

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
1.1	Raps - wichtigste Öl-liefernde Pflanze Deutschlands	1
1.2	Die Rapsschwärze – eine bedeutende Krankheit des Rapses	4
1.3	Resistenzmechanismen bei Pflanzen: Wirt-Parasit-Interaktionen	6
1.4	Resistenzantworten auf Infektionen mit <i>A. brassicae</i> bzw. <i>A. brassicicola</i>	10
1.5	Wildcruciferen als potentielle Resistenzdonoren	13
1.6	Zielsetzung der Arbeit.....	15
2	MATERIAL UND METHODEN	17
2.1	Stammlösungen.....	17
2.2	Pflanzenmaterial	17
2.3	Allgemeine Kulturbedingungen	20
2.4	Pflanzenanzucht aus Saatgut.....	20
2.5	Kreuzungen und pflanzliche <i>in vitro</i> -Kultur	21
2.5.1	Inter- und intraspezifische Kreuzungen.....	21
2.5.2	Selbstungen/Knospenbestäubungen	21
2.5.3	Pflanzenanzucht nach intraspezifischen Kreuzungen.....	21
2.5.4	<i>In-vitro</i> -Kulturtechniken nach interspezifischen Kreuzungen	22
2.5.4.1	Nährmedien für die pflanzliche <i>in vitro</i> -Kultur	22
2.5.4.2	Ovarien- und Embryokultur (<i>embryo rescue</i>)	24
2.5.5	Erhaltung von <i>in vitro</i> -Sprosskulturen	24
2.5.6	Transfer von <i>in vitro</i> -Kulturen in Erde.....	24
2.5.7	Regeneration von Pflanzen aus Pflanzenteilen	25
2.5.8	Stecklingsvermehrung	25
2.6	Pathogenmaterial und Kultivierung von <i>Alternaria</i> spp.....	25
2.6.1	Nährmedien für <i>Alternaria</i> spp.	25
2.6.2	Verwendete <i>Alternaria</i> -Isolate	26
2.6.3	Herstellung von Dauererdkulturen.....	27
2.6.4	Herstellung von Inokulum.....	27
2.6.4.1	Herstellung einer <i>A. brassicicola</i> -Sporensuspension	27
2.6.4.2	Herstellung eines <i>A. brassicae</i> -Inokulums	27
2.7	Prüfung auf Resistenz gegen <i>Alternaria</i> spp.	28
2.7.1	Test an Blattscheiben (PLÜMPER 1995).....	28
2.7.2	Test an der intakten Pflanze (Feuchtkammertest)	29
2.7.3	Resistenztest an Schoten.....	31
2.8	Morphologische Charakterisierung der Kreuzungs- und Rückkreuzungsnachkommen	31
2.9	Bestimmung der Fertilität von Kreuzungs- und Rückkreuzungsnachkommen	32
2.10	DNA-Isolierung	32
2.10.1	DNA-Isolierung mittels CTAB (modifiziert nach ROGERS & BENDICH 1985).....	32
2.10.1.1	CTAB-Gesamt-DNA-Präparation	32
2.10.1.2	CTAB-Mini-Präparation	33

2.10.2	DNA-Minipräparation (modifiziert nach EDWARDS <i>et al.</i> 1991).....	33
2.11	Konzentrationsbestimmung von DNA-Proben.....	34
2.12	Polymerase Chain Reaction (PCR).....	34
2.12.1	PCR mit Zufallsprimern (RAPD-PCR).....	34
2.12.2	PCR mit spezifischen Primern, SSR: „touchdown“-Protokoll.....	35
2.13	Gelelektrophorese.....	36
2.14	Cytologische Untersuchungen.....	36
2.14.1	Klassische Chromosomenpräparationen (Mitosepräparate).....	36
2.14.1.1	Wurzelspitzenpräparate.....	36
2.14.1.2	Griffelpräparate.....	37
2.14.1.3	Färben von Wurzelspitzen- und Griffelchromosomen.....	37
2.15	Genomische <i>in situ</i>-Hybridisierung (GISH).....	38
2.15.1	Herstellen von Droplet-Präparaten.....	38
2.15.2	Herstellung genomischer DNA-Sonden.....	38
2.15.3	Bestimmung der Markierungseffizienz.....	39
2.15.4	Fertigstellen der DNA-Sonden.....	40
2.15.5	Denaturierung der Chromosomen.....	40
2.15.6	Hybridisierung und Waschschritte.....	40
2.15.7	Detektion.....	41
2.15.8	Kontrollen.....	41
3	ERGEBNISSE.....	43
3.1	Optimierung der Prüfung auf <i>Alternaria</i>-Resistenz.....	43
3.2	Putative Resistenzquellen.....	44
3.3	Interspezifische Hybriden aus <i>B. napus</i> und verschiedenen putativen Resistenzdonoren.....	45
3.3.1	<i>Sinapis alba</i> -Kreuzungsgruppe: asymmetrische somatische Hybriden aus <i>B. napus</i> (+) <i>S. alba</i> und deren Rückkreuzungsnachkommen.....	47
3.3.1.1	Resistenzausprägung des Donorgenotyps <i>S. alba</i> cv. ‚Emergo‘.....	47
3.3.1.2	Test auf Hybridcharakter der Sprossregenerate.....	47
3.3.1.3	Charakterisierung der ‚F ₁ ‘-Generation.....	49
3.3.1.4	Erstellung von Rückkreuzungs- und Selbstungsnachkommenschaften und Prüfung auf <i>Alternaria</i> -Resistenz in diesen Generationen.....	50
3.3.1.5	Erstellung sexueller Hybriden aus <i>B. napus</i> und <i>S. alba</i>	52
3.3.2	<i>B. elongata</i> -Kreuzungsgruppe: sexuelle Hybriden aus <i>B. napus</i> x <i>B. elongata</i> und deren Rückkreuzungsnachkommen.....	53
3.3.2.1	Resistenzausprägung der Donorart <i>B. elongata</i> ssp. <i>integrifolia</i>	53
3.3.2.2	Charakterisierung der F ₁ -Hybride.....	53
3.3.2.3	Erstellung der ersten Rückkreuzungsnachkommenschaft.....	54
3.3.2.4	Erstellung der zweiten Rückkreuzungsnachkommenschaft.....	56
3.3.3	<i>Diplotaxis tenuifolia</i> -Kreuzungsgruppe: sexuelle Hybriden aus <i>B. napus</i> und <i>D. tenuifolia</i>	58
3.3.3.1	Resistenzausprägung in der Donorart <i>D. tenuifolia</i>	58
3.3.3.2	Resistenzausprägung in den F ₁ - bzw F ₂ -Generationen der reziproken Kreuzung aus <i>B. napus</i> und <i>D. tenuifolia</i> ^{AIndien}	58
3.3.4	<i>Diplotaxis eruroides</i> -Kreuzungsgruppe: sexuelle Hybriden aus <i>B. napus</i> und <i>D. eruroides</i> und deren Rückkreuzungsnachkommen.....	59
3.3.4.1	Charakterisierung der Donorart <i>D. eruroides</i>	59

3.3.4.2	Kreuzung von <i>B. napus</i> mit der Donorart <i>D. erucooides</i> und Test auf Hybridcharakter der putativen F ₁ - Nachkommen	64
3.3.4.3	Cytologische und morphologische Charakterisierung der F ₁	65
3.3.4.4	Resistenzausprägung in der F ₁ -Nachkommenschaft	68
3.3.4.5	Erstellung, Charakterisierung und Resistenzausprägung der ersten Rückkreuzungsnachkommenschaft.....	69
3.3.4.6	Erstellung, Charakterisierung und Resistenzausprägung der zweiten Rückkreuzungsnachkommenschaft.....	74
3.3.4.7	Erstellung der ersten Selbstungsnachkommenschaft der BC ₁ (BC ₁ S ₁) und Prüfung auf Resistenz	78
3.3.4.8	Erstellung der zweiten Selbstungsnachkommenschaft der BC ₁ (BC ₁ S ₂) und Test auf Resistenz	79
3.3.4.9	Rückkreuzung der ersten Selbstungsnachkommenschaft der BC ₁ (BC ₁ S ₁ xC) und Test auf Resistenz	80
3.3.4.10	Erstellung der dritten Rückkreuzungsnachkommenschaft (BC ₃) und Resistenzausprägung in dieser Generation.....	81
3.3.4.11	Erstellung der ersten Selbstungsnachkommenschaft der BC ₂ (BC ₂ S ₁) und Test auf Resistenz	83
3.3.4.12	Vorläufige Zusammenfassung und Vergleich der verschiedenen Generationen innerhalb der <i>D. erucooides</i> -Kreuzungsgruppe.....	85
3.3.4.13	Aufspaltung der Resistenz in den zuletzt erstellten Generationen	86
3.3.4.14	Charakterisierung der resistenten Genotypen aus den zuletzt erstellten Generationen (BC ₃ , BC ₂ S ₁ , BC ₁ S ₂ und BC ₁ S ₁ xC).....	86
3.4	Vergleich der Resistenzausprägungen bei den Nachkommen der verschiedenen Kreuzungsgruppen	90
3.5	SSR-Markeranalysen.....	91
3.5.1	Screening nach Resistenz-gekoppelten SSR-Markern anhand von BC ₂ - und BC ₁ S ₁ -Genotypen	91
3.5.2	Überprüfung des SSR-Markers HMR 997 an ausgewählten BC ₃ -, BC ₂ S ₁ -, BC ₁ S ₂ - und BC ₁ S ₁ xC-Genotypen	92
4	DISKUSSION.....	96
4.1	Prüfung auf <i>Alternaria</i>-Resistenz	97
4.1.1	Bonitur in drei Klassen	99
4.2	Transfer von <i>Alternaria</i>-Resistenz durch interspezifische bzw. intergenerische Hybridisierung	100
4.3	Putative Resistenzdonoren	101
4.3.1	Auswahl der putativen Resistenzdonoren	101
4.3.2	Eignung der putativen Resistenzdonoren für den Transfer der Resistenz	105
4.4	Genomische <i>in situ</i>-Hybridisierung (GISH) als Methode zur Selektion geeigneter Partner für das Kreuzungsprogramm	107
4.5	Übertragung auf den Raps und Ausprägung der Resistenz aus <i>D. erucooides</i>....	108
4.5.1	Kreuzungseffizienz und Fertilität	108
4.5.2	Resistenzausprägung.....	112
4.5.3	Chromosomenzahlen	112
4.6	Selektion resistenter Pflanzen mittels molekularer Marker	113
4.7	Die Modellpflanze <i>Arabidopsis thaliana</i> als alternativer Resistenzdonor.....	116
4.8	Übertragbarkeit von Resistenzen, die auf R-Genen basieren	117
4.9	Voraussichtlicher Nutzen, Verwertbarkeit der Ergebnisse und Ausblick	119
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	121
6	KURZFASSUNG/ABSTRACT	123

7	LITERATURVERZEICHNIS.....	124
----------	----------------------------------	------------

ANHANG

DANKSAGUNG

LEBENS LAUF

**WISSENSCHAFTLICHE VERÖFFENTLICHUNGEN, VORTRÄGE UND POSTERBEITRÄGE
(CHRONOLOGISCH)**