich zu tierischen Zellen (16 kb - 20 kb) eine wesentlich höhere Variabilität und Größe auf. Aufgrund von Umordnungen (rearrangements)

von direkten oder indirekten Sequenzwiederholungen (repeats) bildet die pflanzliche mitochondriale DNA (mtDNA) zirkuläre Haupt- und Submoleküle aus. Beim Weizen wurden z.B. neben dem Hauptmolekül mit einer Größe von ca. 430 kb weitere kleinere Submoleküle gefunden (Kück *et al.*, 1995). Derartige Umordnungen treten in der mtDNA von Pflanzen relativ häufig auf und führen normalerweise zu keiner Funktionsstörung der mtDNA. In seltenen Fällen können sie aber auch zur Bildung von chimären Genen führen. So wurden bei den sterilitäts-induzierenden Cytoplasmen verschiedener Pflanzenarten, wie dem T-Cytoplasma bei Mais, dem RM bei Petunie oder dem 9E bei Mohrenhirse, CMS-spezifische chimäre offene Leserahmen (orf) identifiziert (Dewey *et al.*, 1986, Young and Hanson, 1987, Bailey-Serres *et al.*, 1986a). Beim Pampa (P)-Cytoplasma des Roggens wurden von Dohmen *et al.* (1994) Veränderungen in der Kopienzahl der mitochondrialen Gene *cob* und *atpA*, sowie ein verändertes Transkript des *cob*-Gens im Vergleich zum Normalcytoplasma gefunden. Bei einigen Pflanzenarten konnten Steril- und Normalcytoplasma auch durch CMS-assoziierte Proteine differenziert werden. In wenigen Fällen wie bei Mais und Petunie, konnte nachgewiesen werden, daß die mit der CMS zusammenhängenden „offenen Leserahmen“ CMS-spezifische Proteine kodieren (Literaturübersicht s. Hanson, 1991 und Horn, 1997).

Pollenfertilitätsrestauration

Die Systeme der Fertilitätsrestauration werden entweder als gametophytisch oder als sporophytisch bezeichnet. Beide unterscheiden sich vor allem im Zeitpunkt der Fertilitätsrestauration. Eine Pflanze, die in einem sterilitätsinduzierenden Cytoplasma vorliegt und die ein Restorergerm im heterozygoten Zustand trägt, produziert zwei unterschiedliche Arten von Pollenkörnern. Die eine Art enthält das Restorergerm, die andere nicht. Beim gametophytischen System erfolgt die Restauration nach der Meiose, es sind daher nur die Pollenkörner funktionsfähig, die das Restorergerm tragen. Ein gut untersuchtes gametophytisches System stellt das Mais S-Cytoplasma dar (Kamps *et al.*, 1996). Beim sporophytischen System erfolgt die Restauration vor der Meiose, deshalb wird ausschließlich funktionsfähiger Pollen produziert. Beispiel für dieses System ist das T-Cytoplasma bei Mais (Schnable und Wise, 1994).

Bisherige Vererbungsstudien zur Fertilitätsrestauration bei Roggen führten zu einer unterschiedlichen Anzahl beteiligter Restorergerme (Madej, 1976, Scoles and Evans, 1979b, Melz and Adolf, 1991, Curtis and Lukaszewski, 1993, Wricke *et al.*, 1993, Börner *et al.*, 1998b). Bei Restorerquellen aus europäischen Herkünften konnte die Beteiligung von zwei bis vier Genen für die Fertilitätsrestauration von Pampa-CMS nachgewiesen werden (Glass, 1997, Reinbold, 1995). Bei Restorerquellen aus einer exotischen Herkunft waren dagegen nur ein bis zwei Gene für eine Fertilitätsrestauration ausreichend (Dreyer, 2000).

Beim T-Cytoplasma bei Mais erfolgt die Restauration unter Beteiligung des *Rf2*-Gens, welches mit einem der drei weiteren Restorerogene *Rf1*, *Rf8* oder *Rf** kombiniert sein muß (Wise *et al.*, 1999). Das über „Transposon-Tagging“ identifizierte *Rf2*-Gen stellt das bislang einzige Restorerogen dar, welches molekular isoliert werden konnte (Schnable and Wise, 1994). Es exprimiert eine Aldehyddehydrogenase, die zur Entgiftung der in den Zellen toxisch wirkenden Substanzen Acetaldehyd und Ethanol beitragen könnte (Cui *et al.*, 1996).

Ziele dieser Arbeit

Die zur Zeit bei Roggen verwendeten Restorerquellen für das P-Cytoplasma bewirken unterschiedliche Grade partieller Fertilität, die bei normaler Witterung zur Blüte einen vollen Kornansatz der Hybriden gewährleisten. Feucht-kaltes Wetter während der Blüte kann jedoch zu einer zu langen Abspreizung der Spelzen und dadurch zu einem erhöhten Besatz mit Mutterkorn (*Claviceps purpurea*) führen (Geiger, 1988b). In Kreuzungsexperimenten zur Fertilitätsrestauration von Pampa-CMS fand Geiger (1972) erste Restorerquellen in mitteleuropäischen Roggenlinien. Eine der besten Restorerquellen, die aus diesen Experimenten hervorging, stellt die in dieser Arbeit verwendete Linie L18-R dar (Geiger und Morgenstern, 1975, Geiger *et al.*, 1995). Um Aufschluß über die Anzahl, Lokalisation und Wirkungsweise der Restorerogene der Inzuchtlinie L18-R zu erhalten und um einen Vergleich mit verschiedenen, bereits lokalisierten außereuropäischen Restorerquellen zu ermöglichen, wurden markergestützte Vererbungsanalysen durchgeführt. In einer früheren Kartierungsstudie der F₂-Population L145-P x L18-R mit 131 F₂-Pflanzen wurden auf den Chromosomenarmen 1RS ein Majorgen und auf 3RL, 4RL und 5RL jeweils ein Minorgen für Fertilitätsrestauration lokalisiert (Glass, 1997). Der Kopplungsabstand zwischen Majorgen und dem nächsten flankierenden RFLP (Restriktions-Fragmentlängen-Polymorphismus)- Marker betrug ca. 21 cM. Darauf aufbauend setzte sich die vorliegende Arbeit folgende Ziele:

- a) Kopplungsanalyse einer wesentlich größeren F₂-Population (368 Genotypen) zur Identifizierung enger gekoppelter RFLP-Marker für das Major- und die Minorrestorerogene;
- b) Untersuchung der Genwirkungsweise der markierten Restorerogene;
- c) Ermittlung eventueller Merkmalskorrelationen zwischen Fertilitätsrestauration, Wuchshöhe und Wüchsigkeit;
- d) Überprüfung von Syntäniebeziehungen zu Chromosomensegmenten, die bei anderen Kulturarten die Fertilitätsrestauration steuern.

2 Material und Methoden

2.1 Pflanzenmaterial

2.1.1 Kartierungspopulationen

Zum Aufbau der Kartierungspopulationen diente (wie schon bei Glass, 1997) eine Kreuzung der beiden aus dem Petkuser Formenkreis stammenden homozygoten Elternlinien L145-P und L18-R. Beide Inzuchtlinien liegen im sterilitäts-induzierenden P-Cytoplasma vor. Die vollkommen männlich-sterile Linie L145-P stellt dabei eine schwer restaurierbare Mutterkomponente dar. Die Linie L18-R wurde als Pollenelter und Träger der Restorer gene eingesetzt. Die F₁-Einzelpflanzen wurden einzeln unter Isoliertüten geselbstet. Die drei untersuchten F₂-Nachkommenschaften wurden in den Feldversuchen getrennt geprüft (siehe Abschnitt 2.1.2) und sind im Weiteren mit Subpopulation 1, 2 und 3 bezeichnet (Tab. 2.1). Subpopulationen 1 und 2 mit 109 bzw. 133 F₂-Pflanzen wurden 1997 im Feld geprüft. Subpopulation 3 mit 126 F₂-Pflanzen war bereits 1994 von Glass (1997) untersucht worden. Durch die Einbeziehung der Daten von Subpopulation 3 in die vorliegende Studie betrug der Gesamtumfang der F₂-Population 368 Einzelpflanzen. Zusätzlich diente Subpopulation 3 auch als Referenzpopulation.

Tab. 2.1: Anzahl Genotypen, Prüfjahr und -orte der drei F₂-Subpopulationen der Kreuzung L145-P x L18-R (HOH: Hohenheim; EWE: Eckartsweier; OLI: Oberer Lindenhof)

Subpopulation	Anzahl Genotypen	Prüfjahr	Prüferte
1	109	1997	HOH, EWE
2	133	1997	HOH, EWE
3	126	1994	HOH, EWE, OLI

2.1.2 Feldversuche

Um jeden F₂-Genotyp an mehreren Orten mit Wiederholungen prüfen zu können, wurden alle F₂-Pflanzen nach der Bestockung durch Klonung in mehrere Pflanzen geteilt. Auf diese Weise wurden aus einer F₂-Pflanze im Abstand von vier bis fünf Wochen sechs bis acht Klonteile entwickelt. In den Subpopulationen 1 und 2 wurden vier Klonteile je Genotyp für die

Feldversuche eingesetzt, in Subpopulation 3 sechs Klonteile. Von den restlichen zwei bis vier Klonteilen wurde Blattmaterial für die Laboruntersuchungen geschnitten.

Subpopulation 3 wurde 1994 in Eckartweier (EWE) bei Offenburg, auf dem Oberen Lindenhof (OLI) bei Reutlingen und in Stuttgart-Hohenheim (HOH) geprüft. Aufgrund hoher Korrelationen zwischen den Orten, die sich in Subpopulation 3 für die Pollenfertilität ergeben hatte (Glass, 1997), wurden die Subpopulationen 1 und 2 1997 nur an zwei Standorten, nämlich Hohenheim und Eckartweier, angebaut. Die beiden Subpopulationen wurden getrennt in zwei Sätzen als vollständig randomisierte Blockanlage mit je zwei Klonteilen (Wiederholungen) angelegt. Als Standards für die visuelle Bonitur der Fertilitätsausprägung dienten die voll fertile Populationssorte Danko und die männlich-sterile Einfachkreuzung L305-P x L312-N. Nach 12 Reihen mit je 5 F₂-Pflanzen folgten je eine Reihe Danko und L305-P x L312-N. Um den F₂-Pflanzen genügend Entwicklungsraum zu bieten, wurde ein Pflanzenabstand von 20 x 20 cm² innerhalb und zwischen den Reihen gewählt.

2.1.3 Merkmalerfassung

Die Erfassung der Fertilitätsausprägung jedes Klonteils im Feldversuch erfolgte nach dem Boniturschlüssel von Geiger und Morgenstern (1975, Tab. 2.2). Die Antherenbonitur (AB) wurde während der Blüte an den Hauptähren jeder Einzelpflanze durchgeführt. Die neun Klassen der Antherenbonitur können, je nach dem Grad der Fertilitätsausprägung den sie beschreiben, in folgende drei Gruppen zusammengefaßt werden, ms (männlich-steril): keine Pollenschüttung, pmf (partiell männlich-fertil): nicht alle Antheren werden herausgeschoben und geben Pollen und mf (männlich-fertil): alle Antheren werden herausgeschoben und geben Pollen ab.

Nach Abschluß der Antherenbonitur wurden außerdem noch die Wuchshöhe und die Wüchsigkeit jeder F₂-Pflanze erfaßt. Die Boniturnote für die Wüchsigkeit der Pflanzen beinhaltet die Bestockungsneigung und den Grad der Stauchung (verkürzter Wuchs). In dem Boniturschlüssel zur Erfassung der Wüchsigkeit (Tab. 2.3) sind nur die Klassen mit ungeraden Boniturnoten erklärt. Die Klassen mit geraden Boniturnoten liegen in der Merkmalsausprägung jeweils dazwischen. Bei der Bonitur der Einzelpflanzen wurden jedoch alle Noten von 1 bis 9 vergeben.

Tab. 2.2: Boniturschlüssel zur Erfassung der männlichen Fertilität von Einzelpflanzen nach Geiger und Morgenstern (1975)

Boniturnote	Erläuterungen
Männlich-steril (ms)	
1	Kein Pollen; stark degenerierte, kleine Antheren, von denen nur wenige herausgeschoben werden.
2	Kein Pollen; etwas weniger stark degenerierte Antheren, von denen viele herausgeschoben werden.
3	Kein Pollen; mäßig degenerierte fast normale Antheren, die größtenteils herausgeschoben werden.
Partiell männlich-fertil (pmf)	
4	In einigen der herausgeschobenen Antheren befinden sich Spuren von Pollen.
5	In mehreren Antheren befinden sich geringe Pollenmengen.
6	In den meisten Antheren befinden sich geringe Pollenmengen.
Männlich-fertil (mf)	
7	Nur leicht degenerierte Antheren, die ausreichend stäuben.
8	Die Antheren haben nahezu normale Größe und stäuben gut.
9	Die Antheren haben normale Größe und stäuben sehr gut.

Tab. 2.3: Boniturschlüssel zur Erfassung der Wüchsigkeit

Boniturnote	Erläuterungen
1	Abgestorbene Pflanzen.
3	Stark gestauchte Pflanzen mit zwei bis drei Bestockungstrieben und einem geringen Halmquerschnitt (dünne und schwache Halme).
5	Pflanzen mit fast normaler Bestockungsneigung; die Stauchung ist nur gering und die Halme machen einen stabilen Eindruck.
7	Pflanzen mit bis zu 20 Bestockungstrieben; eine Stauchung der Pflanzen ist nicht mehr feststellbar und die Halme sind kräftig entwickelt.
9	Pflanzen mit überdurchschnittlich starker Bestocksneigung (mehr als 20 Bestockungstriebe) und hohen kräftigen Halmen.

2.2 Molekulargenetische Untersuchungen

2.2.1 Isolierung genomischer Roggen-DNA

Das frisch geschnittene Blattmaterial wurde umgehend eingefroren und in Tiefkühlschränken bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt. Das gefrorene Blattmaterial wurde dann sukzessiv in einer Gefrier-trocknungsanlage für jeweils vier Tage getrocknet und anschließend bis zur weiteren Verwendung in einem $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ – Raum aufbewahrt. Die Zerkleinerung des Blattmaterials erfolgte mit einer Mühle der Firma Tecator (Cyclotec 1093 Sample mill, Siebgröße 1 mm).

Die anschließende DNA-Isolierung erfolgte in Anlehnung an das Protokoll von Hoisington *et al.* (1994). Für die Extraktion der DNA wurde je F_2 -Pflanze 250 mg Blattpulver in ein Extraktionsröhrchen eingewogen. Jeder Blattprobe wurde eine Spatelspitze Na_2SO_5 und 9 ml Extraktionspuffer (CTAB) hinzugefügt und auf einem Schüttler (Vortex) gemischt. Anschließend wurden die Proben unter vorsichtigem Schütteln (100 rpm) für eine Stunde im Wasserbad bei $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ inkubiert. Nach dem Abkühlen wurden jeder Probe 4,5 ml SEVAG (Chloroform/Isoamylalkohol, 24:1 (v/v)) zugegeben, durchmischt und für 20 min auf Eis gestellt. Die Trennung der Phasen erfolgte durch Zentrifugation der Proben (20 min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 2000 g). Der Überstand wurde in ein neues Röhrchen überführt, noch einmal mit SEVAG gemischt, auf Eis gekühlt und zentrifugiert. Zur Entfernung der RNA wurde in ein weiteres Röhrchen 20 μl RNase-A (10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$; Firma Boehringer) vorgelegt und der Überstand hinzupipettiert. Nach einer einstündigen Inkubation bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurden die Proben mit 2,5 ml NH_4Ac (5 M) versetzt und für 30 min auf Eis gekühlt. Die anschließende Zentrifugation erfolgte mit 12000 g bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ für 25 min. Der Überstand wurde in ein Glasröhrchen überführt und mit 1 vol. Isopropanol gemischt. Die gefällte DNA wurde dann mit Einmal-Glas-Pasteur-Pipetten herausgefischt, in 1,5 ml Eppendorf Gefäße abgestreift und mit 70 % EtOH gewaschen. Nach einem weiteren Zentrifugationsschritt (5 min, 2000 g) wurde der Überstand verworfen. Das verbleibende DNA-Pellet wurde eine Stunde bei Raumtemperatur getrocknet und anschließend in 300 μl vollentsalztem und autoklaviertem Wasser gelöst.

Für die Konzentrationsbestimmung wurde von jeder DNA-Probe eine 1:10- Verdünnung hergestellt und zusammen mit den Lambda-Standards (25, 50, 100 und 200 $\text{ng}/\mu\text{l}$) auf Agarosegelen (0,8 %, 0,5 V/cm, 15 h) aufgetragen. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte durch den Vergleich der Bandenintensität von DNA-Probe und den Lambda-Standards. Die DNA-Proben wurden auf eine einheitliche Konzentration von 1,0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ DNA eingestellt.

2.2.2 Enzymatischer Verdau und Auftrennung genomischer Roggen-DNA

Zur Detektion von polymorphen DNA-Fragmenten in den „Southern Analysen“ wurde genomische DNA der Eltern L145-P und L18-R mit den Enzymen *Eco* RI, *Eco* RV, *Bam* HI, *Hind* III, *Dra* I, *Xba* und *Apa* I geschnitten. Zur genetischen Kartierung der RFLP-Sonden wurde die genomische DNA der F₂-Pflanzen mit dem entsprechenden Restriktionsenzym verdaut und gelelektrophoretisch aufgetrennt. Die Restriktionsenzyme und die entsprechenden Puffer wurden von der Firma Pharmacia Biotech bezogen.

Um genügend restringierte DNA für mehrere Southern Blots zur Verfügung zu haben, wurden je nach Bedarf 2-, 4- oder 8-fache Restriktionsansätze angesetzt. Für die Southern Analysen wurden ca. 12,5 µg DNA je Elternpflanze bzw. je F₂-Einzelpflanze eingesetzt. Der Verdau erfolgte über Nacht (ca. 15 h) bei 37 °C in einem Wasserbad mit 7 U Enzym je µg DNA. Anschließend wurde die restringierte DNA mit 2,5 vol. EtOH gefällt, abzentrifugiert und je Restriktionsansatz in 15 µl ddH₂O + 1/6 Blue-Juice-Mix je Vol gelöst. Die Auftrennung der DNA-Fragmente erfolgte in einem 0,8 %-igen Agarosegel mit 0,5 V/cm für 17 h. Als Fragmentgrößenstandard diente mit *Bst* II restringierte Lambda-DNA.

2.2.3 RFLP-Sonden

Die in verschiedenen Kartierungsstudien erstellten genetischen Karten werden durch die Verwendung eines Satzes gleicher RFLP-Sonden vergleichbar. Diese gemeinsamen Marker werden in den genetischen Karten als „Anker-Loci“ bezeichnet und machen die chromosomale Kolinearität (Syntanie) zwischen den Arten deutlich.

In der vorliegenden Arbeit dienten die von Glass (1997) lokalisierten und mit der Fertilitätsrestauration assoziierten RFLP-Marker beim Vergleich mit anderen Kopplungskarten (Devos and Gale, 1997) als Anker-Loci. Aufgrund von Syntaniebeziehungen zwischen Gräsern wurden neue Sonden ausgewählt. Dazu kamen vergleichende Kartierungsstudien zum Einsatz (Ahn *et al.* (1993), Devos *et al.* (1992,1993), Devos and Gale (1993) und Van Deynze *et al.* (1995a, b)), sowie Kopplungskarten von Roggen (Devos *et al.* (1993), Loarce *et al.* (1996), Wanous and Gustafson (1995)); Weizen (Devos *et al.* (1995b), Gill *et al.* (1996a, b), Marino *et al.* (1996), Nelson *et al.* (1995a,b,c)); Gerste (Graner *et al.* (1991), Langridge *et al.* (1995), Kleinhofs *et al.* (1993), Qi *et al.* (1996)); Hafer (O'Donoghue *et al.* (1995), Van Deynze *et al.* (1995a) und Reis (Causse *et al.* (1994)). Die eingesetzten homologen und heterologen RFLP-Sonden von anderen Arbeitsgruppen sind in Tabelle 2.4 aufgelistet.

Tab. 2.4: Sondentyp, Pflanzenart, Sondenbibliothek und Referenz der verwendeten homologen bzw. heterologen RFLP-Sonden

Sondentyp	Pflanzenart	Kürzel der Sondenbibliothek	Referenz bzw. Vertreter
cDNA	Gerste	abc	A. Kleinhofs
		bcd	M. Sorrells
		cmwg	A. Graner
	Hafer	cdo	M. Sorrells
		isu	M. Lee
	Mais	prf 2a	P. Schnable
	Reis	rz	S. McCouch
	Weizen	psr	M.D. Gale
		tam	G. Hart
	gDNA	Gerste	abg
mwg			A. Graner
Reis		rg	S. McCouch
Roggen		iag	G. Wricke
		scg	P. Gustafson
Weizen		fba	P. Leroy
		fbf	P. Leroy
		gbx	J.M. Jacquemin
		ksu	J. Raupp
		psr	M.D. Gale
	wg	M. Sorrells	

Die RFLP-Sonden wurden entweder als getrocknete Plasmid-DNA oder in Form von bakteriellen Stammkulturen bezogen. Die getrockneten Plasmide wurden in sterilem ddH₂O gelöst, anschließend deren Konzentrationen gelelektrophoretisch bestimmt und auf eine Konzentration von 5 ng/μl eingestellt. Die Anlage von Konservierungskulturen erfolgte durch Transformieren der Plasmide in kompetente *Escherichia coli* DH5α-Zellen der Firma GibcoBRL (LifeTechnologies). Von jeder bakteriellen Stammkultur wurden mit einem sterilen Zahnstocher Zellen entnommen und, wie die frisch transformierten Bakterien, auf selektiven LB-Agar-Platten ausgestrichen. Nach 12 - 16 h bei 37 °C im Brutschrank konnte von jeder Platte eine Kolonie in

4 ml selektives LB-Medium überimpft und über Nacht in einem Rotationsschüttler mit 300 U/min bei 37 °C inkubiert werden. Von jeder 4 ml-Kultur wurden je 2 x 700 µl in 2 ml Eppendorf-Reaktionsgefäße überführt, mit je 700 µl Glycerin vermischt und anschließend in einen -70 °C Tiefkühlschrank eingelagert. Die verbleibende Bakteriensuspension diente der Plasmid-DNA Isolierung, die mit Hilfe des „High Pure Plasmid Isolation Kit“ (Boehringer Mannheim) nach den Herstellerangaben erfolgte.

Die Konzentrationsbestimmung der isolierten Plasmid-DNA erfolgte ebenfalls gelelektrophoretisch mit Hilfe eines Lambda-Standards. Anschließend wurde ein Aliquot der Plasmid-DNA auf 5 ng/µl eingestellt und das Insert (RFLP-Sonde) zur Kontrolle der Fragmentgröße mittels PCR amplifiziert. Der PCR-Reaktionsansatz setzte sich aus 0,2 mM jedes dNTPs, je 21 pMol der beiden Primer (M13-RSP und M13-UNI), 1 U Taq-Polymerase, 1/10 des Endvolumens 10x konzentriertem PCR-Standardpuffer und 5 ng Plasmid zusammen. Der Reaktionsansatz wurde mit ddH₂O zu einem Endvolumen von 50 µl aufgefüllt. Die einzelnen PCR-Komponenten wurden von der Firma Pharmacia Biotech bezogen. Die Amplifikation der Inserte erfolgte in einem PTC-100 Thermocycler der Firma Biozym mit folgendem PCR-Protokoll: a. 1 min 94 °C Denaturierung, b. 2 min 48 °C Primeranlagerung, c. 2 min 72 °C Strangverlängerung, d. 30 Amplifikationszyklen (Schritte a. – c.). Die Digoxigenin-Markierung der RFLP-Sonden erfolgte unter den gleichen PCR-Bedingungen wie oben beschrieben, wobei 5 % der Thymin-Nukleotide im PCR-Reaktionsansatz durch das DIG-11-UTP Nukleotid ersetzt wurden. Die Kontrolle der Fragmentgröße und die Bestimmung der Konzentration des Amplifikationsproduktes erfolgte anhand von Agarosegelen.

2.2.4 Southern Blot und Hybridisierung

Nach der gelelektrophoretischen Auftrennung erfolgte der Transfer der DNA-Fragmente auf ungeladene Nylon-Membrane (Nytran N, Schleicher & Schuell) mit Hilfe eines Vakuum-Blottingsystems (VacuGene-Systeme, Pharmacia Biotech) bei einem Unterdruck von 50 mbar. Zur Auftrennung der DNA-Doppelstränge wurde das Agarosegel für 30 min mit Denaturierungslösung und danach für 30 min mit Neutralisierungspuffer (pH 7,5) überschichtet. Der Transfer der DNA erfolgte mittels Phosphatpuffer (25 mM) für zwei Stunden. Anschließend wurden die Membranen in 2 x SSC gewaschen, für 15 min getrocknet und zur Fixierung der DNA-Fragmente auf den Membranen in einem Ofen für zwei Stunden auf 80 °C erhitzt.

Bei erstmaligem Einsatz einer Membran erfolgte eine Prähybridisierung von zwei Stunden, um nicht mit DNA besetzte Bereiche auf der Membran abzudecken. Bei Wiederverwendung einer Membran reichte eine Prähybridisierung von 30 min aus. Nach der Prähybridisierung wurde die Lösung durch denaturierte Sonde, DIG-markierte Lambda-DNA und neue Hybridisierungslösung ersetzt. Die Hybridisierungen erfolgten in einem Hybridisierungssofen (Mini

Hybridisation Oven, Appligene) für 15 – 17 h bei 65 °C mit 3 ml Lösung je 100 cm² Membran und 80 – 120 ng markierte Sonde je ml Lösung. Die Reste von unspezifisch gebundener Sonde wurden entfernt, indem die Membranen anschließend zweimal bei Raumtemperatur und einmal bei 65 °C in einem Wasserbad mit 0,3 x SSC/0,1 % SDS-Lösung gewaschen wurden.

Die Detektion der DIG-markierten Sonde erfolgte mit Anti-Digoxigenin-AP-Konjugat und der Nachweis mit dem Chemilumineszenz-Substrat (CSPD). Die Komponenten für die Markierung und den Nachweis von Nukleinsäuren wurden von Boehringer Mannheim bezogen. Die Exposition der Membranen erfolgte auf Fuji-RX-Röntgenfilmen für 2,5 h bei 37 °C, bzw., wenn noch eine weitere Exposition nötig war, für 15 – 17 h bei Raumtemperatur. Um die hybridisierte Sonde wieder zu entfernen, wurden die Membranen in einer 0,1x SSC/0,1 % SDS-Lösung für 15 min bei 90 °C im Wasserbad inkubiert und danach getrocknet.

2.3 Statistische Analysen

2.3.1 Auswertung der Feldversuche

In den Feldversuchen wurden die Merkmale Fertilitätsrestauration, Wuchshöhe und Wüchsigkeit erfaßt. Die Boniturdaten der Merkmale wurden, zunächst für jeden Ort einzeln und anschließend über die Orte zusammengefaßt, mit dem Statistikprogramm PLABSTAT (Utz, 1993) verrechnet. Die Prozedur schloß auch die Identifikation von Ausreißern ein, die nach der Methode von Anscombe und Tukey (1963) wie fehlende Datenpunkte behandelt und gleich Null gesetzt wurden. Außerdem wurde die Häufigkeitsverteilung jedes Merkmals auf Normalverteilung geprüft (Snedecor und Cochran, 1989). In dem Modell der varianzanalytischen Auswertung wurden die Einzeleffekte als unabhängige, normalverteilte Zufallsvariablen mit dem Erwartungswert Null angenommen. Die Berechnung der operativen Heritabilität (h^2) für die einzelnen Merkmale erfolgte nach Hallauer und Miranda (1981).

Um Aufschluß über die Anzahl der an der Fertilitätsrestauration beteiligten Gene zu erhalten, wurden mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests verschiedene Vererbungs-Modelle geprüft (Kearsey and Pooni, 1996). Dafür wurden die beobachteten Häufigkeiten der Antherenboniturnwerte in den Klassen mf, pmf und ms mit den zu erwarteten Häufigkeiten verglichen. Eine Häufigkeitsverteilung von 3:1 (mf, pmf : ms) entspricht einem Erbgang mit einem dominant wirkenden Restorer-gen. Ist neben dem Hauptrestorer-gen noch ein weiteres Gen mit geringeren, additiven Effekten an der Restauration beteiligt, ergibt sich ein Spaltungsverhältnis von 9:3:4 (mf : pmf : ms).

Die Auswertung der Feldversuche ergab für die mittlere Wuchshöhe (siehe Abb. 3.2) große Unterschiede zwischen den Subpopulationen. Für Verrechnungen, in die alle drei Subpopulationen eingingen, wurde daher die Wuchshöhe jeder Einzelpflanze in einen relativen Wert umgerechnet. Dazu wurde die Wuchshöhe der Einzelpflanzen prozentual zum Gesamtmittel der jeweiligen Subpopulation bestimmt.

2.3.2 Kopplungsanalysen

Eine erste Kartierungsstudie in der F_2 (L145-P x L18-R) führte Glass (1997) mit der Subpopulation 3 durch. Für neue RFLP-Analysen stand deshalb nur noch eine begrenzte Menge an DNA bzw. Blattmaterial von jedem F_2 -Genotyp zur Verfügung. Für die genetische Kartierung weiterer Sonden mußten daher zwei neue Subpopulationen (1, 2) aufgebaut werden. Um den Zusammenhang mit der früheren Studie zu ermöglichen, wurden die mit der Fertilitätsrestauration assoziierten Marker aus der Subpopulation 3 in den neuen Subpopulationen 1 und 2 kartiert. In der Kopplungskarte der Subpopulation 1 wurden außerdem ein bis zwei weitere Marker, deren Position auf den restlichen Chromosomen von Subpopulation 3 bestimmt worden war, lokalisiert. In Subpopulation 1 wurden somit alle Chromosomen mit Markern abgedeckt, wodurch die chromosomale Zuordnung aller neu zu lokalisierender Marker gesichert wurde. Die in Subpopulation 1 lokalisierten Marker, die am engsten mit den Restorer-Genen gekoppelt waren, wurden anschließend auch in den Subpopulationen 2 und 3 kartiert. Auf diese Weise sollte der Aufwand für die Kartierungsarbeiten, wie z.B. die Erstellung von Southern-Blots, reduziert werden, die Abstandsschätzung der flankierenden Markern zu den Restorer-Genen aber möglichst genau erfolgen.

Die genetische Kartierung der RFLP-Sonden erfolgte mit dem Programm MAPMAKER EXP V 3.0 (Lincoln *et al.*, 1993). Mit Hilfe der Zwei-Punkt-Analyse wurden die Marker zu Kopplungsgruppen zusammengefaßt. Die Bestimmung der Markerabfolge innerhalb einer Kopplungsgruppe erfolgte anschließend durch Mehrpunkt-Analysen. Die Signifikanzgrenze für die Kopplung von zwei Markern lag bei Zwei- und Mehr-Punkt-Analysen bei einem LOD-Wert von 3,0 und einer maximalen Distanz von 50 cM. Der LOD-Wert ist der dekadische Logarithmus aus der Wahrscheinlichkeit (Likelihood), daß zwei Marker gekoppelt sind und der Wahrscheinlichkeit, daß freie Rekombination vorliegt. Für die Marker, die sich unter diesen Bedingungen keiner Kopplungsgruppe zuordnen ließen, wurde der LOD-Wert auf 1,5 herabgesetzt und die maximale Distanz auf 80 cM erhöht. Die chromosomale Zuordnung der Marker und deren Abfolge in der genetischen Karte wurde auf Konsistenz mit anderen veröffentlichten Karten geprüft. Die Position des Zentromers wurde aus den genetischen Karten von Devos *et al.* (1993) und Korzun *et al.* (1998a) übernommen. Die Rekombinationsfrequenzen zwischen den Markern wurden mit Hilfe der Haldane-Funktion (Haldane, 1919) in Centi morgan (cM) umgerechnet.

In einer F₂-Population wird aufgrund der Mendelschen Regeln ein Spaltungsverhältnis von 1:2:1 für jeden Marker-Locus erwartet. Die Überprüfung der Spaltungsverhältnisse erfolgte mit dem Chi-Quadrat Test bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P \leq 0,05$ und $P \leq 0,01$. Die Korrektur der Irrtumswahrscheinlichkeit für den Fehler erster Art erfolgte mit der sequentiellen Bonferroni-Prozedur (Holm, 1979).

Die Bestimmung des Genomanteils eines Elters und des Homozygotiegrads in jedem der F₂-Genotypen wurde mit dem Programm Graphical GenoTyping (Van Berloo, 1999) durchgeführt. Dieses Programm bezieht neben der Markerklasse auch den Abstand zwischen zwei Markern in die Berechnung mit ein.

2.3.3 QTL-Analysen

Grundlage für die Analysen waren die Kopplungskarten der drei Subpopulationen, sowie die daraus erstellte Konsensuskarte und die über die Orte gemittelten Boniturnoten der einzelnen Merkmale. Die Subpopulationen wurden sowohl einzeln, als auch zusammengefaßt verrechnet. Zur Erfassung von chromosomalen Bereichen, welche an der Ausprägung der Fertilitätsrestauration, der relativen Wuchshöhe und Wüchsigkeit beteiligt sind, wurden QTL-Analysen mit dem Programm PLABQTL (Utz and Melchinger, 1995) nach dem „Simple Interval Mapping“- Verfahren (SIM) durchgeführt. In dem Analysemodell wurden Dominanzeffekte berücksichtigt. Außerdem wurden für die Antherenbonitur die lokalisierten QTL auf epistatische Effekte untersucht. Wie von Lander and Botstein (1989) vorgeschlagen, wurde ein LOD-Wert von 2,5 als Signifikanzgrenze für die Detektion eines QTLs angewendet.

2.3.4 Genetische Interaktionen

Die in den QTL-Analysen detektierten und mit der Fertilitätsrestauration assoziierten Loci wurden auf epistatische Effekte untersucht. Die Überprüfung erfolgte mit dem Programm PLABQTL und mit Hilfe von Zwei- bzw. Drei-Wege-Tafeln. In die Berechnungen ging der Marker ein, der jeweils ein QTL am engsten flankierte. F₂-Pflanzen, die zwischen Marker-Locus und Restorer-Locus eine Rekombination aufwiesen, verblieben in den Analysen. Bei einem Vergleich von zwei kodominanten Markern ergeben sich in einer Zwei-Wege-Tafel neun und in einer Drei-Wege-Tafel 27 Kombinationen. Eine Kombination stellt den errechneten Mittelwert der Fertilitätsausprägung einer gemeinsamen Markerklasse, z.B. die Klasse der Heterozygoten, dar. Die Unterschiede zwischen den Markerklassen wurden in multiplen Mittelwertvergleichen mit Hilfe des Scheffé-Tests auf Signifikanz ($P \leq 0,05$, bzw. $P \leq 0,01$) geprüft (Snedecor and Cochran, 1989).

3 Ergebnisse

3.1 Feldversuche

Die F₂-Population mit insgesamt 368 Einzelpflanzen setzte sich aus den Subpopulationen 1, 2 und 3 mit 109, 133 bzw. 126 Genotypen zusammen (siehe Tab. 2.1). Innerhalb aller drei Subpopulationen stimmten die Antherenboniturmittelwerte zwischen den Prüforten gut überein (Tab. 3.1). Die Korrelationen zwischen den Orten lagen zwischen $r = 0,95$ und $r = 0,97$ ($P \leq 0,01$). Für die Wuchshöhe und die Wüchsigkeit wurden signifikante Unterschiede zwischen den Orten und Subpopulationen beobachtet. Dementsprechend niedriger fielen die Korrelationen zwischen den Mittelwerten über die Orte für die Wuchshöhe ($r = 0,64 - 0,77$) und für die Wüchsigkeit ($r = 0,63$) aus.

Tab. 3.1: Ortsmittelwerte von Antherenbonitur, Wuchshöhe und Wüchsigkeit für die Subpopulationen 1 bis 3 in den einzelnen Prüfjahren

Merkmal	Subpopulation	Prüfjahr	Eckartsweiler	Hohenheim	Oberer Lindenhof
Antherenbonitur [#]	1	1997	5,8	5,8	-
	2	1997	5,9	6,0	-
	3 &	1994	5,3	5,2	5,2
Wuchshöhe (cm)	1	1997	117,0	96,2	-
	2	1997	104,0	90,3	-
	3 &	1994	126,9	115,1	106,5
Wüchsigkeit [§]	1	1997	7,0	6,1	-
	2	1997	6,4	5,7	-

[#] Antherenbonitur siehe Tab. 2.2.

[§] Wüchsigkeit siehe Tab. 2.3.

& Glass (1997).

Alle drei Subpopulationen zeigten eine bimodale Häufigkeitsverteilung der Antherenboniturmittelwerte, mit je einem Maximum im männlich-sterilen (ms) und im fertilen (mf) Bereich (Abb. 3.1). Während zwischen den Subpopulationen 1 und 2 die Häufigkeit innerhalb der Fertilitätsklassen ms, pmf und mf gut übereinstimmten, wies Subpopulation 3 20,0 % weniger männlich-fertile Genotypen auf.

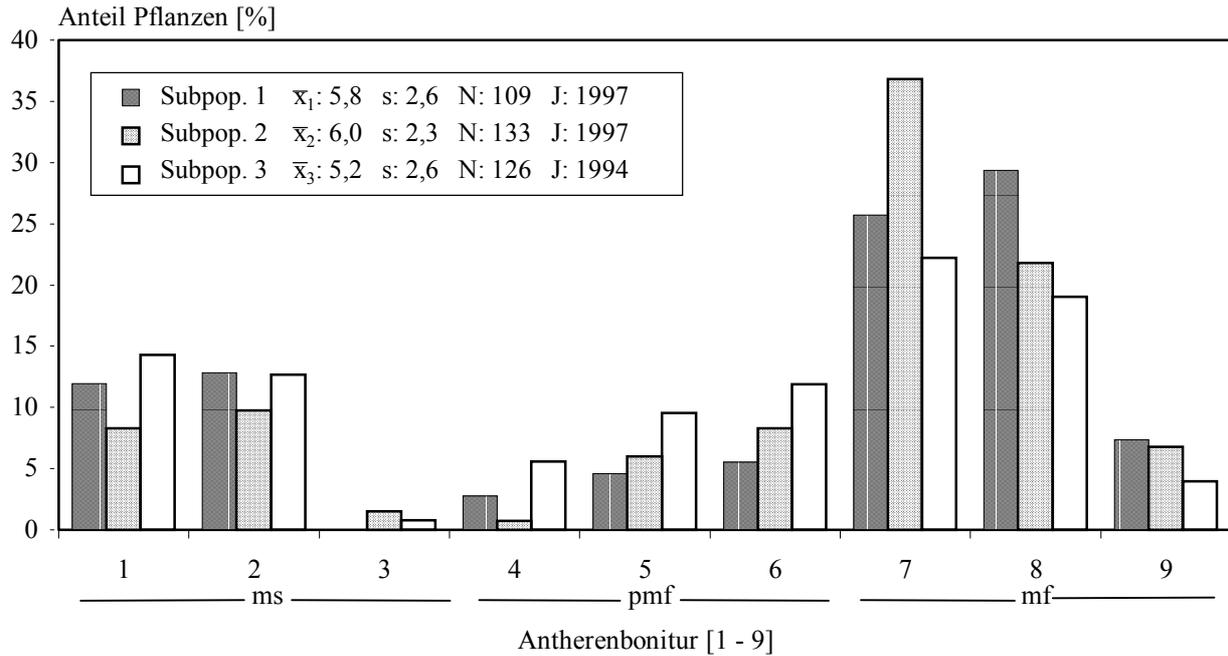


Abb. 3.1: Häufigkeitsverteilung der Antherenboniturmittelwerte in den Subpopulationen 1 bis 3. \bar{x} : Antherenboniturmittelwerte über Orte und Wiederholungen; s: genetische Standardabweichung; N: Anzahl F_2 -Einzelpflanzen pro Subpopulation; J: Prüffahr; ms: männlich-steril, pmf: partiell männlich-fertil, mf: männlich-fertil.

Aufgrund der bimodalen Häufigkeitsverteilung der Antherenbonitur kann davon ausgegangen werden, daß nur wenige Gene an der Fertilitätsrestauration beteiligt waren. Es wurden die Hypothesen eines monogenisch-dominanten Erbgangs (3:1) und eines digenisch-komplementären Erbgangs (9:3:4) überprüft (Tab. 3.2). Die Überprüfung ergibt im Fall eines digenischen Erbgangs eine geringfügig höhere Testmaßzahl im Vergleich zu einem monogenischen Erbgang. Keine der beiden Hypothesen kann jedoch abgelehnt werden.

Tab. 3.2: Einteilung der F_2 -Genotypen in die Fertilitätsklassen (mf, pmf und ms) und Chi-Quadrat-Test der Spaltungsverhältnisse

Hypothese	Klassen	Anzahl Pflanzen je Klasse	Chi-Quadrat-Test	
			Testmaßzahl	P [#]
3 : 1	(mf : pmf) : ms	(212 + 68) : 88	0,23	0,63
9 : 3 : 4	mf : pmf : ms	212 : 68 : 88	0,31	0,86

P = Wahrscheinlichkeit, daß die Abweichung von der Nullhypothese auf zufälligen Stichprobeneffekten beruht (Fehler 1. Art).

In allen Subpopulationen entsprach die Häufigkeitsverteilung der Wuchshöhe einer Normalverteilung (Abb. 3.2). Die Subpopulation 3 ist dabei nach rechts in die höheren Wuchsklassen verschoben. Subpopulation 2 weist dagegen eine geringfügig nach links verschobene Häufigkeitsverteilung im Vergleich zu den beiden anderen Subpopulationen auf.

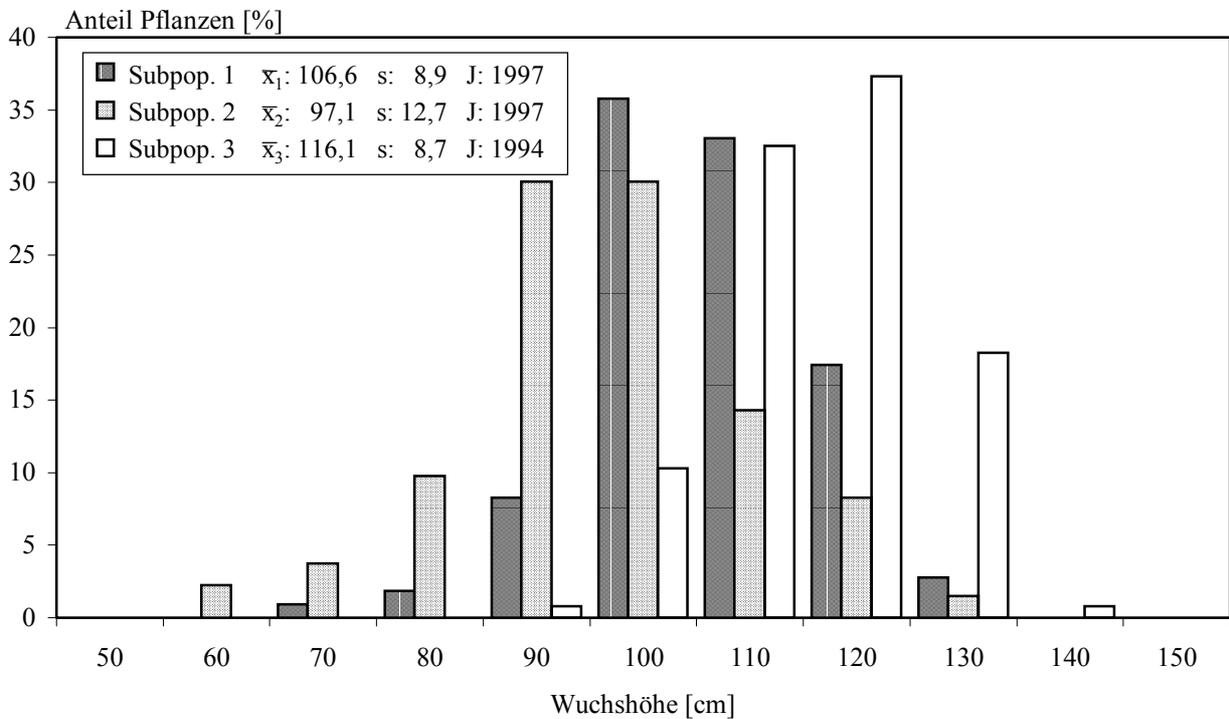


Abb. 3.2: Häufigkeitsverteilung der mittleren Wuchshöhe in den Subpopulationen 1 bis 3. \bar{x} : Wuchshöhenmittelwerte über die Orte und Wiederholungen; s: genetische Standardabweichung; J: Jahr der Prüfung.

Als weiteres Merkmal wurde in Subpopulation 1 und 2 die Wüchsigkeit untersucht. Das Merkmal weist in beiden Subpopulationen eine ähnliche eingipflige, rechtsschiefe Häufigkeitsverteilung auf (Abb. 3.3), die signifikant von der Normalverteilung abweicht. Beide quantitativen Merkmale zeigten in allen geprüften Subpopulationen eine signifikante ($P \leq 0,01$) genotypische Varianz (Tab. 3.3). Die Genotyp x Ort-Interaktionsvarianz war ebenfalls signifikant, aber von geringerer Bedeutung. Entsprechend ergaben sich hohe Heritabilitäten zwischen 0,8 und 0,9.

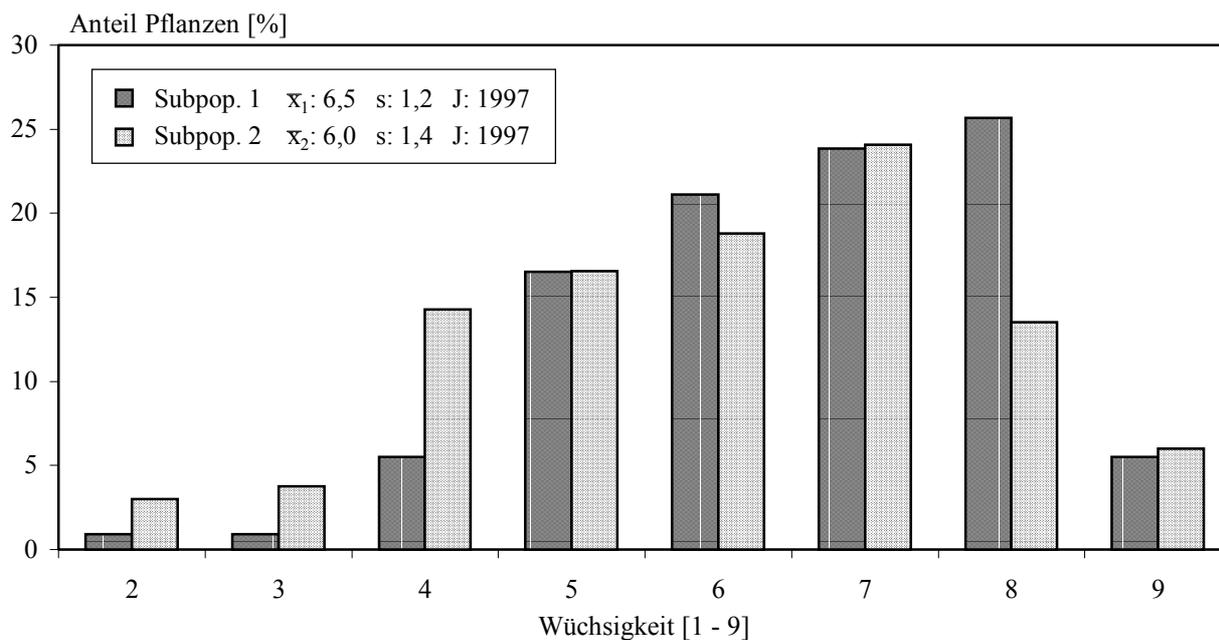


Abb. 3.3: Häufigkeitsverteilung der mittleren Wüchsigkeit in den Subpopulationen 1 und 2. \bar{x} : Mittelwerte für die Wüchsigkeit über die Orte und die Wiederholungen; s: genetische Standardabweichung; J: Jahr der Prüfung.

Tab. 3.3: Varianzkomponenten und Heritabilität (h^2) für die Merkmale Wuchshöhe und Wüchsigkeit in den Subpopulationen 1 bis 3

Merkmal	Subpopulation	Varianzkomponenten			Heritabilität [h^2]
		Genotyp	Genotyp x Ort	Fehler	
Wuchshöhe	1	78,9 **	22,2 **	39,1	0,79
	2	161,3 **	20,4 **	55,1	0,87
	3	76,3 **	3,9 *	32,1	0,92
Wüchsigkeit	1	1,4 **	0,2 *	1,0	0,81
	2	2,0 **	0,4 **	1,2	0,80

*, ** Signifikant bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P \leq 0,05$ bzw. $P \leq 0,01$.

3.2 Kopplungsanalysen

3.2.1 Eigenschaften der eingesetzten RFLP-Marker

In die RFLP-Untersuchungen wurden 132 Sonden aus 20 Sondenbibliotheken, die von sechs Kulturarten stammten, einbezogen. Unter Verwendung von sieben Restriktionsenzymen ergaben sich insgesamt 924 Enzym-Sonden-Kombinationen (ESK), die einen Polymorphiegrad von 35,4 % aufwiesen. Dabei zeigten die gDNA-Sonden mit 43,3 % bei 504 ESK im Vergleich zu den cDNA-Sonden mit 26,0 % bei 420 ESK einen höheren Polymorphiegrad. Dieser Unterschied läßt sich auch am Anteil polymorpher Sonden an der Gesamtanzahl untersuchter Sonden erkennen. Der Anteil polymorpher Sonden beträgt bei den gDNA-Sonden 69,4 % gegenüber 63,3 % bei den cDNA-Sonden. Der Anteil nicht auswertbarer Sonden war bei den gDNA-Sonden mit 9,7 % und bei den cDNA-Sonden mit 8,3 % fast gleich. Nach Pflanzenarten getrennt, wurden für die 21 Hafer-, 62 Gerste- und 36 Weizen-Sonden mit 71,4 %, 69,4 % und 69,4 % nahezu gleich hohe Polymorphiegrade bei Roggen festgestellt. Im Vergleich dazu lag der Polymorphiegrad für die acht eingesetzten Reis-Sonden mit 37,5 % weit darunter. Aus dem Mais stellte der *prf2a*-Klon die einzige untersuchte Sonde dar. Die Mais- und Reis-cDNA-Sonden zeigten ein relativ schwaches Hybridisierungssignal gegenüber den anderen verwendeten heterologen Sonden, wie z.B. aus Weizen, Gerste oder Hafer. Die geringere Sequenzhomologie war bei den genomischen Reissonden noch deutlicher. Keine der drei genomischen Reis-Sonden hybridisierte ausreichend mit Roggen-DNA. Aus dem Roggen wurden lediglich vier Sonden untersucht. Diese zeigten zwar ein kräftiges Hybridisierungssignal, mit den verwendeten Restriktionsenzymen war jedoch nur eine Sonde polymorph.

Bei den cDNA und gDNA-Sonden konnten mit den Restriktionsenzymen *Eco* RI (47,2 % bzw. 31,7 %) und *Eco* RV (50,0 % bzw. 31,7 %) die meisten Polymorphismen detektiert werden. Den geringsten Anteil hatte bei den gDNA-Sonden das Enzym *Apa* mit 31,9 % und bei den cDNA-Sonden die Enzyme *Xba* mit 21,7 % und *Apa* mit 15,0 %. Der Rest rangierte im Mittelfeld des jeweiligen Sonden-Typs.

3.2.2 Genetische Karten der Subpopulationen

Die Kartierung neuer RFLP-Sonden erfolgte in der aus 109 F₂-Pflanzen bestehenden Subpopulation 1 (Abb. 3.5). Die Kopplungskarte umfaßt 92 Loci, basierend auf 82 Sonden, von denen 74 Sonden einen Locus, sechs Sonden je zwei Loci und zwei Sonden je drei Loci nachwiesen. Aufgrund einiger vollständig gekoppelter Marker bilden diese Loci 83 Segregationseinheiten, mit einer für Kopplungskarten typischen Anhäufung von Markern um das Zentromer. 23 der 82 kartierten Sonden wurden schon von Glass (1997) in der Subpopulation 3 kartiert (Abb. 3.4) und dienten als Anker-Loci zum Vergleich der beiden Karten.

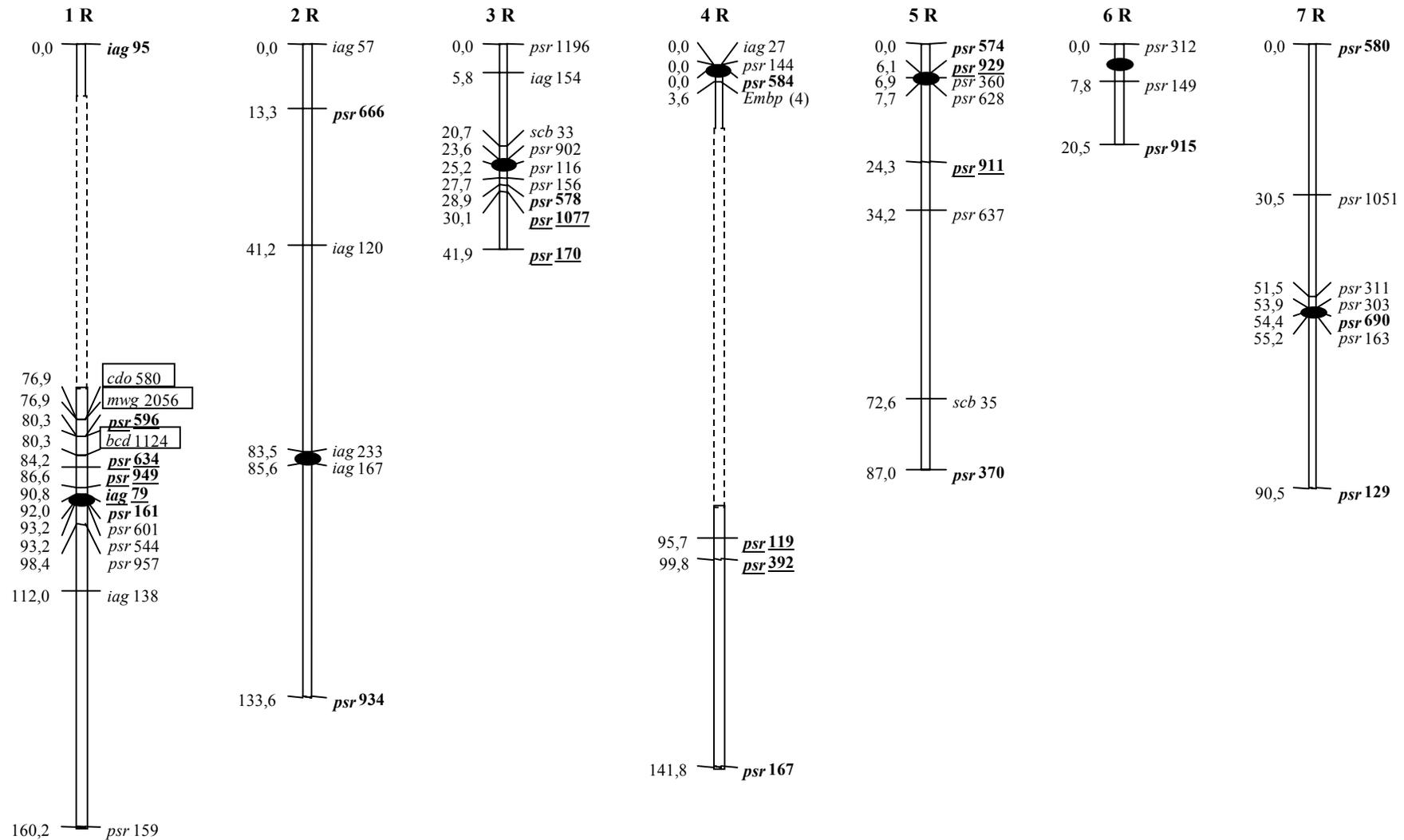


Abb. 3.4: Kopplungskarte der Subpopulation 3. Die von Glass (1997) entwickelte Kopplungskarte wurde um die Marker in einem Rechteck erweitert. Die fett gedruckten Marker dienen in der Subpopulation 1 als Anker-Loci; unterstrichene und die in einem Rechteck dargestellten Marker wurden auch in Subpopulation 2 kartiert. Die linke Zahlenspalte gibt den relativen Abstand zum jeweils ersten Marker eines Chromosoms in cM an. Gestrichelte Linien zwischen zwei Markern weisen auf einen LOD-Wert unter 3,0 hin; ● Zentromer.

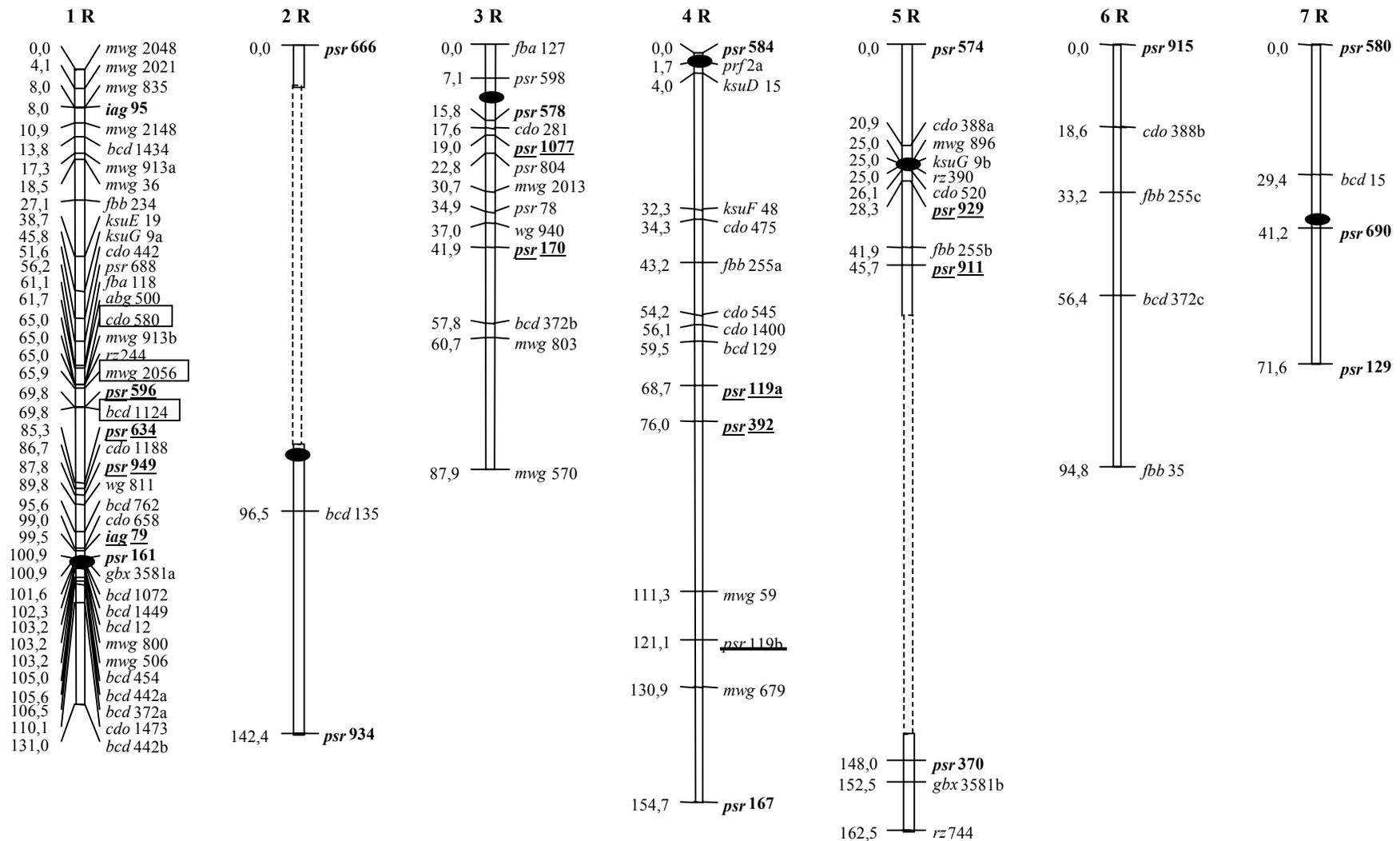


Abb. 3.5: Kopplungskarte der Subpopulation 1. Die fett gedruckte Marker stellen die Anker-Loci dar, die von Glass (1997) bereits in Subpopulation 3 kartiert wurden; unterstrichene Marker wurden auch in Subpopulation 2 kartiert; die Marker in einem Rechteck wurden nachträglich in Subpopulation 2 und 3 kartiert. Die linke Zahlenspalte gibt den relativen Abstand zum jeweils ersten Marker eines Chromosoms in cM an. Gestrichelte Linien zwischen zwei Markern weisen auf einen LOD-Wert unter 3,0 hin; ● Zentromer.

Die kartierten Marker decken in den Subpopulationen 1 und 3 alle sieben Roggen-Chromosomen mit einer Genomlänge von 845 cM bzw. 676 cM ab. Die genetische Karte der Subpopulation 2 umfaßte nur die Chromosomen 1R, 3R, 4R und 5R mit einer Gesamtlänge von 75 cM und wurde deshalb nicht dargestellt.

Die ungekoppelten Marker auf den Chromosomen 2R und 5R in der Subpopulation 1 konnten aufgrund der Kopplungskarte von Subpopulation 3 zugeordnet werden. Das gleiche gilt im umgekehrten Fall für die Chromosomen 1R und 4R der Subpopulation 3. Zwischen den drei Subpopulationen stimmte die Abfolge gemeinsamer Marker überein. Die Abstände zwischen den Markern wiesen zum Teil jedoch beträchtliche Unterschiede auf. So variiert der Abstand zwischen den Markern *psr596* und *psr634* auf Chromosom 1R zwischen 15,5; 7,1 und 3,9 cM trotz guter Markerabdeckung für diesen Bereich in allen Subpopulationen. Andere Beispiele mit großen Abweichungen sind die Marker *psr578*, *psr1077* und *psr170* auf Chromosom 3R oder die Marker *psr584*, *psr911* und *psr167* auf Chromosom 4R.

Von den 92 kartierten Loci in der Subpopulation 1 wiesen 19 (20,7 %) eine signifikante Abweichung ($P \leq 0,05$) von dem für eine F_2 -Population erwarteten Spaltungsverhältnis von 1:2:1 auf (Anhang Tab. 7.1). Davon bildeten zehn Marker ein Cluster auf Chromosom 4R von Position *psr584* bis *psr392*. Betroffen war dabei nur die Markerklasse der Linie L145-P, die bei den Markern *prf2a* und *Tksu D15* nur durch drei, bzw. zwei Genotypen vertreten war. Die Marker in distaler Richtung näherten sich dem erwarteten Spaltungsverhältnis wieder an. Weitere fünf Marker, bei denen die Markerklassen der Linie L18-R unterrepräsentiert waren, lagen in dem Bereich *psr574* bis *psr929* auf Chromosom 5R. Diese bildeten ebenfalls ein Cluster, das aber durch normal segregierende Marker unterbrochen wurde. In diesem Chromosomenbereich wiesen auch die Marker der Subpopulation 3 gestörte Spaltungsverhältnisse auf. Die restlichen vier Marker traten vereinzelt auf den Chromosomen 1R und 6R auf. In Subpopulation 3 zeigten außerdem noch sieben Marker auf den Chromosomen 2R und 7R abweichende Spaltungsverhältnisse.

Der Homozygotiegrad einer F_2 -Subpopulation sollte im Mittel 50,0 % ergeben. Für die Subpopulationen 1 und 3 errechneten sich Mittelwerte von 46,8 % und 50,3 %, mit einer relativ hohen Standardabweichung (Abb. 3.6). Die Spannweite war bei der Subpopulation 1 mit einem Minimum von 17,7 % und einem Maximum von 93,7 % größer als bei der Subpopulation 3. Aufgrund der zu geringen Markerabdeckung in Subpopulation 2 erfolgte keine Bestimmung des Homozygotiegrads.

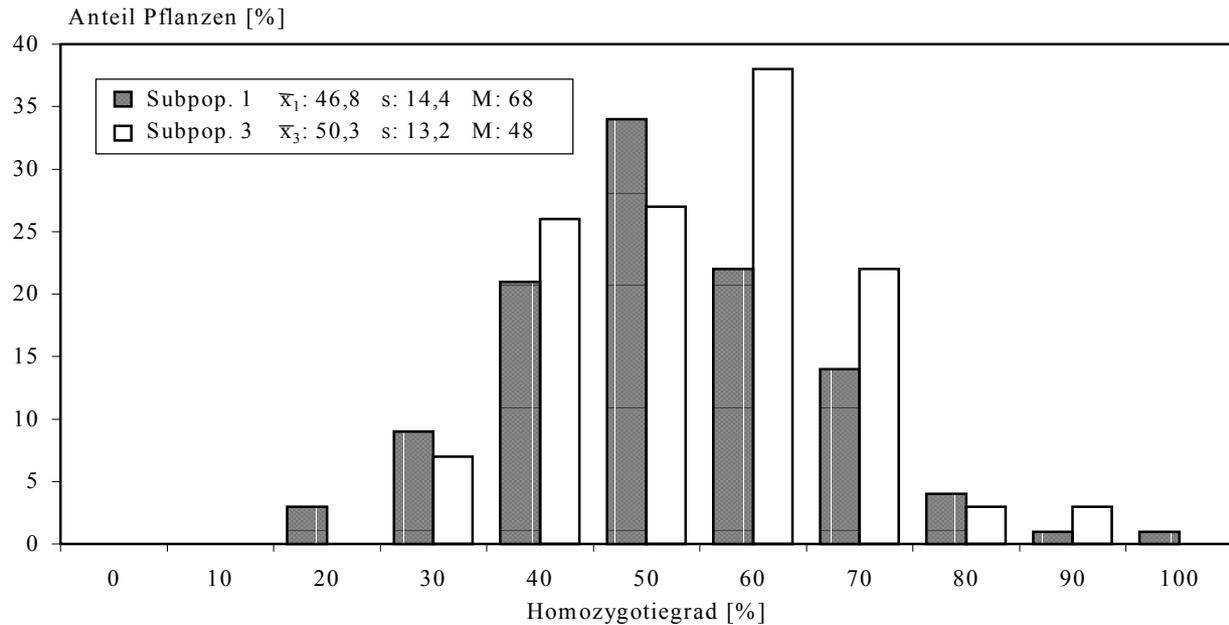


Abb. 3.6: Häufigkeitsverteilung des Homozygotiegrads (%) in den Subpopulationen 1 und 3. \bar{x} : mittlerer Homozygotiegrad; s: Standardabweichung; M: Anzahl Marker.

3.2.3 Markerklassenmittelwerte und QTL-Analysen für die Antherenbonitur

Glass (1997) identifizierte in der Subpopulation 3 mit Hilfe der einfaktoriellen Varianzanalyse vier Bereiche auf den Chromosomen 1R, 3R, 4R und 5R, die mit der Fertilitätsrestauration assoziiert sind. Die größten Unterschiede in den Markerklassenmittelwerten zeigten dabei die Marker *prs596*, *psr1077*, *psr119* und *psr929*. In Tab. 3.4 sind die Antherenboniturmittelwerte der drei Markerklassen für solche Marker dargestellt, die in den Subpopulationen 1 bis 3 signifikante Unterschiede zeigten. Für den Marker *prs596* auf Chromosom 1R stimmten die Markerklassenmittelwerte in den Subpopulationen gut überein, es errechneten sich in allen drei Subpopulationen mit bis zu 5,5 Antherenboniturnoten die größten Markerklassenunterschiede aller geprüften Marker. Der Marker *bcd1124* kosegregierte vollständig mit *prs596*. Im Gegensatz zu den anderen aufgeführten Markern auf den Chromosomen 3R, 4R und 5R ergaben sich nur für *prs596* bzw. *bcd1124* auf Chromosom 1R in allen drei Subpopulationen hoch signifikante Unterschiede zwischen der Markerklasse der L145-P und den beiden anderen Klassen. Die Markerklassen von *psr1077* auf Chromosom 3R unterschieden sich nur in der Subpopulation 3 und in der gemeinsamen Betrachtung hoch signifikant. Auf Chromosom 5R ließ sich nur in den Subpopulationen 1 und 3 ein Marker (*psr929*) finden, welcher signifikante Unterschiede zwischen den Markerklassen aufwies. Der auf Chromosom 4R lokalisierte Marker *psr119* differenzierte lediglich zwischen der Heterozygoten- und Homozygotenklasse der L18-R in der Subpopulation 3. Mit dieser Ausnahme waren alle anderen Marker dominant vererbt.

Tab. 3.4: Antherenboniturmittelwerte der Markerklassen, sowie multipler Mittelwertvergleich (Scheffé-Test) der Markerklassen mm: L145-P, Mm: Heterozygot und MM: L18-R für die Subpopulationen 1 bis 3, sowie die Gesamtdarstellung. Gezeigt werden jeweils die Marker mit dem größten Markerklassenunterschied in dem entsprechenden Chromosomenbereich

Subpopulation	Chromosom	Marker	Antherenboniturmittelwerte je Markerklasse			Signifikanz der Mittelwertvergleiche		
			mm (L145-P)	Mm	MM (L18-R)	mm:Mm	mm:MM	Mm:MM
1	1R	<i>psr596</i>	1,73	7,13	7,16	**	**	ns
	3R	<i>psr1077</i>	4,55	5,67	6,77	ns	*	ns
	5R	<i>psr929</i>	4,53	6,60	6,30	**	ns	ns
2	1R	<i>psr596</i>	1,47	6,69	6,99	**	**	ns
	3R	<i>psr1077</i>	4,87	6,49	5,14	*	ns	ns
3	1R	<i>psr596</i>	1,71	6,34	6,16	**	**	ns
	3R	<i>psr1077</i>	3,32	5,69	6,25	**	**	ns
	4R	<i>psr119</i>	5,17	4,42	6,51	ns	ns	**
	5R	<i>psr929</i>	4,16	5,74	6,13	**	*	ns
1 + 2 + 3	1R	<i>psr596</i>	1,65	6,71	6,70	**	**	ns
	3R	<i>psr1077</i>	4,18	5,96	6,24	**	**	ns
	5R	<i>psr929</i>	4,76	6,07	6,00	**	*	ns

*, ** Signifikant bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P \leq 0,05$ bzw. $P \leq 0,01$.
ns Nicht signifikant.

Die Ergebnisse der Mittelwertvergleiche aus der Varianzanalyse stimmen in den drei Subpopulationen gut mit den QTL-Analysen überein (Tab. 3.5). Das Kurvenmaximum des QTL auf Chromosom 1R lag in allen drei Subpopulationen in unmittelbarer Nähe der beiden kosegregierenden Marker *psr596* und *bcd1124*. Der QTL zeigte die höchsten Additiv- und Dominanzeffekte. Die hohen LOD-Werte und der hohe Anteil erklärter phänotypischer Varianz von 78,0 %, 65,2 % und 55,8 % in den Subpopulationen 1 bis 3 lassen daher auf ein Majorgen für die Fertilitätsrestauration auf Chromosom 1R schließen. Die QTL auf den Chromosomen 3R, 4R und 5R wiesen weitaus niedrigere LOD-Werte und geringere Anteile erklärter phänotypischer Varianz auf. Von diesen QTL konnte lediglich der auf Chromosom 3R lokalisierte QTL in allen drei Subpopulationen detektiert werden. Die Position dieses QTL war in Subpopulation 1 jedoch leicht distal verschoben. Der QTL auf Chromosom 4R wurde nur in der

Supopulation 3 entdeckt. Für den QTL auf Chromosom 5R ergaben sich in den Subpopulationen 1 und 3 ähnliche Positionen und vergleichbare Genwirkungsweisen in Bezug auf die Additiv- und Dominanzeffekte. In Subpopulation 2 wurde dieser QTL jedoch nicht gefunden.

Tab. 3.5: Detektierte QTL für die Antherenbonitur in den Subpopulationen 1 bis 3 und die Effekte im simultanen Fit aller QTL. R^2 = Anteil erklärter phänotypischer Varianz

Subpopu- lation	Chromo- som	Benachbarter Marker	QTL-Position # [cM]	LOD- Wert §	R^2 [%]	Additiv- effekt	Dominanz- effekt
1	1R	<i>psr596</i> (69,8)	65 - 69 - 71	35,8	78,0	2,8	2,9
	3R	<i>mwg2013</i> (30,7)	23 - 31 - 34	2,6	10,2	0,9	- 1,1
	5R	<i>psr929</i> (28,3)	26 - 32 - 43	3,8	14,8	1,0	1,3
	Gesamt &					82,4	
2	1R	<i>psr596</i> (2,8)	1 - 3 - 4	30,4	65,2	2,8	2,5
	3R	<i>psr1077</i> (0,0)	0 - 0 - 5	2,7	11,5	- 0,2	1,7
	Gesamt &					74,1	
3	1R	<i>psr596</i> (80,3)	79 - 81 - 83	22,4	55,8	2,2	2,4
	3R	<i>psr1077</i> (30,1)	29 - 30 - 35	5,5	18,3	1,5	0,9
	4R	<i>psr392</i> (111,6)	111 - 112 - 114	3,4	12,0	0,7	- 1,4
	5R	<i>psr628</i> (7,7)	0 - 12 - 26	2,9	10,0	1,0	0,8
	Gesamt &					65,7	
1 + 2 + 3	1R	<i>psr596</i> (84,2)	83 - 85 - 86	83,2	64,7	2,6	2,6
	3R	<i>psr1077</i> (0,0)	0 - 0 - 3	6,6	8,8	1,0	0,7
	5R	<i>psr929</i> (0,0)	0 - 3 - 15	3,4	4,9	0,5	0,8
	Gesamt &					72,7	

Vertrauensintervall und die wahrscheinlichste Position (fett hervorgehoben) des QTL relativ zum ersten Marker auf dem Chromosom.

§ Signifikanzgrenze bei einem LOD-Wert von 2,5 erreicht.

& Erklärte phänotypische Varianz (R^2) im simultanen Fit aller gefundenen QTL.

Auf Basis der Konsensus-Karte für die drei Subpopulationen wurden auf den Chromosomen 1R, 3R und 5R signifikante QTL detektiert (Abb. 3.7). Der QTL auf Chromosom 4R war jedoch nicht mehr nachweisbar. Der Haupt-QTL auf Chromosom 1R hat einen LOD-Wert von 83,2 und erklärt 64,7 % der phänotypischen Varianz. Die beiden anderen QTL auf den Chromosomen 3R und 5R steuern zum Anteil phänotypischer Varianz 8,8 % bzw. 4,9 % bei. Im simultanen Fit über alle detektierten QTL auf den Chromosomen 1R, 3R und 5R wurden 72,7 % der

phänotypischen Varianz erklärt. Der QTL auf Chromosom 1R zeigte eine dominante, der auf 3R eine partiell dominante und der auf 5R eine überdominante Genwirkungsweise.

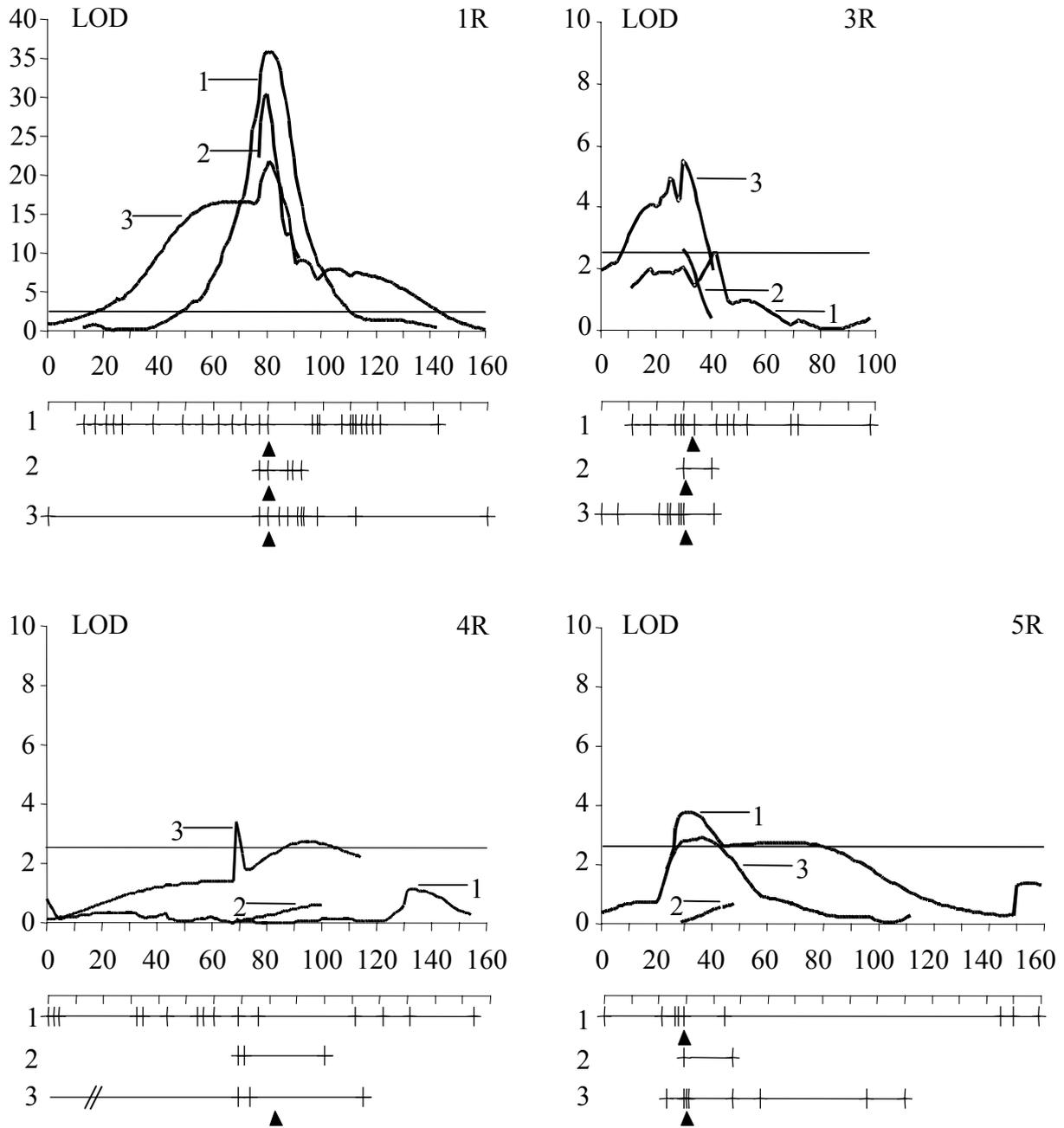


Abb. 3.7: LOD-Kurven der QTL für die Antherenbonitur auf den Chromosomen 1R, 3R, 4R und 5R. Die Markerverteilung in den Subpopulationen 1 bis 3 ist unterhalb der LOD-Kurven dargestellt; ▲ Wahrscheinlichste QTL-Position.

3.2.4 Interaktionen der lokalisierten Restorerloci (Epistatische Effekte)

Die Überprüfung epistatischer Effekte zwischen allen detektierten QTL erfolgte mit Hilfe von Zwei- und Drei-Wege-Tafeln, in denen die mit den Restorerloci gekoppelten Marker *psr596* (1R), *psr1077* (3R) und *psr929* (5R) miteinander verglichen wurden. Da die folgenden Berechnungen in den einzelnen Subpopulationen zu gleichsinnigen Resultaten führten, werden hier nur die Ergebnisse der Gesamtpopulation aufgeführt.

Alle Kombinationen der drei Marker *psr596*, *psr1077* und *psr929* können aufgrund der dominanten Genwirkungsweise der gekoppelten Restorerallele in acht Klassen zusammengefaßt werden (Tab. 3.6). Die Zusammenführung aller drei fertilitätsfördernden Restorerallele der Chromosomen 1R, 3R und 5R in homo- oder heterozygoter Ausprägung bewirkt eine geringe, aber nicht signifikante Steigerung des Antherenboniturmittelwerts auf 7,3 im Vergleich zu 6,8, wenn das mit *psr929* gekoppelte Restorerallel fehlt. Auffällig ist die geringe Antherenbonitur im partiell fertilen Bereich, wenn nur das Restorerallel der L18-R von Chromosom 1R beteiligt ist und von den Chromosomen 3R und 5R jeweils die Allele der L145-P beigesteuert werden. Wie erwartet, ergeben sich ohne die Restorerallele von Chromosom 1R nur Antherenboniturmittelwerte im männlich-sterilen Bereich.

Tab. 3.6: Antherenboniturmittelwerte über die Markerklassenkombinationen M1: *psr596* (1R), M3: *psr1077* (3R) und M5: *psr929* (5R), sowie minimale und maximale Bonitur innerhalb der Markerklassenkombinationen

Markerklassenkombination			Anzahl Genotypen	Antherenbonitur		
				Mittelwert	Min.	Max.
<i>psr596</i>	<i>psr1077</i>	<i>psr929</i>				
M1 -	/ M3 -	/ M5 -	142	7,3 a [#]	3,5	9,0
M1 -	/ M3 -	/ m5m5	59	6,8 a	1,5	8,8
M1 -	/ m3m3	/ M5 -	34	5,7 b	1,3	8,3
M1 -	/ m3m3	/ m5m5	19	4,3 b	1,3	7,3
m1m1	/ M3 -	/ M5 -	29	2,0 c	1,0	6,8
m1m1	/ M3 -	/ m5m5	22	1,5 c	1,0	2,3
m1m1	/ m3m3	/ M5 -	9	1,3 c	1,0	1,8
m1m1	/ m3m3	/ m5m5	13	1,4 c	1,0	1,8
Gesamt			327	5,6		

[#] a, b, c: Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $0,05 \geq P > 0,01$ (Scheffé-Test).

Die Häufigkeitsverteilung der Antherenboniturnoten in den Rubriken mf, pmf und ms lassen, wie in Tab. 3.2 gezeigt, die Annahme eines digenisch komplementären Erbgangs mit einem Major- und einem Minorgen zu. Dies kann auch für die Phänotypenhäufigkeit in den Markerklassenkombinationen *psr596/psr1077* ($\chi^2_{[0.05]2DF} = 4,1$; $P = 0,13$), die sich in den Rubriken mf, pmf und ms ergeben haben, bestätigt werden, nicht jedoch für die Markerkombination *psr596/psr929* ($\chi^2_{[0.05]2DF} = 6,4$; $P = 0,04$).

Gemittelt über die Genotypen, die beide mit dem Restorergeraden gekoppelte Marker *psr596* und *psr1077* enthalten, ergab sich ein Antherenboniturmittelwert von 7,15 (Tab. 3.7). Fehlte das fertilitätsfördernde Allel auf Chromosom 3R, so verringerte sich dieser Wert signifikant auf 5,2. War jedoch umgekehrt nur dieses Allel vorhanden, ergab sich keine pollenfertilitätsfördernde Wirkung mehr. Dies verdeutlicht die große phänotypische Wirkung des Restorerallels auf Chromosom 1R, sowie seine epistatische Wechselwirkung mit dem Allel auf Chromosom 3R, die eine Verbesserung der Pollenfertilitätsrestauration um rund zwei Noten brachte.

Tab. 3.7: Antherenboniturmittelwerte, die sich aus der Kombination der Markerklassen für die Marker M1: *psr596* und M3: *psr1077* ergaben, zusammengefaßt über die Subpopulationen 1 bis 3. Die Anzahl der Genotypen je Kombination ist in Klammern angegeben

<i>psr596</i> (1R)	<i>psr1077</i> (3R)			Mittel
	M3M3 (L18-R)	M3m3	m3m3 (L145-P)	
M1M1 (L18-R)	7,3 (24) a [#]	7,1 (44) a	5,0 (21) c	6,6 (89)
M1m1	7,1 (36) a	7,1 (108) a	5,4 (36) c	6,7 (180)
m1m1 (L145-P)	2,2 (14) b	1,6 (39) b	1,4 (22) b	1,7 (75)
Mittel	6,2 (74)	6,0 (191)	4,2 (79)	5,6 (344)

[#] a, b, c: Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $0,05 \geq P > 0,01$ (Scheffé-Test).

3.2.5 QTL-Analysen für die Relative Wuchshöhe

Aufgrund der unterschiedlichen Wuchshöhenmittelwerte, die sich für die drei Subpopulationen ergaben, wurde die Wuchshöhe in relative Werte umgerechnet (siehe Abschnitt 2.3.1 und Abb. 3.2). Die Kopplungskarte von Subpopulation 2 umfaßt nur die Chromosomen 1R, 3R und 5R und wurde daher nicht in die QTL-Analyse der Wuchshöhe mit einbezogen.

Die QTL der Relativen Wuchshöhe auf den Chromosomen 1R, 3R und 7R konnten in den Subpopulationen 1 und 3 in ähnlichen chromosomalen Bereichen detektiert werden (Tab. 3.8). Die Wuchshöhe fördernden Allele stammten dabei von der L18-R. Der QTL auf Chromosom 6R wurde nur in Subpopulation 3 nachgewiesen und der QTL auf Chromosom 5R lag nur bei der Gesamt-Analyse der Subpopulationen 1 und 3 über dem Signifikanzniveau. Bei diesen beiden QTL wurde das Wuchshöhe steigernde Allel von der L145-P beigesteuert. Die fünf lokalisierten QTL erklären im simultanen Fit 38,2 % der phänotypischen Varianz. Dabei sind die QTL auf den Chromosomen 1R, 3R und 5R in Chromosomenbereichen lokalisiert, die auch mit der Fertilitätsrestauration assoziiert sind. Außerdem waren sogar dieselben Marker am engsten mit beiden Merkmalen gekoppelt (*psr596*, *psr1077* und *psr929*).

Tab. 3.8: Detektierte QTL für die Relative Wuchshöhe in den Subpopulationen 1 und 3 und die Effekte im simultanen Fit aller QTL. R^2 = Anteil erklärter phänotypischer Varianz

Subpopu- lation	Chromo- som	Benachbarter Marker	QTL-Position [#] [cM]	LOD- Wert [§]	R^2 [%]	Additiv- effekt	Dominanz- effekt
1	1R	<i>psr596</i> (67,4)	63 - 77 - 91	2,6	10,3	3,7	4,5
	3R	<i>psr598</i> (7,0)	00 - 8 - 22	3,2	12,6	5,0	1,2
	7R	<i>bcd15</i> (29,4)	07 - 19 - 30	3,4	13,6	4,4	7,6
	Gesamt ^{&}					28,2	
3	1R	<i>mwg2056</i> (76,9)	38 - 62 - 89	2,7	9,6	3,2	7,4
	3R	<i>psr116</i> (25,2)	15 - 25 - 27	4,6	15,5	3,3	4,6
	6R	<i>psr915</i> (20,5)	0 - 14 - 20	2,5	8,9	- 1,7	4,8
	7R	<i>psr1051</i> (30,5)	17 - 30 - 45	5,1	17,0	3,3	3,6
Gesamt ^{&}					41,3		
1 + 3	1R	<i>psr596</i> (90,9)	89 - 95 - 101	5,1	9,5	2,6	4,6
	3R	<i>psr1077</i> (0,0)	0 - 2 - 10	4,3	8,3	3,3	2,9
	5R	<i>psr929</i> (0,0)	2 - 11 - 16	3,6	7,9	- 2,2	5,4
	6R	<i>psr312</i> (0,0)	0 - 5 - 10	2,8	10,0	- 2,3	4,6
	7R	<i>psr690</i> (48,1)	21 - 33 - 49	6,9	12,8	4,5	5,7
Gesamt ^{&}					38,2		

[#] Vertrauensintervall und die wahrscheinlichste Position (fett hervorgehoben) des QTL relativ zum ersten Marker auf dem Chromosom.

[§] Signifikanzgrenze bei einem LOD-Wert von 2,5.

[&] Erklärte phänotypische Varianz (R^2) im simultanen Fit aller gefundenen QTL.

3.2.6 Beziehungen zwischen Antherenbonitur, Relativer Wuchshöhe, Wüchsigkeit und Homozygotiegrad

Zwischen der Antherenbonitur und der Relativen Wuchshöhe, bzw. der Wüchsigkeit konnten signifikante phänotypische Korrelationen (Tab. 3.9) festgestellt werden. Die schwach negative Korrelation zwischen Antherenbonitur und Homozygotiegrad war nur dann signifikant, wenn die Subpopulationen 1 und 3 zusammengefaßt wurden. Erwartungsgemäß wirkt sich ein ansteigender Homozygotiegrad negativ auf die Wüchsigkeit und Wuchshöhe aus.

Tab. 3.9: Schätzwerte für die Koeffizienten der phänotypischen Korrelation zwischen den Merkmalen Antherenbonitur, Relative Wuchshöhe, Wüchsigkeit und dem Homozygotiegrad in den Subpopulationen 1 bis 3

Merkmalskombination	Subpopulation			Zusammengefaßt
	1	2 [#]	3 [§]	
Antherenbonitur : Relative Wuchshöhe	0,44 **	0,53 **	0,43 **	0,45 **
: Wüchsigkeit	0,23 **	0,48 **	-	0,32 **
: Homozygotiegrad	- 0,18	-	- 0,12	- 0,16 *
Relative Wuchshöhe : Wüchsigkeit	0,40 **	0,68 **	-	0,58 **
: Homozygotiegrad	- 0,31 **	-	- 0,15	- 0,23 **
Wüchsigkeit : Homozygotiegrad	- 0,33 **	-	-	-

*,** Signifikant bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P \leq 0,05$ bzw. $P \leq 0,01$.

[#] Aufgrund der geringen Markerabdeckung wurde Subpopulation 2 nicht in die Bestimmung des Homozygotiegrads mit einbezogen.

[§] Die Wüchsigkeit wurde in Subpopulation 3 nicht erfaßt.

In Tab 3.10 sind die Mittelwerte der Antherenbonitur und des Homozygotiegrads getrennt für die Wüchsigkeitsklassen 2 – 9 dargestellt. Die Mittelwerte der Antherenbonitur in den Wüchsigkeitsklassen 2 und 3 fallen in den männlich-sterilen Bereich. Erst ab der Wüchsigkeitsklasse 6 ergeben sich Antherenboniturmittelwerte größer 6,0. Für die Bestimmung des Homozygotiegrads stand nur Subpopulation 1 zur Verfügung, da in Subpopulation 2 nur eine geringe Anzahl von Markern kartiert wurden und in Subpopulation 3 keine Boniturdaten für die Wüchsigkeit erfaßt wurden. Die negative Korrelation zwischen Homozygotiegrad und Wüchsigkeit zeigt sich dennoch in der tendenziellen Zunahme des Homozygotiegrads in den niedrigen Wüchsigkeitsklassen. Die großen Spannweiten zeigen jedoch, daß es sich dabei nur um einen allgemeinen Trend handelt.

Tab. 3.10: Mittelwerte der Antherenbonitur, der Relativen Wuchshöhe und des Homozygotiegrads in den Wüchsigkeitsklassen 2 bis 9 für die zusammengefaßten Subpopulationen 1 und 2

Wüchsigkeit [#]	Antherenbonitur [1 – 9]			Homozygotiegrad [%]		
	[2 – 9]	Mittelw.	Spannweite	Anz. Genotypen	Mittelw.	Anz. Genotypen [§]
2		1,8	1,3 – 3,0	5	60,7	1
3		2,9	1,0 – 7,0	6	93,7	1
4		5,4	1,0 – 7,3	25	49,8	6
5		5,2	1,0 – 8,0	40	51,8	18
6		6,3	1,0 – 8,7	48	48,2	23
7		6,1	1,0 – 8,5	58	45,1	26
8		6,4	1,0 – 9,0	46	42,3	28
9		7,9	4,0 – 9,0	14	38,8	6

[#] Die während der Feldversuche eingegangenen Einzelpflanzen wurden der Wüchsigkeitsklasse 1 zugeordnet.

[§] In die Berechnung des Homozygotiegrads ging nur Subpopulation 1 ein.

4 Diskussion

4.1 Vergleich von unabhängigen Stichproben der Kartierungspopulation (Subpopulationen)

Zum Aufbau der Kartierungspopulation wurde die Einfachkreuzung L145-P x L18-R hergestellt und drei verschiedene F₁-Pflanzen als unabhängige Stichproben weitergeführt (Subpopulationen 1 bis 3). Bei den Elternlinien handelt es sich um hoch ingezüchtetes Material. Die Subpopulationen sollten daher in Bezug auf die Ausprägung von phänotypischen Merkmalen, sowie den sich daraus ergebenden Mittelwerten und Häufigkeitsverteilungen, übereinstimmen. In der Tat wiesen alle drei Subpopulationen für die Antherenbonitur eine zweigipfelige Häufigkeitsverteilung mit je einem Maximum im sterilen und im fertilen Bereich auf. Der leicht unterschiedliche Antherenboniturmittelwert der Subpopulation 3 (\bar{x}_3 : 5,2) im Vergleich zu den beiden anderen Subpopulationen (\bar{x}_1 : 5,8 und \bar{x}_2 : 6,0) könnte umweltbedingt (anderes Versuchsjahr), durch den unterschiedlichen Boniteur verursacht sein (siehe Tab. 3.1 und Abb. 3.1) oder durch eine Restheterozygotie der Elternlinien an den beteiligten Loci erklärt werden. Letzteres ist die einzige Erklärung für die unterschiedlichen Wuchshöhemittelwerte auch der Subpopulationen, die gemeinsam geprüft wurden (siehe Tab. 3.2).

Die Abweichungen, die sich bei der Antherenbonitur ergeben haben, können als so geringfügig eingestuft werden, daß eine gemeinsame Analyse der Subpopulationen möglich ist. Darauf weisen auch die ähnlichen Spaltungsverhältnisse (nicht gezeigt), die QTL-Analysen (Tab. 3.5 und Tab. 3.8), sowie die übereinstimmenden Korrelationen (Tab. 3.9) zwischen den Merkmalen der einzelnen Subpopulationen hin. Für die Wuchshöhe stellte die Verrechnung des Merkmals in Form der Relativen Wuchshöhe (bezogen auf den jeweiligen Umweltmittelwert) einen Kompromiß dar.

4.2 Molekulare Marker und Syntäniebeziehungen zwischen genetischen Karten

Da in der vorliegenden Arbeit Syntäniebeziehungen des Roggens zu anderen Getreidearten genutzt werden sollten, wurde mit RFLP-Sonden gearbeitet. Da von den Einzelpflanzen der Subpopulation 3 nur noch wenig Blattmaterial vorhanden war, konnten die gegenüber der Vorgängerarbeit (Glass, 1997) neu verwendeten RFLP-Sonden nicht an dieser Stichprobe kartiert werden. Sie erfolgte statt dessen in der neu erstellten Subpopulation 1 unter Verwendung von 23 RFLP-Marker als gemeinsame Ankerloci. In dieser Studie wurden zusätzlich 128 heterologe und vier homologe Sonden auf ihre Hybridisierbarkeit gegen Roggen-DNA und zur

Detektion von Polymorphismen untersucht. Die höhere Marker-Abdeckung der Kopplungskarten von anderen Kulturarten und die geringe Anzahl verfügbarer und lokalisierter RFLP-Sonden bei Roggen sind die Gründe dafür, daß nur wenige Roggensonden untersucht wurden. Den 23 Ankerloci der genetischen Karte von Subpopulation 1 konnten so 69 weitere Markerloci hinzugefügt werden.

Bei Verwendung von sieben Restriktionsenzymen betrug der Polymorphiegrad der Kartierungspopulation 66,7%. Für die Hafer-, Gerste- und Weizensonden getrennt ergaben sich etwa dieselben hohen Polymorphiegrade um 70%, was mit den von Glass (1997) untersuchten Roggensonden (*iag*, *scg*) übereinstimmt. Einen abnehmenden Polymorphiegrad von heterologen Sonden im Roggen (Roggen (75,0 %) > Weizen (66,0 %) > Gerste (44,0 %) > Hafer (20,0 %)), wie von Korzun *et al.* (1998a) beschrieben, konnte dementsprechend in dieser Kartierungspopulation nicht festgestellt werden. Erst bei Sonden, die aus dem phylogenetisch weiter entfernten Reis (*rz*-, *rg*-Sonden) stammten, wurde eine Abnahme des Polymorphiegrads auf 37,5 % gefunden. Dies lag vor allem daran, daß die genomischen Reissonden nicht an Roggen-DNA hybridisierten. Dagegen konnte von fünf untersuchten Reis cDNA-Sonden mit drei Sonden ein Polymorphismus nachgewiesen werden. Van Deynze *et al.* (1998) beobachteten bei vergleichenden Hybridisierungen von 153 cDNA-Sonden aus der Gerste, dem Hafer und dem Reis, die gegen genomische Weizen-, Gerste-, Hafer-, Reis-, Mais-, Sorghum und Zuckerrohr-DNA hybridisiert wurden, daß nur 48,0 % bis 55,0 % der Reis cDNA-Sonden mit genomischer Weizen-, Gerste- und Hafer-DNA hybridisierten. Aufgrund der engen Verwandtschaft von Weizen und Roggen (Kellogg, 1998) sollten diese Ergebnisse auch auf den Roggen übertragbar sein. Bei der Verwendung von Sonden aus phylogenetisch entfernteren Kulturarten sollten nur cDNA-Sonden eingesetzt werden, da die genomischen Bereiche mit exprimierten Sequenzen stärker konserviert sind (Gale and Devos, 1998a, Nadeau and Sankoff, 1998). Andererseits sind dann aber auch mehr Restriktionsenzyme erforderlich, um bei den cDNA-Sonden einen ähnlich hohen Polymorphiegrad zu erzielen wie bei den gDNA-Sonden. In der Literatur wurden hierzu unterschiedliche Ergebnisse veröffentlicht. Bei den Untersuchungen von Wanous and Gustafson (1995) wurden zum Schneiden von Roggen-DNA vier Restriktionsenzyme eingesetzt. Dabei ergaben sich Polymorphiegrade für cDNA-Sonden aus dem Weizen von 65,0 %, Gerste 48,0 % und Hafer 30,0 %, während der Polymorphiegrad bei den gDNA-Sonden aus dem Roggen bei 46,0 % und aus dem Weizen bei 60,0 % lag. Graner *et al.* (1991) fanden bei der Gerste ebenfalls einen geringeren Polymorphiegrad von cDNA-Sonden, während Landry *et al.* (1991) bei Salat und Miller and Tanksley (1990a) bei der Tomate das Gegenteil berichten.

Bei 19 der 92 kartierten Loci (20,7 %) in Subpopulation 1 wurde eine signifikante Abweichung von einer 1:2:1 Spaltung festgestellt. Diese Marker traten in zwei Clustern auf den Chromosomen 4R und 5R auf, und vereinzelt auf den Chromosomen 1R und 6R. In Subpopulation 3 auf den Chromosomen 2R, 3R, 5R und 7R wiesen 27,5 % der Marker

Abweichungen vom erwarteten Spaltungsverhältnis auf. Derartige Marker wurden im Roggen für alle Chromosomen beschrieben. So fanden Dreyer (2000) auf den Chromosomen 4R, 6R und 7R 13 % bis 30 %, Loarce *et al.* (1996) auf 5R und 6R 20,2 % und Phillip *et al.* (1994) auf 1R, 2R und 6R 34,3 % Marker mit einem gestörten Spaltungsverhältnis. Bei Korzun *et al.* (1998a) waren die Chromosomen 1R, 4R, 5R und 7R, bei Wanous *et al.* (1995) die Chromosomen 1R, 6R und 7R und bei Plaschke *et al.* (1995) das Chromosom 7R betroffen.

Einige Marker wurden auf Chromosomen kartiert, die zunächst nicht mit den nach publizierten Syntäniefunden zu erwartenden Positionen übereinstimmten. Dies betraf Marker, die im Roggen zwar nur einen Locus detektieren, aber in Bereichen kartiert wurden, wo Translokationen auftraten. Das Chromosom 4R weist Homoeologien zu den Weizen- und Gerstenchromosomen 4S, 6S und 7S auf (Devos *et al.*, 1993). Dementsprechend wurden etwa die beiden Marker *bcd135* und *bcd15* aus einer Gerstenkarte (Qi *et al.*, 1996) von Chromosom 7HS ausgesucht. Der Marker *bcd135* war bei Roggen jedoch auf Chromosom 2 lokalisiert, der Marker *bcd15* auf Chromosom 7. Dies zeigt, daß Syntäniebeziehungen in chromosomalen Bereichen, die in der Nähe von Translokationsbrüchen liegen, aufgrund der Ungenauigkeit der Karten nur bedingt zuverlässig vorhersagbar sind. Aufgrund der bisherigen Studien sind lediglich die Chromosomenarme 1RS, 1RL, 2RL, 3RS und 5RS des Roggen nicht von Translokationen betroffen und zeigen demnach vollständig homoeologe Beziehungen zum Weizen (Devos *et al.*, 1995b).

Insgesamt wurden 69 neue heterologe Sonden in Subpopulation 1 kartiert, davon befanden sich lediglich sieben Markerloci auf anderen Chromosomen als nach den Syntäniebeziehungen vorhergesagt. Von den 34 auf Chromosom 1R neu lokalisierten Markern lagen 16 Marker innerhalb des gewünschten Intervalls *iag95* und *psr596*. Der größte Teil der restlichen 18 Marker bildet ein für Roggen typisches Cluster um das Zentromer (Xie *et al.*, 1993). Auf Chromosom 3R wurden vier von zehn Markern in das gewünschte Intervall *psr1077* und *psr170* lokalisiert, auf den Chromosomen 4R bzw. 5R traf dies für vier von elf bzw. drei von acht Markern zu. Dies illustriert die hohe Kolinearität ganzer Chromosomenbereiche des Roggens zu Weizen, Gerste und Hafer.

In Abb. 4.1 ist die Kopplungskarte des Roggenchromosoms 1R von Subpopulation 1 jeweils einer Kopplungskarte aus Gerste (Graner *et al.*, 1994) und Weizen (Van Deynze *et al.*, 1995b) gegenübergestellt.

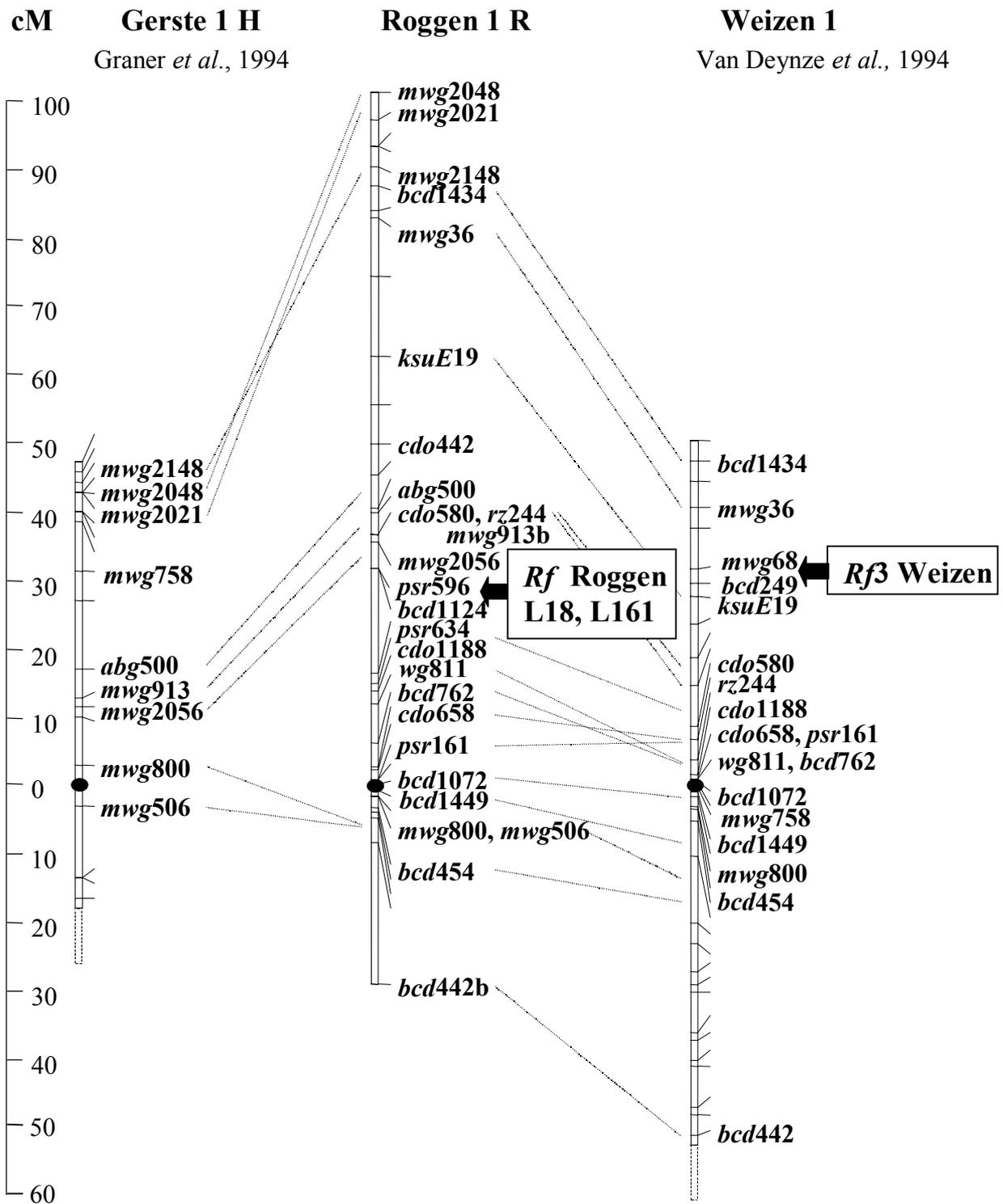


Abb. 4.1: Syntäniebeziehungen von Roggenchromosom 1R zum Weizenchromosom 1 und Gerstenchromosom 1H.

Der Vergleich zur Gerstenkarte ergibt nur im Telomerbereich für die Marker *mwg2048*, *mwg2021* und *mwg2148* eine veränderte Abfolge. Die Abweichung in der Markerabfolge ließ sich zusätzlich nur in der genetischen Karte von *T. monococcum* (Dubcovsky *et al.*, 1996) feststellen. In den anderen Kopplungskarten wurden für diesen Bereich nicht die gleichen

Sonden kartiert, weshalb ein Vergleich nicht möglich war. Eine weitere Unstimmigkeit zeigt sich beim Vergleich mit der Weizenkarte im Bereich des Markerpaars *wg811* und *bcd762*, welches in der Roggenkarte oberhalb des Markers *cdo658* und in der Weizenkarte unterhalb des Markers *cdo658* lokalisiert ist. Alle drei Marker befinden sich jedoch in der Weizenkarte im Zentromerbereich. Da Rekombinationen in der Umgebung des Zentromers weniger häufig auftreten als im Telomerbereich, kommt es zu einer Anhäufung von Markern um das Zentromer (Devos *et al.*, 1993). Bedingt durch Stichprobeneffekte können einzelne Rekombinationen in diesem Bereich daher zu einer veränderten Markerabfolge führen. So ist die geringfügig veränderte Markerabfolge für diesen Bereich wohl nicht mit einer Translokation oder Inversion auf dem Roggenchromosom 1R in Verbindung zu bringen.

4.3 Lokalisation eines Majorgens für die Pollenfertilitätsrestoration

Für die Wiederherstellung der Pollenfertilität von Pampa-CMS fand Geiger (1972) in Form der Inzuchtlinie L18-R eine erste Restorerquelle aus adaptiertem, homozygotem Inzuchtmaterial. Im Vergleich zu anderen Restorerquellen aus europäischer Herkunft stellte die Linie L18-R in Kreuzungsexperimenten die männliche Fertilität von CMS-Nachkommen in vollem Umfang wieder her. Die Linie L18-R entstammt jedoch aus dem Saatelterpool (Petkuser Formenkreis) und ihre agronomische Leistung ist ungenügend (Geiger und Miedaner, 1996), so daß sie nicht in kommerziellen Hybriden eingesetzt werden kann.

Verschiedene formalgenetische Studien zur Vererbung der Restauration bei der Linie L18-R ergaben in F₂-Nachkommenschaften Spaltungsverhältnisse von 3:1 bzw. 9:7. Madej (1976) erklärte diese Unterschiede durch Restheterozygotie der Restorerloci in der Bestäuberlinie und postulierte für die L18-R eine Vererbung der Restauration durch zwei dominante, komplementär wirkende Gene, was einer 9:7- Spaltung entspricht. Geiger (1982) geht ebenfalls von einer digenischen Vererbung durch zwei Hauptrestorerogene, aber zusätzlich von einer unbekannt Anzahl von modifizierenden Effekten aus.

Bei den Untersuchungen von Glass (1997) in der Subpopulation 3 waren für die L18-R je nach der gesetzten Klassengrenze der Antherenboniturnoten für den männlich-sterilen Bereich (1 bis 3 vs., 1 bis 4) unterschiedliche Vererbungsmodi wahrscheinlich. Für die Einteilung der Antherenboniturnoten 1 bis 3 in die Klasse der männlich-sterilen Pflanzen und 4 bis 9 in die Klasse der männlich-fertilen Pflanzen war eine 3:1-Spaltung die wahrscheinlichere Hypothese, während es für die zweite Variante eine 9:7-Spaltung war. Ab der Antherenboniturnote 4 platzen jedoch die ersten Antheren auf und entlassen Pollen (Abschnitt 2.1.3). Daher erscheint nur die Einteilung der Boniturnoten 1 bis 3 in die Klasse der männlich-sterilen Pflanzen als sinnvoll.

Die Mittelwertvergleiche für die Marker in den drei Markerklassen (L145-P, Heterozygote, L18-R) und die QTL-Analysen deuten auf ein dominantes Majorgen für die Fertilitätsrestauration im Bereich der beiden kosegregierenden Marker *psr596* und *bcd1124* auf Chromosom 1R hin. Aufgrund seiner dominanten Genwirkungsweise kann eine Abstandsschätzung zu den flankierenden Markern nur auf der Basis von zwei phänotypisch unterscheidbaren Klassen erfolgen. Daher wurden die partiell fertilen und die fertilen Genotypen zu einer Klasse zusammengefaßt, während die männlich-sterilen Genotypen die zweite Klasse darstellten. Aufgrund dieser Einteilung ergab sich für die Marker *psr596* und *bcd1124* in allen drei Subpopulationen die geringste Rekombinationsfrequenz zu dem Restorergergen auf Chromosom 1R. Sie sind in einem 11,9 cM-Intervall zwischen den Markern *mwg2056* und *psr634* lokalisiert. In der Gesamtpopulation mit 368 F₂-Genotypen zeigte der Marker *psr596* bei 18 Genotypen ein Rekombinationsereignis (Crossover) auf (Tab. 4.1). Bei drei Pflanzen detektierte dieser Marker die Bande der L145-P, obwohl die Pflanzen phänotypisch fertil bzw. partiell fertil waren, und bei 15 phänotypisch sterilen Pflanzen wurde die Bande der L18-R im homo- oder heterozygoten Zustand nachgewiesen. Allerdings waren von den 18 Pflanzen 17 auch gegenüber den beiden proximal und distal flankierenden Markern *mwg2056* und *psr634* rekombinant, was eigentlich nur mit Doppelrekombination erklärt werden kann. Da nur eine einzige Pflanze und diese nur gegenüber den kosegregierenden Markern *psr596* bzw. *bcd1124*, rekombinant war, kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob sich das Hauptrestorergergen distal oder proximal dieser Marker befindet. Für eine genaue Lokalisation des Hauptrestorergens müßte eine noch größere Stichprobe an F₂-Einzelpflanzen untersucht werden.

Die Wahrscheinlichkeit, daß ein Doppelrekombinationsereignis (Doppel-Crossover) auftritt ist von der Anzahl untersuchter Individuen und vom genetischen Abstand, also der Anzahl der Einfach-Crossover, zwischen zwei Loci abhängig. Es ist im Vergleich zum Einfach-Crossover ein sehr seltenes Ereignis (Strickberger, Genetik 1988). Die Unterdrückung eines Rekombinationsereignisses in der Nähe eines anderen Rekombinationsereignisses wird als Interferenz bezeichnet. In Untersuchungen bei *Drosophila* und *Brassica* wurde festgestellt, daß innerhalb eines 15 cM Intervalls nicht mit dem Auftreten von zwei Rekombinationsereignissen bei einem Genotyp zu rechnen ist, also vollständige Interferenz besteht (Kearsey and Pooni, 1996). Werden diese Ergebnisse auf unsere Situation übertragen, so ist schon die Wahrscheinlichkeit, daß in dem 11,9 cM-Intervall zwischen den Markern *psr634* und *mwg2056* Doppelrekombinationsereignisse auftreten, gleich Null. Genetisch völlig unerklärlich ist deshalb die hohe Anzahl von Doppelrekombinanten in den noch kleineren Intervallen *psr596* und *mwg2056* (3,4 cM), bzw. *psr596* und *psr634* (8,5 cM).

Tab. 4.1: Rekombinante Einzelpflanzen in den Subpopulationen 1 bis 3 gegenüber den nächst flankierenden Markern *cdo580*, *mwg2056*, *psr596* (*bcd1124*[#]) und *psr634*, sowie die Positionen dieser Marker innerhalb der jeweiligen Kopplungskarte

Marker	Subpopulation 1			Subpopulation 2			Subpopulation 3					
	Pos.		Pfl.-Nr.	Pos.		Pfl.-Nr.	Pos.		Pfl.-Nr.			
	[cM]	1	16	[cM]	2	3 - 7	[cM]	8	9	10 - 12	13 - 15	17 - 18
<i>cdo580</i>	65,0	H [§]	H	0,0	A	H	76,9	H	A	A	H	-
<i>mwg2056</i>	65,9	H	H	0,0	A	H	76,9	H	A	A	H	B
Phänotyp [§]		ms	mf		ms	ms		ms	ms	ms	ms	pmf
<i>psr596</i> [#]	69,8	H	B	2,8	A	H	80,3	A	A	A	H	B
<i>psr634</i>	85,3	H	H	9,9	A	H	84,2	A	H	A	H	B

Der Marker *bcd1124* kosegregiert mit *psr596*.

§ A: Homozygot für die Linie L18-R, H: Heterozygot, B: Homozygot für die Linie L145-P.

§ AB 1 bis 3: männlich-steril (ms), AB 4 bis 9: männlich-fertil (mf).

Solche Unstimmigkeiten zwischen den phänotypischen Daten und den Kopplungsanalysen wurden auch in anderen Kartierungsstudien wie z.B. beim Mais (pers. Mitteilung Lübberstedt) oder der Gerste (pers. Mitteilung Graner) beobachtet. Sofern es sich bei den auffälligen Pflanzen um F₂-Genotypen handelt, können diese in der F₃-Generation erneut überprüft werden. Dies war in dieser Kartierungsstudie nicht möglich, da der größte Teil der auffälligen F₂-Genotypen männlich-steril war. Eine Erklärung für das Auftreten der 17 Pflanzen, die nicht mit den Markerdaten übereinstimmen, können die ebenfalls an der Fertilitätsrestauration beteiligten Bereiche der Chromosomen 3R und 5R (Minorgene, s.u.) geben. Interessanterweise traten die Rekombinanten vor allem in den Markerklassenkombinationen auf, in denen die Minorgene der Fertilitätsrestauration von Chromosom 3R und 5R fehlen, obwohl in diesen vergleichsweise wenig Pflanzen vertreten waren. So zeigten 13 der 15 phänotypisch sterilen Genotypen, die mindestens ein fertilitätsförderndes Restorerallel von Chromosom 1R trugen, mit dem Marker *psr1077* auf Chromosom 3R die Markerklasse der L145-P. Für den Marker *psr929* auf Chromosom 5R waren es noch 9 von 15 Genotypen. Dies würde bedeuten, daß das Hauptrestorergergen auf Chromosom 1R alleine nicht immer ausreicht, die männliche Fertilität wieder herzustellen. Dies könnte vor allem dann der Fall sein, wenn zusätzliche, für die Restauration ungünstige Bedingungen hinzukommen. So wird die männliche Fertilität auch durch die Witterung zur Zeit der Blüte (Geiger, 1988b), den Homozygotiegrad bzw. die Wüchsigkeit beeinflusst (siehe Tab. 3.9 und 3.10). Ein überdurchschnittlich hoher Homozygotiegrad mit entsprechend geringerer Wüchsigkeit und das Fehlen der fertilitätsfördernden Minorgene der Chromosomen 3R und 5R könnte trotz vorhandenem Hauptrestorergergen nur zu einer partiellen

Restauration führen. In den Subpopulationen 1 und 2 fielen von sieben männlich-sterilen Pflanzen, die die Bande des Restorerelers trugen, vier in die Wüchsigkeitsklassen 2-3.

Unabhängig von den 17 Genotypen mit „Doppelrekombinanten“ wurde der Restorerlocus zwischen den beiden flankierenden Marker *mwg2056* und *psr634* lokalisiert und weist infolge von einem Einfach-Crossover einen Abstand von 0,3 cM zu dem Marker *psr596* (*bcd1124*) auf.

4.4 QTL-Analysen und epistatische Effekte

Die QTL-Analyse von Glass (1997) ergab ein Majorgen für die Pollenfertilitätsrestauration auf Chromosom 1R, zusätzlich wurden noch QTL mit kleineren Effekten auf den Chromosomen 3R, 4R und 5R lokalisiert. Um die Genauigkeit der Kopplungsanalysen zu erhöhen, wurde in der vorliegenden Studie der Umfang der F₂-Population auf 368 Genotypen vergrößert. Für die QTL-Analyse über alle Subpopulationen wurde eine Kopplungskarte (Konsensus-Karte) erstellt, die nur gemeinsame Marker enthält (siehe Abb. 3.4 und 3.5). Auch in der Konsensus-Karte erklärte der Haupt-QTL auf Chromosom 1R 64,7 % der phänotypischen Varianz. Der einzige weitere QTL, der in allen drei Subpopulationen konsistent war, ist auf Chromosom 3R lokalisiert und erklärt 8,8 % der phänotypischen Varianz. In der Gesamtpopulation fand sich allerdings zusätzlich ein QTL auf Chromosom 5R, der aber nur 4,9 % der phänotypischen Varianz erklärt. Im wesentlichen bestätigen damit die molekulargenetischen Untersuchungen die auf dem Aufspaltungsverhältnis (Tab. 3.2) basierende Hypothese eines digenischen Erbgangs mit unterschiedlichen Geneffekten. Zusätzlich können noch fertilitätsfördernde Gene mit kleiner Wirkung hinzukommen.

Wricke *et al.* (1993) lokalisierten in F₂- und Rückkreuzungs-Nachkommenschaften der Kreuzung L301-P x L18-R mit Hilfe von Isoenzymmarkern auf den Chromosomen 1R und 3R ebenfalls Bereiche, die mit der Fertilitätsrestauration assoziiert waren. Der Marker *Prx7* auf Chromosom 1R war signifikant mit einer Rekombinationsrate von 0,23 mit dem Restorerlocus gekoppelt. Er befindet sich ca. 6 cM distal des Markers *iag79* (Senft, 1996), welcher in der hier erstellten Konsensus-Karte 16,9 cM proximal des Markers *psr596* kartiert. Für den Marker *Prx7* ergaben sich für die Markerklassen, die das L18-R Allel im homo- und heterozygoten Zustand trugen, Antherenboniturmittelwerte von 6,5 und 6,8. Diese Werte stimmen gut mit dem in dieser Arbeit errechneten Antherenboniturmittel von 6,7 für die mit den fertilitätsfördernden Allelen besetzten Markerklassen von *psr596/bcd1124* überein (siehe Tab. 3.7). Das etwas höhere Antherenboniturmittel von 3,7 des Markers *Prx7* in der Markerklasse des sterilen Elters (L301-P) im Vergleich zu dem hier ermittelten Mittelwert des Markers *psr596* von 1,7, kann durch den größeren Abstand des *Prx7*-Locus zum Restorergeren erklärt werden. Außerdem läßt sich die Nichtrestorer-Linie L301-P wesentlich leichter restaurieren als die hier verwendete L145-P

(Geiger und Miedaner, 1996). Ein zweiter Restorerlocus von L18-R war in loserer Kopplung zu dem Isoenzymmarker *Tpi1* auf Chromosom 3RL lokalisiert (Schlegel *et al.*, 1998).

Zwischen den Restorerogenen auf den Chromosomen 1R (*psr596/bcd1124*) und 3R (*psr1077*) fand sich in der Gesamtpopulation eine signifikante epistatische Wechselwirkung (Tab. 3.7). Bei den Pflanzen, die nur das Hauptrestorerogen tragen, erfolgt die Wiederherstellung der männlichen Fertilität im Mittel nur bis in den partiell-fertilen Bereich (AB 5,3). Erst wenn die fertilitätsfördernden Allele beider Restorerogene der Chromosomen 1R und 3R gemeinsam vorliegen, wird eine Restauration bis in den vollständig-fertilen Bereich (AB 7,1) erreicht. Die Zusammenführung aller drei mit der Fertilitätsrestauration assoziierten Marker *psr596*, *psr1077* und *psr929* auf den Chromosomen 1R, 3R und 5R bestätigen diese Ergebnisse (Tab. 3.6). Signifikante Unterschiede zwischen den Antherenboniturmittelwerten ergaben sich nur für die Anwesenheit der Marker *psr596* und *psr1077*.

4.5 Syntäniebeziehungen zu anderen Pflanzenarten

Aufgrund der genetischen Kartierung gleicher RFLP-Sonden in unterschiedlichen Kulturarten und der chromosomalen Lokalisation von Loci für dieselben Merkmale können homoeologe Gene identifiziert werden und damit die entsprechenden Loci in noch nicht untersuchten Kulturarten schneller lokalisiert werden (Gale and Devos, 1998b). Die folgenden Positionsvergleiche von Restorerogenen aus dem Roggen, Weizen und Mais sind in Tab. 4.2 noch einmal zusammengefaßt dargestellt.

Bei Roggen wurden bisher auf fünf von sieben Chromosomen Restorerogene lokalisiert. Auf allen Chromosomen mit Ausnahme von 5R war eine Lokalisation in mehreren Quellen möglich. In loser Kopplung zu dem Marker *psr596* wurden auch in den Restorerquellen L161-R (Reinbold, 1995) und Pastorea Massaux (Dreyer, 2000) Restorerogene für Pampa-CMS lokalisiert. Da sich die Anteile der phänotypisch erklärten Varianz dieser Restorerloci sehr stark unterscheiden, handelt es sich wohl bei der L18-R (64,7 %) um ein anderes Restorerogen wie bei den beiden Restorerquellen L161-R (22,0 %) und Pastorea Massaux (18,1 %). Melz und Adolf (1991) fanden im Roggen für das alternative CMS-induzierende Gülzow- (G-) Cytoplasma in sehr geringen Allelfrequenzen auf den Chromosomen 3R (*ms2*), 4R (*ms1*) und 6R (*ms3*) männliche Sterilitätsgene (*ms*). Da dieselben Gene in vielen anderen Roggenformen die Restauration der G-CMS bewirken, schlugen Börner *et al.* (1998b) vor, diese entsprechend als die Gene *Rfg2* (*ms2*), *Rfg1* (*ms1*) und *Rfg3* (*ms3*) zu bezeichnen. Ob es sich bei dem *Rfg2*-Gen auf Chromosom 3R um das gleiche Restorerogen wie bei der L18-R handelt, kann hier nicht beantwortet werden, da für das *Rfg2*-Gen keine flankierenden Marker bekannt sind. Zumindest werden auch dem *Rfg2*-Gen,

wie dem Restorergeren auf Chromosom 3R in der L18-R geringere Effekte an der Fertilitätsrestoration zugeschrieben (Melz and Adolf, 1991).

Tab. 4.2: Positionsvergleich von Restorergeren aus Roggen, Weizen und Mais in Beziehung auf die interessierenden Roggenchromosomen 1R, 3R, 4R, 5R und 6R (S, L = kurzer bzw. langer Arm des Chromosoms)

Autor	Restorergeren bzw. -quelle	Homoeologer Chromosomenbereich bei Roggen				
		1R	3R	4R	5R	6R
Glass (1997), bzw. diese Arbeit	L18-R	1RS	3RL	4RL	5RL	
Dreyer (2000)	PG			4RL		6RL
	Iran			4RL		
	PM			4RL		
Reinbold (1995)	L161-R	1RS				6RL
Börner <i>et al.</i> (1998b)	<i>Rfg2, Rfg1, Rfg3</i>		3R	4RL		6R
Curtis and Lukaszewski (1993)	<i>Rcf4, Rcf3</i>			4RL		6RL
Ma and Sorrells (1995)	<i>Rf1, Rf2, Rf6</i>	1A		7BS	5AL	
	<i>Rf3, Rf4</i>	1BS		6BS		
	<i>RfU</i>			6		
Cui <i>et al.</i> (1996)	<i>prf2a</i> [#]			9		

[#] Die Sonde *prf2a* (Rf2-Gen aus dem Mais) wurde in der F₂ (L145-P x L18-R) auf Chromosom 4R kartiert.

Am auffälligsten häufen sich die Funde von Restorergeren auf Chromosom 4R bzw. dem syntänen Chromosomenbereich in anderen Kulturarten. So wurde die Position des *Rfg1*, welches ein Hauptrestorergeren für das G-Cytoplasma im Roggen darstellt, von Börner *et al.* (1998b) distal des Markers *psr899* auf Chromosom 4RL bestimmt. In der chromosomalen Umgebung dieses Markers sind auch die Hauptrestorergerene für das Pampa-Cytoplasma aus den exotischen Roggenpopulationen Pico Gentario (PG), Pastorea Massaux (PM) und Iran IX lokalisiert (Dreyer, 2000). Weitere Untersuchungen zeigten, daß die Hauptrestorergerene für PG und Iran IX auf 4RL mit großer Wahrscheinlichkeit dieselben Allele darstellen (Miedaner *et al.*, 2000). Auf der Kopplungskarte der Linie L161-R ist der lange Arm von Chromosom 4R nicht mit Markern abgedeckt. Bei der L18-R ließ sich für das Chromosom 4RL lediglich in der Subpopulation 3 zwischen den Markern *psr119* und *psr167* (Glass, 1997) ein QTL mit geringeren Effekten an der Fertilitätsrestoration nachweisen. Das Restorergeren *rf2* für das CMS-induzierenden Texas- (T-) Cytoplasma des Mais liegt auf dem Chromosom 9 (Cui *et al.*, 1996). Der entsprechende cDNA-

Klon *prf2a* kartierte auf Roggenchromosom 4R Dieser war jedoch weder bei L18-R noch bei den genannten exotischen Restorerquellen (Dreyer, 2000) mit den Restorerengen gekoppelt.

Beim Weizen wurden in Verbindung von verschiedenen CMS- und Restorerquellen auf den Chromosomen 1, 5, 6 und 7 Restorerene nachgewiesen (Übersicht bei Ma and Sorrells, 1995). Das *Rf3*-Gen ist zwischen den beiden Markern *mwg68* und *bcd249* auf Chromosom 1BS lokalisiert (Ma and Sorrells, 1995, Van Deynze *et al.*, 1995b). Diese beiden Sonden lieferten jedoch in der L145-P und L18-R kein auswertbares Hybridisierungsmuster. Der proximal vom Marker *bcd249* gelegene Marker *ksuE19* in der Weizenkarte wurde in der vorliegenden Subpopulation 1 erfolgreich auf Chromosom 1R kartiert (Abb. 4.1). Er wies jedoch einen Abstand von 31,1 cM zu *psr596* auf. Für das *Rf1*-Gen des Weizen auf Chromosom 1A ließen sich in der Kartierungsstudie von Ma and Sorrells (1995) keine gekoppelten Marker finden. Daher kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob das *Rf1*-Gen eventuell homoeolog zu einem der Restorerene des Roggens auf Chromosom 1R ist.

Eine interessante Beziehung zwischen dem sterilitätsinduzierenden *Timopheevi*-Cytoplasma und der Fertilitätsrestauration des Roggens stellten schon Porter and Tuleen (1972) bei Weizen fest. Die männliche Sterilität des Weizens kann durch praktisch jeden Roggengenotyp wieder aufgehoben werden, weshalb das *Timopheevi*-Cytoplasma bei dem Gattungsbastard *Triticale* normalerweise keine CMS auslöst. In einer Untersuchung mit Weizen-Roggen-Additionslinien identifizierten Curtis and Lukaszewski (1993) im Roggen zwei Gene auf den Chromosomen 4R und 6R, die hexaploiden Weizen im *Timopheevi*-Cytoplasma restaurieren. Die Position des *Rfc4*-Gens auf Chromosom 4RL wird mit mindestens 8,0 cM vom Zentromer und 16,1 cM vom Telomer entfernt angegeben. Ma and Sorrells (1995) lokalisierten wiederum in einer Weizen-Restorerquelle das *Rf4*-Gen in Kopplung mit dem Marker *ksuG48* auf Chromosom 6BS, welches homoeolog zum unteren Teil des Roggenchromosoms 4RL ist (Devos *et al.*, 1993). Das zweite von Curtis and Lukaszewski (1993) im Roggen nachgewiesene Restoreren *Rfc3* befindet sich auf dem unteren Teil des langen Arms von Chromosom 6R. Auf diesem Chromosomenarm lokalisierten auch Melz und Adolf (1991) ein sterilitätserhaltendes Gen (*ms3* = *Rfg3*) für das Gülzow-Cytoplasma und Reinbold (1995) in der Linie L161-R ein Restoreren für das Pampa-Cytoplasma ca. 31 cM distal des Markers *iag23*.

Ein weiteres Restoreren, welches sich im Weizen und im Roggen an einer vergleichbarer chromosomalen Position befindet, ist das *Rf6*-Gen des Weizens (Ma and Sorrells, 1995). Dieses ist beim Weizen auf Chromosom 5AL in dem Markerintervall *ksuH1* und *cdo786* lokalisiert. Der Marker *cdo786* weist in der Kopplungskarte von Loarce *et al.* (1996) einen Abstand von 2,5 cM zu dem Marker *psr628* auf. Der Marker *psr628* ist in der Kopplungskarte von Subpopulation 3 (Glass, 1997) zwischen den Markern *psr929* und *psr911* im selben Bereich wie ein Minor-Restoreren von L18-R lokalisiert.

Zusammenfassend zeigen sich bisher bei Roggen zwei Varianten der Pollenfertilitätsrestauration. Die bisher untersuchten in europäischen Herkünfte (L18-R, L161-R) zeigten übereinstimmend ein Hauptgen auf Chromosom 1RS sowie mehrere weitere Gene mit kleinerer Wirkung auf anderen Chromosomen. Die exotischen Herkünfte (PG, Iran IX, PM) dagegen unterlagen einer monogenischen Vererbung mit dem Restorer gen auf Chromosom 4RL (Miedaner *et al.*, 2000). Wenn hier Minorgene gefunden wurden, stammten sie ausnahmslos von der Mutterkomponente (Miedaner *et al.*, 2000). Die bisher für das CMS-induzierende G-Cytoplasma gefundenen Restorer gene folgen dem ersten Typ (Börner *et al.*, 1998b), da neben dem *Rfg1*-Gen noch die Restorer gene *Rfg2* und *Rfg3* für die Fertilitätsrestauration des Gülzow-Cytoplasmas benötigt werden. Obwohl sich die beiden Sterilcytoplasmen Pampa und Gülzow durch ihre Herkunft und Stabilität die CMS zu exprimieren sehr stark unterscheiden, könnte es sich auf Chromosom 4RL um homologe Restorer gene handeln. Daß beim Roggen auch in Bezug auf unterschiedliche Sterilcytoplasmen die gleichen chromosomalen Bereiche mit der Fertilitätsrestauration assoziiert sind, zeigen die Versuche von Curtis und Lukaszewski (1993) bei Weizen-Roggen Additionslinien.

4.6 Beziehungen zwischen Wuchshöhe und Fertilitätsrestauration

In den Subpopulationen 1 und 3 wurden an vergleichbaren Positionen auf den Chromosomen 1R, 3R und 7R QTL für die Wuchshöhe gefunden. Im simultanen Fit über alle fünf detektierten QTL wurden aber nur 38,2 % der phänotypischen Varianz erklärt. Dies deutet darauf hin, daß sich in Chromosomenbereichen, die in der F₂ (L145-P x L18-R) nicht mit Markern abgedeckt sind, zusätzliche Loci für die Wuchshöhe befinden. Ein weiterer Grund für den geringen Anteil erklärter Varianz stellen die wenigen gemeinsamen Marker in den Subpopulationen 1 und 3 dar.

Bei Kreuzungsexperimenten mit auto- und alloplasmatischen Roggenlinien zeigten Linien im Pampa-Cytoplasma eine Reduktion in den Merkmalen Wuchshöhe, Ähren je Pflanze und Korngewicht je Pflanze (Geiger, 1983). In einer weiteren Untersuchung wiesen die pollensterilen Linien im Pampa-Cytoplasma eine um 4,2 bis 13,3 cm verringerte Wuchshöhe im Vergleich zu den Linien im Normal-Cytoplasma auf (Marker *et al.*, 1985). In der F₂ (L145-P x L18-R) führte das Pampa-Cytoplasma bei den ms und pmf Pflanzen zu einer Reduktion der Wuchshöhe. Die ms Pflanzen wiesen eine signifikant um 16,2 % verringerte Wuchshöhe im Vergleich zum Populationsmittel auf. Die pmf-Pflanzen lagen dagegen nur noch 1,9 % unter und die mf-Pflanzen 3,4 % über dem Populationsmittel. Dieser Zusammenhang zeigt sich auch in der mittleren Korrelation von $r = 0,45$ ($P \leq 0,01$; siehe Tab. 3.9). Außerdem waren die QTLs für die Antherenbonitur und die Relative Wuchshöhe in identischen Chromosomenbereichen lokalisiert (siehe Tab. 3.5 und Tab. 3.8).

Denkbar wäre daher, daß die Restorerogene der Chromosomen 1R und 3R zusätzlich die Wuchshöhe beeinflussen (Pleiotropie), was aus züchterischer Sicht von Nachteil wäre. In Kombination ergeben die beiden fertilitätsfördernden Restorerallele von Chromosom 1R und 3R eine mittlere Relative Wuchshöhe von 102,9 %. Fehlt dagegen eines der positiven Restorerallele wird die Relative Wuchshöhe im Markerklassenmittel auf 95,6 % reduziert. Werden beide Restorerloci mit den Allelen der L145-P besetzt sind die Pflanzen männlich-steril und die mittlere Relative Wuchshöhe geht auf 91,6 % zurück. Ob die Restorerogene auf den Chromosomenarmen 1RS und 3RL einen pleiotropen Effekt auf die Wuchshöhe haben, oder ob es sich dabei um gekoppelte Loci für Fertilitätsrestauration und Wuchshöhe handelt, konnte aufgrund dieser Studie nicht geklärt werden. Eine genaue Aufklärung wäre nur durch eine Feinkartierung aller beteiligten QTL möglich gewesen.

Gegen Pleiotropie spricht, daß es auch kürzere Pflanzen gibt, die gut stäuben, was auf ein Rekombinationsereignis zwischen den Restorerloci und den QTL für Wuchshöhe hinweist. In einer weiteren Kartierungsstudie mit exotischen Restorerquellen wurden ebenfalls gemeinsame Bereiche für Hauptrestorerogene und wichtigen QTL für die Wuchshöhe entdeckt. Dabei waren rund 20% der pollenfertilen Einzelpflanzen der Kartierungspopulation auch in einer kürzeren Wuchshöheklasse (Miedaner *et al.*, 2000).

Außerdem weisen die exotischen Restorerquellen, wie auch die Linie L18-R einen höheren Wuchs als die jeweilige Mutterkomponente auf. Eine Überprüfung auf Pleiotropie wäre daher durch ein Kreuzungsexperiment mit einer niedrigeren Restorerquelle und anschließender Kartierung der beteiligten QTL auf den Chromosomen 1R und 3R möglich. Träten die Wuchshöhe-QTL immer noch in Verbindung mit den Restorergenen auf, so spräche dies für Pleiotropie. Weiteren Aufschluß könnten Restorerquellen geben, die im Normal- und Sterilcytoplasma vorliegen. Bei einer „guten“ Restorerquelle im Sterilcytoplasma sollte es zu keiner wesentlichen Wuchshöhenreduktion gegenüber der Variante im Normalcytoplasma kommen.

4.7 Perspektiven der marker-gestützten Rückkreuzung (MAB) zur Verbesserung der Pollenfertilitätsrestauration

Durch den Einsatz von molekularen Markern in der Pflanzenzüchtung kann die Einlagerung von einem mono- oder oligogenischen Merkmal in bestehendes Zuchtmaterial kontrolliert werden. Da die Pflanzen bei der marker-gestützten Selektion unabhängig vom Phänotyp selektiert werden, ist eine Beschleunigung des Zuchtprogramms möglich. Der Einsatz von molekularen Markern in der praktischen Züchtung lohnt sich vor allem dann, wenn das Merkmal

phänotypisch aufwendig zu erheben ist, die Marker sehr eng gekoppelt und die Markerkosten gering sind. Ferner ist im vorliegenden Fall nur durch Markereinsatz die epistatische Wirkung der Restorgene auf den Chromosomen 1R und 3R nutzbar. Sie ist aber nötig, um durch markergestützte Rückkreuzung (MAB, marker-assisted backcrossing) zur Einlagerung der fertilitätsfördernden Loci der Linie L18-R in den Pollenelterformenkreis vollständig fertile Pflanzen zu erzielen.

Bei der untersuchten Restorerlinie L18-R konnten für das Majorgen auf Chromosom 1R hinreichend eng gekoppelte RFLP-Marker gefunden werden (siehe Abschnitt 4.3). Die Lokalisation der Minorgene auf den Chromosomen 3R und 5R basierte ausschließlich auf den QTL-Analysen.

Mit den Ergebnissen der vorliegenden Kartierungspopulation von 327 Einzelpflanzen kann der erste Schritt einer MAB im Hinblick auf die nötige Anzahl von Markern simuliert werden (Abb. 4.2).

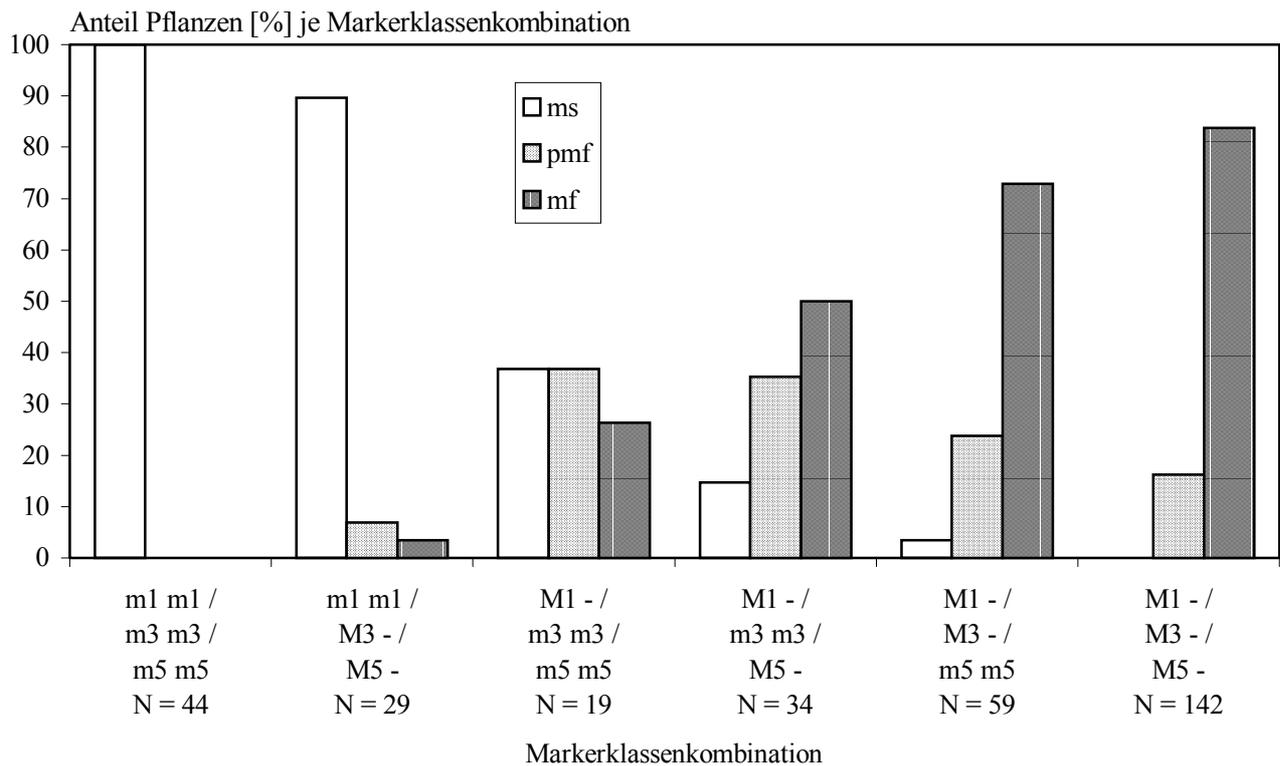


Abb. 4.2: Anteil männlich-steriler (ms), partiell männlich-fertiler (pmf) und männlich-fertiler (mf) Pflanzen in Abhängigkeit der verwendeten Marker (M1: *psr596*, M3: *psr1077* und M5: *psr929*) bei 327 Einzelpflanzen (N = Anzahl Einzelpflanzen in der jeweiligen Markerklassenkombination).

Ohne das Majorgen auf Chromosom 1R erfolgt keine Pollenfertilitätsrestoration. Faßt man jedoch alle Einzelpflanzen mit nur diesem Restorerallel zusammen, so finden sich lediglich 26,3 % vollständig männlich-fertile Individuen. Die Hinzunahme der fertilitätsfördernden Minorogene auf Chromosom 5R bzw. 3R erhöht diesen Anteil auf 50,0 % bzw. 72,9 %. Der höchste Prozentsatz männlich-fertiler Pflanzen (83,8 %) ergibt sich, wenn alle drei Restorerallele homo- oder heterozygot im selben Genotyp vorliegen.

Um den Anteil der „falsch-positiven“ Pflanzen in einer markergestützte Rückkreuzung zu reduzieren, sollte jedes Merkmalsgen durch zwei flankierende Marker überprüft werden. Der finanzielle und zeitliche Aufwand für die Laboruntersuchungen steigt daher bei einem Merkmal, welches, wie bei der Linie L18-R, durch mehrere Gene vererbt wird, stark an. Ein möglicher Kompromiß wäre die Beschränkung auf die beiden epistatisch zusammenwirkenden Restorerogene auf den Chromosomen 1R und 3R. Sofern es sich bei den Restorer und Wuchshöhe fördernden Genen um unterschiedliche Gene handeln sollte, müßte eine ausschließlich auf Marker basierende Rückkreuzung auch berücksichtigen, daß die Wuchshöhe fördernden Allele der L18-R nicht mit übertragen werden. Da aber auch die agronomische Leistung der L18-R ungenügend ist, wäre wahrscheinlich eine kombinierte phänotypische und marker-gestützte MAB, zumindest in den ersten Schritten, am sinnvollsten.

Die RFLP-Technik stellt eine zeitaufwendige und kostenintensive Markertechnik dar. Für die Verwendung in einer MAB müßten die RFLP-Marker daher zunächst in PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) -basierende Marker, wie STS- (Sequence tagged site), SCAR- (Sequence characterized amplified region) oder CAPS- (Cleaved amplified polymorphic sequence) Marker, umgewandelt werden.

5 Zusammenfassung

Die Hybridzüchtung ermöglicht beim Roggen und bei einer Reihe von anderen Nutzpflanzen durch die systematische Nutzung von Heterosiseffekten eine Steigerung und Stabilisierung der Ertragsleistung. Die Erstellung von Hybriden erfordert beim fremdbefruchtenden Roggen aufgrund der zwittrigen Blüte ein effizientes System zur Befruchtungslenkung. Für die Hybridsaatguterzeugung wird dafür das Pampa-(P-)Cytoplasma eingesetzt, das eine cytoplasmatisch-genische männliche Sterilität (CMS) induziert. Die Restauration der Pollenfertilität erfolgt durch die Kreuzung mit einem Pollenelter, welcher im Kern lokalisierte, dominante Restorerogene trägt. Die zur Zeit verwendeten Restorerquellen bewirken bei normalem Wetter eine ausreichende Fertilitätsrestauration der Hybriden, um einen vollen Kornansatz zu gewährleisten. Die Pollenschüttung kann jedoch bei feucht-kaltem Wetter vermindert sein, was zu einem erhöhten Besatz mit Mutterkorn (*Claviceps purpurea*) führt. Um Aufschluß über die Anzahl, Lokalisation und Wirkungsweise der Restorerogene der Inzuchtlinie L18-R zu erhalten und um einen Vergleich verschiedener, bereits lokalisierter Restorerquellen zu ermöglichen, wurden markergestützte Vererbungsanalysen durchgeführt. Die Linie L18-R stellt eine wirksame Restorerquelle aus dem deutschen Roggenmaterial dar. Die Ziele der vorliegenden Arbeit waren, a) in einer auf 368 Genotypen vergrößerten F₂-Population enger gekoppelte RFLP-Marker für das Majorgen und die Minorgene zu finden, b) Genwechselwirkungen zwischen den Restorerogenen sowie zwischen der Fertilitätsrestauration und der Wuchshöhe zu analysieren, c) Syntäniebeziehungen zu anderen Kulturarten herzustellen.

Die Pflanzen der F₂-Population wurden vegetativ in vier Teile geklont und an zwei Feldstandorten in zwei Wiederholungen angebaut. Zur Blüte wurde mehrfach der Grad der Pollenschüttung visuell auf einer Skala von 1 - 9 geschätzt (Antherenbonitur (AB), 1 = männlich-steril, 9 = männlich-fertil). Ferner erfolgte eine Wuchshöhenmessung. Die F₂-Population zeigte eine bimodale Häufigkeitsverteilung der Antherenboniturmittelwerte, mit je einem Maximum im männlich-sterilen und im fertilen Bereich. Aufgrund der Häufigkeitsverteilung der Antherenboniturnoten sind ein monogener Erbgang (3:1-Spaltung) oder ein digenisch komplementärer Erbgang mit ungleichen Geneffekten (9:3:4-Spaltung) bei der Fertilitätsrestauration möglich.

Bei der Auswahl der RFLP-Sonden für die Kartierung wurden die mit der Fertilitätsrestauration assoziierten Marker einer früheren Studie als Ankerloci für den Vergleich mit Kopplungskarten anderer Getreidearten genutzt. Mit 2 Roggensonden und 80 heterologen Sonden aus Weizen, Gerste, Hafer, Reis und Mais gelang es, insgesamt 92 Markerloci zu kartieren, die eine Genomlänge von 845 cM abdeckten. Die Analyse der QTL (quantitative trait loci) ergab einen Haupt-QTL auf Chromosomenarm 1RS, der 64,7 % der phänotypischen Varianz erklärte und zwei weitere QTL mit geringeren Effekten auf den Chromosomenarmen 3RL und 5RL mit 8,8 %

bzw. 4,9 % erklärter Varianz. Das Majorgen auf Chromosomenarm 1RS hat einen Abstand von 0,3 cM zu den beiden am engsten gekoppelten Markern *psr596* und *bcd1124*, die ihrerseits in einem 11,9 cM-Intervall zwischen den Markern *mwg2056* und *psr634* lokalisiert sind.

Die Analyse der Genwechselwirkungen ergab epistatische Effekte zwischen dem Majorgen auf Chromosomenarm 1RS (Marker: *psr596/bcd1124*) und dem Minorgen auf Chromosomenarm 3RL (Marker: *psr1077*). Ohne das Majorgen waren die im Pampa-Cytoplasma vorliegenden Pflanzen unabhängig vom Vorhandensein von Minorgenen männlich-steril (AB-Mittelwert 1,7). Bei den Pflanzen, die nur das Hauptrestorergergen trugen, erfolgte die Wiederherstellung der männlichen Fertilität im Mittel bis in den partiell-fertilen Bereich (AB 5,3). Erst wenn die beiden Restorergerne der Chromosomenarme 1RS und 3RL gemeinsam vorlagen, wurde eine Fertilitätsrestauration bis in den fertilen Bereich erreicht (AB 7,1).

Pollensterile Linien im Pampa-Cytoplasma zeigen für gewöhnlich eine um 5 bis 10 % reduzierte Wuchshöhe im Vergleich zu ihren Erhalter-Linien im Normal-Cytoplasma. Auf einen Zusammenhang zwischen der Antherenbonitur und der Wuchshöhe deutete auch die Korrelation von $r = 0,45$ ($P \leq 0,01$) in der vorliegenden F_2 -Population hin. Die QTL-Analyse für die Wuchshöhe ergab fünf QTL auf den Chromosomenarmen 1RS, 3RL, 5RL, 6RL und 7RS, die gemeinsam 38,2 % der phänotypischen Varianz erklärten. Bei den beiden QTL auf den Chromosomenarmen 5RL und 6RL stammte das Wuchshöhe fördernde Allel von der Mutterlinie L145-P. Die QTL-Intervalle für Wuchshöhe auf den Chromosomen 1R und 3R überlappten sich mit denen der Fertilitätsrestauration. Ob die Restorergerne auf den Chromosomenarmen 1RS und 3RL einen pleiotropen Effekt auf die Wuchshöhe haben oder ob es sich dabei um gekoppelte Loci für Fertilitätsrestauration und Wuchshöhe handelt, konnte aufgrund dieser Studie nicht geklärt werden.

In der Studie wurden für das Majorgen der Fertilitätsrestauration auf Chromosom 1R mehrere eng gekoppelte, flankierende Marker gefunden. Daneben konnte der Einfluß von zwei modifizierenden Minorgenen auf den Chromosomenarmen 3RL und 5RL bestätigt werden, von denen das Gen auf Chromosomenarm 3RL epistatische Interaktionen mit dem Majorgen auf Chromosomenarm 1RS zeigte. Das lokalisierte Majorgen auf Chromosomenarm 1RS unterscheidet sich aufgrund der flankierenden Marker in seiner Position deutlich vom *Rf3*-Gen des Weizens, das auf dem homoeologen Chromosomenarm 1BS lokalisiert ist. Die Position des *Rf6*-Gens des Weizens auf Chromosomenarm 5AL stimmt dagegen gut mit der Position des Minorgens auf Chromosomenarm 5RL überein. Die positive Beziehung zwischen Fertilitätsrestauration und Pflanzenlänge stellt aus züchterischer Sicht einen Nachteil dar. Es gab jedoch zu einem geringen Anteil auch kürzere Pflanzen mit hoher Pollenfertilität, die in größeren Populationen eine gemeinsame Selektion auf Pollenfertilität und Kurzstrohigkeit aussichtsreich erscheinen lassen.

6 Literaturverzeichnis

- Ahn S., J.A. Anderson, M.E. Sorrells, and S.D. Tanksley. 1993. Homoeologous relationships of rice, wheat and maize chromosomes. *Mol. Gen. Genet.* 241: 483-490.
- Anscombe F.J. and J.W. Tukey. 1963. The Examination and Analysis of Residuals. *Technometrics*, Vol. 5, No. 2: 141-160.
- Bailey-Serres J., D.K. Hanson, T.D. Fox, and C.J. Leaver. 1986a. Mitochondrial genome rearrangements leads to extension and relocation of chytochrom c oxidase subunit I gene in *Sorghum*. *Cell* 47: 567-576.
- Bateson, W. and A.E. Gairdner. 1921. Male-sterility in flax, subject to two types of segregation. *J. Genet.* 11: 269-275.
- Becker H.C.. 1993. Pflanzenzüchtung. Ulmer Verlag, Stuttgart
- Belliard G., G. Pelletier, F. Vedel, and F. Quetier. 1978. Morphological characteristics and chloroplast DNA distribution in different cytoplasmic parasexual hybrids of *Nicotiana tabacum*. *Mol. Gen. Genet.* 165: 231-237.
- Börner A., V. Korzun, A. Polley, S. Malyshev, and G. Melz. 1998b. Genetics and molecular mapping of a male fertility restoration locus (Rfg1) in rye (*Secale cereale* L.). *Theor. Appl. Genet.* 97: 99-102.
- Causse M.A., T.M. Fulton, Y.G. Cho, S.N. Ahn, J. Chunwongse, K. Wu, J. Xiao, Z. Yu, P.C. Ronald, S.E. Harrington, G. Second, S.R. McCouch, and S.D. Tanksley. 1994. Saturated Molecular Map of the Rice Genome Based on an Interspecific Backcross Population. *Genetics* 138: 1251-1274.
- Clark, E.M., S. Izhar, and M.R. Hanson. 1985. Independant segregation of the plastid genome and cytoplasmatic male sterility in *Petunia* somatic hybrids. *Mol. Gen. Genet.* 199: 440-445.
- Cui X., R.P. Wise, and P.S. Schnable. 1996. The rf2 nuclear restorer gene of male-sterile T-cytoplasm maize. *Science* 272: 1334-1336.
- Curtis C.A. and A.J. Lukaszewski. 1993. Localization of Genes in Rye that Restore male Fertility to Hexaploid Wheat with timopheevi Cytoplasm. *Plant Breeding* 111: 106-112.
- Devos K.M., M.D. Atkinson, C.N. Chinoy, C.J. Liu, and M.D. Gale. 1992. RFLP-based genetic map of the homoeologous group 3 chromosomes of wheat and rye. *Theor. Appl. Genet.* 83: 931-939.

- Devos K.M., M.D. Atkinson, C.N. Chinoy, H.A. Francis, R.L. Harcourt, R.M.D. Koebner, C.J. Liu, P. Masojc, D.X. Xie, and M.D. Gale. 1993. Chromosomal rearrangements in the rye genome relative to that of wheat. *Theor. Appl. Genet.* 85: 673-680.
- Devos K.M. and M.D. Gale. 1993. Extended genetic maps of the homoeologous group 3 chromosomes of wheat, rye and barley. *Theor. Appl. Genet.* 85: 649-652.
- Devos K.M., J. Dubcovsky, J. Dvorak, C.N. Chinoy, and M.D. Gale. 1995b. Structural evolution of wheat chromosomes 4A, 5A, and 7B and its impact on recombination. *Theor. Appl. Genet.* 91: 282-288.
- Devos K.M. and M.D. Gale. 1997. Comparative genetics in the grasses. *Plant Molecular Biology* 35: 3-15.
- Dewey R.E., C.S. Levings III, and D.H. Timothy. 1986. Novel recombinations in the maize mitochondrial genome produce a unique transcriptional unit in the Texas male-sterile cytoplasm. *Cell* 44: 439-449.
- Dohmen G., H. Hessberg, H.H. Geiger, and P. Tudzynski. 1994. CMS in rye: comparative RFLP and transcript analyses of mitochondria from fertile and male-sterile plants. *Theor. Appl. Genet.* 89: 1014-1018.
- Dreyer F.. 2000. Chromosomale Lokalisation von Restorerogenen argentinischer und iranischer Herkunft in F₂-Populationen von Winterroggen (*Secale cereale* L.). Diss., Univ. Hohenheim.
- Dubcovsky J., M.-C. Luo, G.-Y. Zhong, R. Bransteitter, A. Desai, A. Kilian, A. Kleinhofs, and J. Dvorak. 1996. Genetic map of diploid wheat, *Triticum monococcum* L., and its comparisons with maps of *Hordeum vulgare* L.. *Genetics* 143: 983-999.
- Edwardson J.R.. 1970. Cytoplasmatic male sterility. *Bot. Rev.* 36: 341-420.
- Fruwirth C.. 1913. Geschlechtliche Mischung von Roggenformenkreisen. *Z. Pflanzenzüchtung* 1: 504-507.
- Gale M.D. and K.M. Devos. 1998a. Comparative genetics in the grasses. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95: 1971-1974.
- Gale M.D. and K.M. Devos. 1998b. Plant Comparative Genetics after 10 Years. *Science* 282: 656-658.
- Geiger H.H.. 1972. Wiederherstellung der Pollenfertilität in cytoplasmatisch männlich sterilem Roggen. *Theor. Appl. Genet.* 42: 32-33.
- Geiger H.H.. 1982. Breeding methods in diploid rye (*Secale cereale* L.). Tag.-Ber., Akad. Landwirtsch.-Wiss. DDR, Berlin, 198: 305-332.

- Geiger H.H.. 1983. Untersuchungen zur Ausprägung quantitativer Merkmale in reziproken Kreuzungen zwischen auto- und alloplasmatischen Roggenlinien. S. 135-142. In Bericht über die 34. Arbeitstagung 1983 der Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtleiter in Gumpenstein, Österreich.
- Geiger H.H.. 1988b. Kap. 2 Züchtung. S. 25-43. In W. Seibel und W. Steller: Roggen-Anbau, Verarbeitung, Markt. Behr's Verlag. Hamburg.
- Geiger H.H.. 1990. Wege, Fortschritte und Aussichten der Hybridzüchtung. S. 41-72. In G. Haug, G. Schuhmann und G. Fischbeck (Hrsg.) Pflanzenproduktion im Wandel. VCH Verlagsges., Weinheim.
- Geiger H.H. and F.W. Schnell. 1970a. Cytoplasmic male sterility in rye (*Secale cereale* L.). Crop Sci. 10: 590-593.
- Geiger H.H. und F.W. Schnell. 1973. Hybridzüchtung, ein Weg zu höheren Leistungen des Roggens. Getreide, Mehl und Brot 27: 245-249.
- Geiger H.H. und K. Morgenstern. 1975. Angewandt-genetische Studien zur cytoplasmatischen Pollensterilität bei Winterroggen. Theor. Appl. Genet. 46: 269-276.
- Geiger H.H. und K. Morgenstern. 1979. Stand der Hybridzüchtung bei Roggen. Getreide, Mehl und Brot 33: 225-231.
- Geiger H.H. und P. Wilde. 1985. Grundlagen der Hybridzüchtung bei Roggen. S. 107-124. In Bericht über die 36. Arbeitstagung 1985 der Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtleiter in Gumpenstein, Österreich.
- Geiger H.H., Y. Yuan, T. Miedaner, and P. Wilde. 1995. Environmental sensitivity of cytoplasmic genic male sterility (CMS) in *Secale cereale* L.. pp. 7-17. In U. Kück and G. Wricke (eds.). Genetic mechanisms for hybrid breeding. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin.
- Geiger H.H. and T. Miedaner. 1996. Genetic basis and phenotypic stability of male-fertility restoration in rye. Vortr. Pflanzenzüchtg. 35: 27-38.
- Gill K.S., B.S. Gill, T.R. Endo, and E.V. Boyko. 1996a. Identification and High-Density Mapping of Gene-Rich Regions in Chromosome Group 5 of Wheat. Genetics 143: 1001-1012.
- Gill K.S., B.S. Gill, T.R. Endo, and T. Taylor. 1996b. Identification and High-Density Mapping of Gene-Rich Regions in Chromosome Group 1 of Wheat. Genetics 144: 1883-1891.
- Glass C.. 1997. Chromosomale Lokalisation von Genen für die Restauration der männlichen Fertilität mit RFLP-Markern bei der Winterroggenlinie L18. Diss., Univ. Hohenheim.

- Graner A., A. Jahoor, J. Schondelmaier, H. Siedler, K. Pillen, G. Fischbeck, G. Wenzel, and R.G. Herrmann. 1991. Construction of an RFLP map of barley. *Theor. Appl. Genet.* 83: 250-256.
- Graner A., E. Bauer, A. Kellermann, S. Kirchner, J.K. Muraya, A. Jahoor, and G. Wenzel. 1994. Progress of RFLP-map construction in winter barley. *Barley Genet. Newsl.* 23: 53-59.
- Haldane J.B.S.. 1919. The combination of linkage values, and the calculation of distances between the loci of linked factors. *J. Genet.* 8: 299-309.
- Hallauer A.R. and J.B. Miranda Fo. 1981. Quantitative genetics in maize breeding. Iowa State Univ. Press, Ames, IA.
- Hanson M.R.. 1991. Plant mitochondrial mutations and male sterility. *Annu. Rev. Genet.* 25: 461-486.
- Hoisington D., M. Khairallah, and D. Gonzalez-de-Leon. 1994. Laboratory Protocols: CYMMIT Applied Molecular Genetics Laboratory. Second Edition. El Batan, Mexico. D.F.: CYMMIT.
- Holford P., J. Croft, and H. Newbury. 1991. Structural studies of microsporogenesis in fertile and male-sterile onions containing CMS-S cytoplasm. *Theor. Appl. Genet.* 82: 745-755
- Holm S.. 1979. A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scand. J. Statist.* 6: 65-70.
- Horn R.. 1997. Untersuchungen der cytoplasmatischen männlichen Sterilität (CMS) und Entwicklung neuer CMS-Systeme für die Züchtung der Sonnenblume (*Helianthus annuus* L.). Habilitationsschrift, Justus-Liebig-Universität Gießen..
- Kamps T.L., D.R. McCarty, and C.D. Chase. 1996. Gametophyte Genetics in *Zea mays* L.: Dominance of a Restoration-of-Fertility Allele (*Rf3*) in Diploid Pollen. *Genetics* 142: 1001-1007.
- Kearsey M.J. and H.S. Pooni. 1996. The genetical analysis of quantitative traits. Chapman and Hall, London.
- Kellogg E.A.. 1998. Relationships of cereal crops and other grasses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 2005-2010.
- Kleinhofs A., A. Kilian, M.A. Saghai Maroof, R.M. Biyashev, P. Hayes, F.Q. Chen, N. Lapitan, A. Fenwick, T.K. Blake, V. Kanazin, E. Ananiev, L. Dahleen, D. Kudrna, J. Bollinger, S.J. Knapp, B. Liu, M. Sorrells, M. Heun, J.D. Franckowiak, D. Hoffman, R. Skadsen, and B.J. Steffenson. 1993. A molecular, isozyme and morphological map of the barley (*Hordeum vulgare*) genome. *Theor. Appl. Genet.* 86: 705-712.

- Korzun V., S. Malyshev, N. Kartel, T. Westermann, W.E. Weber, and A. Börner. 1998a. A genetic linkage map of rye (*Secale cereale* L.). *Theor. Appl. Genet.* 96: 203-208.
- Kück U., B. Laser, S. Mohr, E. Schulte-Kappert, C. Nowak, G. Oettler, B. Pfeiffer-Schad, C.U. Hesemann, R. Weigel, U. Pfeil, M. Stierle, T. Stoesser, K. van der Kuip, M. Wolf, and W. Odenbach. 1995. CMS in Wheat and Triticale. pp. 19-36. *In* U. Kück and G. Wricke (eds.). Genetic mechanisms for hybrid breeding. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin.
- Lander E.S. and D. Botstein. 1989. Mapping Mendelian Factors Underlying Quantitative Traits Using RFLP Linkage Maps. *Genetics* 121: 185-199.
- Landry B.S., N. Hubert, T. Etoh, J.J. Harada, and S.E. Lincoln. 1991. A genetic map for *Brassica napus* based on restriction fragment length polymorphisms detected with expressed DNA sequences. *Genome* 34: 543-552.
- Langridge P., A. Karakousis, N. Collins, J. Kretschmer, and S. Manning. 1995. A consensus linkage map of barley. *Molecular Breeding* 1: 389-395.
- Laser K.D. and N.R. Lersten. 1972. Anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterile angiosperms. *Bot. Rev.* 38: 425-454.
- Levings III C.S. and I.K. Vasil (ed.). 1995. *The Molecular Biology of Plant Mitochondria*. Kluwer Verlag.
- Lincoln S.E., M.J. Daly, and E.S. Lander. 1993. Constructing genetic linkage maps with MAPMAKER/EXP. Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA.
- Loarce Y., G. Hueros, and E. Ferrer. 1996. A molecular linkage map of rye. *Theor. Appl. Genet.* 93: 1112-1118.
- Ma Z.-Q. and M.E. Sorrells. 1995. Genetic Analysis of Fertility Restoration in Wheat Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. *Crop Sci.* 35: 1137-1143.
- Madej L.. 1976. Genetical characteristic of three male sterility sources in rye (*Secale cereale* L.) (poln.). *Hod. Rosl. Aklim. i Nas.* 20: 157-174.
- Marino C.L., J.C. Nelson, Y.H. Lu, M.E. Sorrells, P. Leroy, N.A. Tuleen, C.R. Lopes, and G.E. Hart. 1996. Molecular genetic maps of the group 6 chromosomes of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.). *Genome* 39: 359-366.
- Marker R.M., H.H. Geiger, and P. Wilde. 1985. Influence of 'Pampa' cytoplasm on agronomic characters of F₂ crosses among inbred lines of winter rye. pp. 279-292. *In* Proc. Part. I Eucarpia Meeting of the Cereal Section on Rye. Svalöv, Sweden.
- Melchinger A.E. and R.K. Gumber. 1997. Overview of heterosis and heterotic groups in agronomic crops. p. 29-44. *In* K.R. Lamkey and J.E. Staub (ed.) Concepts and breeding of heterosis in crop plants. CSSA Spec. Publ. 25 ASA and CSSA. Madison, WI.

- Melz G. and K. Adolf. 1991. Genetic analysis of rye (*Secale cereale* L.) Genetics of male sterility of the G-type. Theor. Appl. Genet. 82: 761-764.
- Melz G., R. Schlegel, and V. Thiele. 1992. Genetic linkage map of rye (*Secale cereale* L.). Theor. Appl. Genet. 85: 33-45.
- Miedaner T. und H.H. Geiger. 1997. Fortschritte in der Hybridzüchtung bei Winterroggen. S.51-56. In Bericht über die 48. Arbeitstagung 1997 der Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtler in Gumpenstein, Österreich.
- Miedaner T., C. Glass, F. Dreyer, P. Wilde, H. Wortmann, and H.H. Geiger. 2000. Mapping of genes for male-fertility restoration in 'Pampa' CMS winter rye (*Secale cereale* L.). Theor. Appl. Genet. 101 (8): 1226-1233.
- Miller J.C. and S.D. Tanksley. 1990a. Effect of different restriction enzymes, probe source and probe length on detecting restriction fragment length polymorphism in tomato. Theor. Appl. Genet. 80: 385-389.
- Nadeau J.H. and D. Sankoff. 1998. Counting on comparative maps. TIG. Vol. 14, No. 12: 495-501.
- Nelson J.C., A.E. Van Deynze, E. Autrique, M.E. Sorrells, Y. H. Lu, M. Merlino, M. Atkinson, and P. Leroy. 1995a. Molecular mapping of wheat. Homoeologous group 2. Genome 38: 516-524.
- Nelson J.C., A.E. Van Deynze, E. Autrique, M.E. Sorrells, Y. H. Lu, S. Negre, M. Bernard, and P. Leroy. 1995b. Molecular mapping of wheat. Homoeologous group 3. Genome 38: 525-533.
- Nelson J.C., M.E. Sorrells, A.E. Van Deynze, Y.H. Lu, M. Atkinson, M. Bernard, P. Leroy, J.D. Faris, and J.A. Anderson. 1995c. Molecular Mapping of Wheat: Major Genes and Rearrangements in Homoeologous Groups 4, 5, and 7. Genetics 141: 721-731.
- Newton K.J.. 1988. Plant mitochondrial genomes organisation, expression and variation. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 39, 503-532.
- O'Donoghue L.S., S.F. Kianian, P.J. Rayapati, G.A. Penner, M.E. Sorrells, S.D. Tanksley, R.L. Phillips, H.W. Rines, M. Lee, G. Fedak, S.J. Molnar, D. Hoffman, C.A. Salas, B. Wu, E. Autrique, and A. Van Deynze. 1995. A molecular linkage map of cultivated oat. Genome 38: 368-380.
- Philipp U., P. Wehling, and G. Wricke. 1994. A linkage map of rye. Theor. Appl. Genet. 88: 243-248.
- Plaschke J., V. Korzun, R.M.D. Köbner, and A. Börner. 1995. Mapping of the GA3-insensitive dwarfing gene *ctl* on chromosome 7R in rye. Plant Breeding 114: 113-116.

- Porter K.B. and N.A. Tuleen. 1972. Cross breeding male-sterile wheat (*Triticum aestivum* L.) and rye (*Secale* spp.). *Crop Sci.* 12: 706-708.
- Putt E.D.. 1954. Cytogenetic studies of sterility in rye. *Can. J. Agri. Sci.* 34: 81-119.
- Qi X., P. Stam, and P. Lindhout. 1996. Comparison and integration of four barley genetic maps. *Genome* 39: 379-394.
- Reinbold H.. 1995. Kartierung von Restorer genen mit RFLP-Markern in einer F₂-Population von Winterroggen. Diplomarbeit, Univ. Hannover.
- Rümker K. von und R. Leidner. 1914. Ein Beitrag zur Frage der Inzucht bei Roggen. *Z. Pflanzenzüchtung* 2: 429-444.
- Schlegel R., G. Melz, and V. Korzun. 1998. Genes, marker and linkage data of rye (*Secale cereale* L.): 5th updated inventory. *Euphytica* 101: 23-67.
- Schnable P.S. and R.P. Wise. 1994. Recovery of Heritable, Transposon-Induced, Mutant Alleles of the *rf2* Nuclear Restorer of T-Cytoplasm Maize. *Genetics* 136: 1171-1185.
- Schnable P.S. and R.P. Wise. 1998. The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. Elsevier Science Ltd. Vol. 3, No. 5: 175-180.
- Schnell F.W.. 1961. Heterosis und Inzuchtwirkung. *Wissenschaftliche Grundlagen der Leistungsermittlung und Zuchtverfahren bei landwirtschaftlichen Nutztieren*: 291-314. Schriftenreihe des Max-Planck-Instituts für Tierzucht und Tierernährung.
- Scoles G.J. and L.E. Evans. 1979b. Pollen development in male-fertile and cytoplasmic male-sterile rye. *Can. J. Bot.* 57: 2782-2790.
- Senft P.. 1996. Erweiterung der genetischen Kopplungskarte und Markierung wirtschaftlicher Gene bei Roggen (*Secale cereale* L.). Diss., FB Biologie, Univ. Hannover.
- Snedecor G.W. and W.G. Cochran. 1989. *Statistical Methods*. Iowa State Univ. Press, Ames, IA.
- Strickberger M.W.. 1988. *Genetik*. Carl Hanser Verlag München Wien.
- Utz H.F.. 1993. Plabstat - Ein Computerprogramm zur statistischen Analyse von pflanzenzüchterischen Experimenten. Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik, Univ. Hohenheim, Stuttgart.
- Utz H.F. and A.E. Melchinger. 1995. PLABQTL. A computer program to map QTL. Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik, Univ. Hohenheim, Stuttgart.
- Van Berloo R.. 1999. GGT: Graphical GenoTyping. Laboratory of Plant Breeding. Wageningen University and Research Centre.

- Van Deynze A.E., J.C. Nelson, L.S. O'Donoghue, S.N. Ahn, W. Siripoonwiwat, S.E. Harrington, E.S. Yglesias, D.P. Braga, S.R. McCouch, and M.E. Sorrells. 1995a. Comparative mapping in grasses. Oat relationships. *Mol. Gen. Genet.* 249: 349-356.
- Van Deynze A.E., J. Dubcovsky, K.S. Gill, J.C. Nelson, M.E. Sorrells, J. Dvorak, B.S. Gill, E.S. Lagudah, S.R. McCouch, and R. Appels. 1995b. Molecular-genetic maps for group 1 chromosomes of Triticeae species and their relation to chromosomes in rice and oat. *Genome* 38: 45-59.
- Van Deynze A.E., M.E. Sorrells, W.D. Park, N.M. Ayres, S.W. Cartinhour, E. Paul, and S.R. McCouch. 1998. Anchor probes for comparative mapping of grass genera. *Theor. Appl. Genet.* 97 (3): 356-369.
- Wahle G.. 1977. Analyse der Heterosis des Ertrags und der Ertragskomponenten bei Winterroggen (*secale cereale* L.). Diss., Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik, Univ. Hohenheim.
- Wanous M.K., P.G. Goicoechea, and J.P. Gustafson. 1995. RFLP maps of rye chromosomes 6R and 7R including terminal C-bands. *Genome* 38: 999-1004.
- Wanous M.K. and J.P. Gustafson. 1995. A genetic map of rye chromosome 1R integrating RFLP and cytogenetic loci. *Theor. Appl. Genet.* 91: 720- 726.
- Ward B.L., R.S. Anderson, and A.J. Bendich. 1981. The size of mitochondrial genome is large and variable in a family of plants (*cucurbitaceae*). *Cell* 25, 793-803.
- Wise R.P., K. Gobelman-Werner, D. Pei, C.L. Dill, and P.S. Schnable. 1999. Mitochondrial transcript processing and restoration of male fertility in T-cytoplasm maize. *Heredity* 90 (3): 380-385.
- Wricke G.. 1979. Degree of self-fertilization under free pollination in rye populations containing a self-fertility gene. *Z. Pflanzenzüchtung* 82: 281-285.
- Wricke G., P. Wilde, P. Wehling, and C. Gieselmann. 1993. An Isozyme Marker for Pollen Fertility Restoration in the Pampa cms System of Rye (*Secale cereale* L.). *Plant Breeding* 111: 290-294.
- Xie D.X., K.M. Devos, G. Moore, and M.D. Gale. 1993. RFLP-based genetic maps of the homoeologous group 5 chromosomes of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 87: 70-74.
- Young E.G. and M.R. Hanson. 1987. A fused mitochondrial gene associated with cytoplasm male sterility is developmentally regulated. *Cell* 50: 41-49.

7 Anhang

Tab.7.1: RFLP-Markerklassenhäufigkeiten von Markern, deren Segregationsverhältnisse gemäß Chi-Quadrat-Test signifikant von der erwarteten 1:2:1-Relation abweichen

Chromo- som	Subpopu- lation	Position (cM)	Marker	Markerklassenhäufigkeit			Chi-Quadrat-Test	
				mm (L145-P)	Mm	MM (L18-R)	Testmaß- zahl	P [#]
1 R	1	4,1	mwg2021	19	67	23	6,0	0,048
		43,2	tksu G9	15	61	32	7,2	0,027
		53,6	psr688	16	66	25	7,4	0,025
	2	0,0	mwg2056	17	82	33	11,6	0,003
		2,8	psr596	20	80	33	8,0	0,018
		1 + 2 + 3	80,5	cdo580	54	181	88	11,9
80,8	mwg2056		59	177	90	8,3	0,016	
2 R	3	0,0	iag57	22	61	42	6,5	0,038
		13,3	psr666	23	58	43	7,0	0,030
		41,2	iag120	7	47	27	12,0	0,003
		83,5	iag233	18	72	35	7,5	0,023
		85,6	iag167	16	74	36	10,2	0,006
3 R	2	0,0	psr1077	28	65	16	6,7	0,034
	3	5,8	iag154	21	77	27	7,3	0,025
		20,7	scb33	27	76	21	6,9	0,031
		23,6	psr902	25	78	23	7,2	0,023
4 R	1	0,0	psr584	5	73	30	24,9	0,000
		1,7	prf2a	3	62	22	24,0	0,000
		4,0	tksu D15	2	74	31	31,4	0,000
		32,3	tksu F48	9	49	29	10,6	0,005
		34,3	cdo475	11	54	41	17,0	0,000
		43,2	fb255a	12	-	95	10,8	0,001
		54,2	cdo545	15	53	40	11,6	0,003

[#] P = Wahrscheinlichkeit, daß die Abweichung von der Nullhypothese auf zufälligen Stichprobeneffekten beruht (Fehler 1. Art).

Fortsetzung Tab. 7.1

Chromo- -som	Subpopu- -lation	Position (cM)	Marker	Markerklassenhäufigkeit			Chi-Quadrat-Test	
				mm (L145-P)	Mm	MM (L18-R)	Testmaß- zahl	P [#]
		56,1	cdo1400	13	55	32	8,2	0,016
		59,5	bcd129	18	52	38	7,6	0,022
		76,0	psr392	21	48	38	6,5	0,037
	1 + 2 + 3	4,6	psr392	76	176	109	6,3	0,043
5 R	1	0,0	psr574	35	-	70	3,9	0,046
		20,9	cdo388a	35	48	16	7,4	0,024
		26,0	cdo520	41	53	13	14,7	0,000
		27,0	rz390	37	48	15	9,8	0,007
		28,5	prs929	39	53	13	12,9	0,002
	2	0,0	psr929	33	70	13	11,9	0,003
	3	0,0	psr574	38	72	16	10,3	0,006
		6,1	psr929	45	68	13	17,1	0,000
		6,9	psr360	45	70	11	19,9	0,000
		7,7	psr628	44	68	13	16,3	0,000
	1 + 2 + 3	0,0	psr929	117	191	39	38,6	0,000
		17,7	psr911	94	173	64	6,1	0,046
6 R	1	20,1	cdo388b	35	34	25	9,3	0,009
7 R	3	30,5	psr1051	42	50	33	6,3	0,042
		90,5	psr129	44	50	28	8,2	0,017

[#] P = Wahrscheinlichkeit, daß die Abweichung von der Nullhypothese auf zufälligen Stichprobeneffekten beruht (Fehler 1. Art).

Tab. 7.2: Untersuchte RFLP-Sonden und Angaben über die Restriktionsenzyme, die einen Polymorphismus detektiert haben, sowie über die Chromosomen auf denen die entsprechenden Marker in den Subpopulationen 1, 2 und 3 kartierten

Sonde	Polymorphismus detektiert mit Restriktionsenzym							Auswertung [#]	Kartiert auf Chrom. 1-7 in Subpopulation		
	EcoRI	EcoRV	Bam HI	Hind III	Dra I	Xba	Apa		1	2	3
abc151								k. P.			
abc155								n. a.			
abc156								k. P.			
abc164								k. P.			
abg53		x		x		x	x	n. k.			
abg59								n. a.			
abg74	x		x	x				n. k.			
abg320	x	x						n. k.			
abg373								k. P.			
abg453								k. P.			
abg500		x	x	x	x		x	kd.	1		
bcd12	x			x	x			kd.	1		
bcd15	x	x	x	x	x	x		kd.	7		
bcd98								k. P.			
bcd129	x	x	x	x	x	x	x	kd.	4		
bcd135	x	x		x				kd.	2		
bcd200								k. P.			
bcd249								n. a.			
bcd340			x					kd.		?	
bcd342	x							n. k.			
bcd372	x		x			x		kd., kd., d	1, 3, 6		
bcd442			x	x		x	x	kd.	1 a, b		
bcd454					x			kd.	1		
bcd446								k. P.			
bcd452								k. P.			
bcd453								k. P.			
bcd762	x	x						kd.	1		
bcd1072		x		x				kd.	1		
bcd1124	x	x	x		x			kd.	1	1	1

Fortsetzung Tab. 7.2

Sonde	Polymorphismus detektiert mit Restriktionsenzym							Auswertung [#]	Kartiert auf Chrom. 1-7 in Subpopulation		
	EcoRI	EcoRV	Bam HI	Hind III	Dra I	Xba	Apa		1	2	3
bcd1340								k. P.			
bcd1434						x		kd.	1		
bcd1449		x			x	x		kd.	1		
bcd1796				x				n. k.			
cdo54								k. P.			
cdo92		x						n. k.			
cdo98								k. P.			
cdo99								k. P.			
cdo216		x						n. k.			
cdo281		x						kd.	3		
cdo388	x	x		x	x	x		kd.	5, 6		
cdo442	x							d.	1		
cdo475	x	x	x	x	x	x	x	kd.	4		
cdo520	x	x	x					kd.	5		
cdo545	x	x	x	x	x	x	x	kd.	4		
cdo572	x		x		x			n. k.			
cdo580			x					kd.	1	1	1
cdo618	x	x		x		x	x	n. k.			
cdo658	x		x	x	x	x	x	kd.	1		
cdo718								k. P.			
cdo1173								k. P.			
cdo1188				x	x			kd.	1		
cdo1400	x	x	x		x	x	x	kd.	4		
cdo1473		x			x	x	x	kd.	1		
fba118		x	x	x	x	x	x	kd.	1		
fba127	x	x	x	x	x	x	x	d.	3		
fba285	x	x						n. k.			
fbf35	x	x	x	x		x	x	kd.	6		
fbf121	x	x	x	x			x	kd.	?		
fbf234	x	x	x	x	x	x	x	kd.	1		

Fortsetzung Tab. 7.2

Sonde	Polymorphismus detektiert mit Restriktionsenzym							Auswertung [#]	Kartiert auf Chrom. 1-7 in Subpopulation		
	EcoRI	EcoRV	Bam HI	Hind III	Dra I	Xba	Apa		1	2	3
fb237			x					d.	?		
fb255	x				x	x	x	d.	4, 5, 6		
fb378								k. P.			
gbx3581	x	x	x	x	x	x	x	kd., d.	1, 5		
gbx G80								k. P.			
gbx G178								k. P.			
gbx G263								k. P.			
gbx G746								k. P.			
isu916								k. S.			
iag79	x	x		x	x			kd.	1	1	(1)
iag95		x	x					kd.	1		(1)
iag180								k. P.			
iag241	x	x	x	x	x		x	n. k.			
ksu D15	x	x	x	x		x		kd.	4		
ksu E18					x	x		n. k.			
ksu E19	x			x	x	x	x	kd.	1		
ksu F48	x	x	x	x	x	x	x	kd.	4		
ksu G9	x	x	x	x	x	x		kd.	1, 5		
mwg36	x	x	x	x	x	x	x	d.	1		
mwg59	x							kd.	4		
mwg60	x	x	x		x				= mwg2048		
mwg68								n. a.			
mwg506	x	x	x		x	x	x	kd.	1		
mwg570	x	x	x	x	x		x	d.	3		
mwg573						x	x	n. k.			
mwg584		x						n. k.			
mwg618		x	x	x	x			n. k.			
mwg645	x	x	x	x	x			n. k.			
mwg679					x			kd.	4		
mwg758								k. P.			

Fortsetzung Tab. 7.2

Sonde	Polymorphismus detektiert mit Restriktionsenzym							Auswertung [#]	Kartiert auf Chrom. 1-7 in Subpopulation		
	EcoRI	EcoRV	Bam HI	Hind III	Dra I	Xba	Apa		1	2	3
mwg800	x					x		kd.	1		
mwg803		x			x			kd.	3		
mwg835	x	x	x	x	x	x	x	d.	1		
mwg837								k. P.			
mwg896		x	x	x	x	x		d.	5		
mwg912								k. P.			
mwg913	x	x			x	x		d., kd.	1a, b		
mwg920	x	x	x	x	x	x	x		= mwg835		
mwg961	x		x	x				n. k.			
mwg2013	x	x	x	x		x	x	kd.	3		
mwg2021	x	x	x	x	x	x	x	kd.	1		
mwg2048	x	x	x		x			kd.	1		
mwg2056	x	x	x		x	x		kd.	1	1	1
mwg2062	x	x	x		x	x	x	n. k.			
mwg2080		x				x		n. k.			
mwg2083						x		n. k.			
mwg2148	x	x	x	x		x		kd.	1		
mwg2217								k. P.			
mwg2245	x	x	x	x	x	x	x	n. k.			
prf 2a				x				kd.	4		
psr74			x				x	n. k.			
psr78				x	x			kd.	3		
psr109								k. P.			
psr119	x		x	x	x	x		kd.	4 a, b	4a, b	(4)
psr129	x				x			kd.	7		(7)
psr161		x		x	x			kd.	1		(1)
psr167			x					kd.	4		(4)
psr170	x	x	x	x	x	x		kd.	3	3	(3)
psr370	x	x		x	x			kd.	5		(5)
psr392	x	x		x				kd.	4	4	(4)
psr543								n. a.			

Fortsetzung Tab. 7.2

Sonde	Polymorphismus detektiert mit Restriktionsenzym							Auswertung [#]	Kartiert auf Chrom. 1-7 in Subpopulation		
	EcoRI	EcoRV	Bam HI	Hind III	Dra I	Xba	Apa		1	2	3
psr563						x		n. k.			
psr566	x	x	x	x	x	x	x	n. k.			
psr574	x				x			d.	5		(5)
psr578	x	x		x				d.	3		(3)
psr580		x		x				kd.	7		(7)
psr584	x	x		x	x			kd.	4		(4)
psr596	x	x	x		x	x		kd.	1	1	(1)
psr598				x	x			kd.	3		
psr634			x			x		kd.	1	1	(1)
psr666	x							kd.	2		(2)
psr681								k. P.			
psr688	x	x	x	x	x	x	x	kd.	1		
psr690	x	x		x	x			kd.	7		(7)
psr804	x	x	x		x	x		kd.	3		
psr911	x	x		x	x			kd.	5	5	(5)
psr915	x	x		x	x			kd.	6		(6)
psr929	x				x			kd.	5	5	(5)
psr934	x			x	x			kd.	2		(2)
psr949	x	x	x	x	x	x		kd.	1	1	(1)
psr963								k. P.			
psr1077	x	x	x	x	x			kd.	3	3	(3)
rg207								n. a.			
rg532								n. a.			
rg780								n. a.			
rz244		x						kd.	1		
rz390	x							kd.	5		
rz398								n. a.			
rz449								k. P.			
rz744					x			kd.	5		
scg75								k. P.			
scg170								k. P.			

Fortsetzung Tab. 7.2

Sonde	Polymorphismus detektiert mit Restriktionsenzym							Auswertung [#]	Kartiert auf Chrom. 1-7 in Subpopulation		
	EcoRI	EcoRV	Bam HI	Hind III	Dra I	Xba	Apa		1	2	3
tam52								n. a.			
wg110			x				x	n. k.			
wg241				x			x	n. k.			
wg789								n. a.			
wg811	x	x	x	x			x	kd.	1		
wg940	x	x	x					kd.	3		

[#] Auswertung: d (dominant), kd (kodominant), k.P. (kein Polymorphismus), n.a. (nicht auswertbar), n.k. (nicht kartiert).

Danksagung

Herrn Prof. Dr. H.H. Geiger danke ich für die Überlassung des Themas und für seine wertvollen wissenschaftlichen Anregungen. Herrn PD Dr. G. Reustle möchte ich für die Übernahme des Koreferats dieser Arbeit danken.

Ganz herzlich danke ich Herrn PD Dr. Thomas Miedaner für die wissenschaftliche Betreuung der Arbeit und für die kritische Durchsicht des Manuskripts. Frau Dr. Angela Schilling danke ich für die stets vorhandene Diskussionsbereitschaft und für die vielen Anregungen bei den Markeranalysen. Herrn Prof. Dr. H.F. Utz danke ich für seine Bereitschaft, mir stets bei Fragen der QTL-Analyse helfend zur Seite zu stehen.

Dank sagen möchte ich allen Mitarbeitern des Instituts für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik und der Landessaatzuchtanstalt, sowie allen Freunden und Bekannten, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Namentlich erwähnen möchte ich an dieser Stelle: Dr. Eva Bauer, Kirsten vom Brocke, Dr. Martin Bohn, Dr. Sabine Deimling, Dr. Felix Dreyer, Christina Dussle, Dr. Claus Einfeldt, Elke Fischer, Markus Haas, Dr. Anette Hartmann, Elisabeth Kokai-Kota, Dr. Lissy Kuntze, Kerstin Lang, Dr. Thomas Lübberstedt, Dr. Thomas Presterl, Dr. Frank Röber, Dr. Silke Stracke und Ulrike Tuschoff sowie die Roggenabteilung und hier besonders Elke Reimers und Olaf Höger, die Gewächshausabteilung allen voran Herrn Köster und das Sekretariat rund um Frau Egelhaaf sowie ihrer Vorgängerin Frau Kraft.

Für ihre Geduld, Unterstützung und Fröhlichkeit gilt mein größter Dank meiner Frau Sandra sowie unseren beiden Töchtern Chiara und Anouk, die es wunderbar schaffen abzulenken, meinem Bruder Alexander und meinen Eltern für ihre Unterstützung, Verständnis und Interesse.

Meinem Vater

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Markus Curt Johannes Wolf
Geboren: 13.03.1964 in Tübingen
Familienstand: Verheiratet, zwei Töchter

Schulbildung

1970 – 1971 Grundschule Braunschweig
1971 – 1974 Grundschule Mosbach
1974 – 1980 Gymnasium Mosbach
1981 – 1982 Gymnasium Königfeld
1982 – 1986 Wirtschaftsgymnasium Mosbach
Juni 1986 Allgemeine Hochschulreife

Grundwehrdienst

Juli 1986 – Sept. 1987 1. Panzerartilleriebataillon Walldürn

Studium

1987 – 1995 Allgemeine Agrarwissenschaften, Fachrichtung Pflanzenproduktion
Dez. 1995 Diplom

Praktikum

Apr. 1990 – Sept. 1990 Pflanzenzucht Oberlimpurg in Schwäbisch Hall, bzw. auf der
Zuchtstation in Neckarmühlbach

Berufliche Tätigkeit

1996 - 1999 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Pflanzenzüchtung,
Saatgutforschung und Populationsgenetik der Universität Hohenheim
Seit Juli 2000 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Pflanzengenetik und
Kulturpflanzenforschung in Gatersleben