

### 3 ERGEBNISSE

#### 3.1 Resistenztests unter kontrollierten Bedingungen sowie cytologische und PCR-Untersuchungen

##### 3.1.1 Pathogenitätsgruppenanalyse der Isolate W4 und M1 von *L. maculans*

Zur Einordnung der aggressiven *Leptosphaeria maculans*-Isolate W4 und M1 in Pathogenitätsgruppen (PG) wurde das Resistenzverhalten von *B. napus* cvs. „Lirabon“, „Quinta“ und „Glacier“ auf Kotyledonenebene (modifiziert nach MENGISTU *et al.* 1991, siehe Kap. 2.2.3.1 und Tab. 2.5) im Rahmen von Tests mit Doppelinokulation geprüft. Tabelle 3.1 zeigt die Ergebnisse dieser Untersuchungen. Aufgrund der Kotyledonenanfälligkeit aller Differentialrapssorten konnten beide Isolate der Pathogenitätsgruppe 4 (PG 4) zugeordnet werden.

Während auf Kotyledonenebene keine Unterschiede zwischen den Isolaten und Rapssorten feststellbar waren, traten im Resistenzverhalten der adulten Pflanze z. T. erhebliche Differenzen auf. Die Sorten „Quinta“ und „Glacier“ erwiesen sich gegenüber W4 als adultanfälliger als gegenüber M1. Die Sorte „Quinta“ stellt den Extremfall dar: Alle Individuen waren adultanfällig gegenüber W4, während bei Inokulation mit dem Isolat M1 wesentlich mehr Pflanzen Adultresistenz (24) als Adultanfälligkeit (7) zeigten.

**Tab. 3.1** Verhalten von Referenzrapssorten gegenüber *Leptosphaeria maculans* in Tests mit Doppelinokulation gegenüber den Isolaten W4 (blau) bzw. M1 (rot). Das für die Einstufung in Pathogenitätsgruppen relevante Resistenzverhalten auf Kotyledonenebene ist hervorgehoben. Resistenzklassen: R = resistent, S = anfällig, C = Kotyledonen- (in Zus.), A = Adult- (in Zus.), C/A = kombinierte Kotyledonen- und Adultresistenz bzw. -anfälligkeit (siehe auch Kap. 2.2.3.1 & 2.2.3.2 sowie Tab. 2.4 & 2.6).

Genotyp	Pflanzenanzahl	Häufigkeiten des jeweiligen Resistenzverhaltens							
		R <sub>C</sub>	S <sub>C</sub>	R <sub>A</sub>	S <sub>A</sub>	R <sub>C/A</sub>	S <sub>C/R<sub>A</sub></sub>	R <sub>C/S<sub>A</sub></sub>	S <sub>C/A</sub>
<i>B. napus</i> „Lirabon“	28	0	28	6	22	0	6	0	22
	31	1	30	7	24	1	6	0	24
<i>B. napus</i> „Glacier“	30	0	30	2	28	0	2	0	28
	31	1	30	12	19	0	12	1	18
<i>B. napus</i> „Quinta“	30	0	30	0	30	0	0	0	30
	31	1	30	24	7	0	24	1	6

##### 3.1.2 *Brassica napus*-*Coincya monensis*-Linien

Die Details eines für diese Gruppe typischen Resistenztests finden sich im Tabellenanhang II.

##### 3.1.2.1 Charakterisierung aneuploider BC<sub>2</sub>-, BC<sub>3</sub>- und BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>\*-Genotypen sowie daraus abgeleiteter früher Selbstungsnachkommenschaften

Ausgangspunkt der Untersuchungen war die BC<sub>2</sub>-Pflanze 16/1. Resistenztests an ihren Nachkommenschaften zeigten das Vorhandensein von Genen sowohl für Kotyledonen- (R<sub>C</sub>) als auch für Adultresistenz (R<sub>A</sub>, putative doppelte Resistenz, Tab. 3.2). Die Analyse des Pollenschlauch-

wachstums der BC<sub>2</sub> 16/1 mit stark intermediärem Habitus ergab eine weitgehende postzygotische Sterilität (Abb. 3.1a; Ausschluß präzygotischer Inkompatibilität: S. GÄRTIG, pers. Mitteilung). Mit Hilfe der Genomischen *in situ*-Hybridisierung (GISH) wurden sieben bis zwölf Extrachromosomen (vermutlich Additionschromosomen) von *C. monensis* detektiert (Abb. 3.1b). Klassisch- und molekular-cytologische Untersuchungen verdeutlichten die Mixoploidie dieser Pflanze und ergaben zumeist eine Chromosomenzahl von  $2n=50-53$  (Tab. 3.6). Meiose-Analysen zeigten eine große Anzahl von Univalenten in der Metaphase I (Tab. 3.6); darüber hinaus wiesen 23 von 204 untersuchten Tetraden (11,3 %) Mikrokerne auf (Abb. 3.1c, Tab. 3.6).

Trotz umfangreicher Anwendung von *embryo rescue*-Techniken, die im Rahmen des Projekts, aber nicht vom Autor selbst durchgeführt wurden, gelang es nicht, adultresistente BC<sub>3</sub>-Pflanzen zu erzeugen; aus 582 Bestäubungen gingen lediglich zwei adultanfällige BC<sub>3</sub>-Genotypen hervor (S. GÄRTIG, pers. Mitteilung). Diese wiesen gegenüber der BC<sub>2</sub> einen rapsähnlicheren Habitus auf. Das Adult-Resistenzverhalten der sterilen BC<sub>3</sub> 16/1/1 (zwei bis fünf *C. monensis*-Chromosomen, Abb. 3.1d, Tab. 3.6) wurde an Stecklingen (Außenboniturnoten stets zwischen 5 und 6), das der partiell fertilen, zwei Extrachromosomen von *C. monensis* aufweisenden BC<sub>3</sub> 16/1/2 (Abb. 3.1e, Tab. 3.6) an Selbstungsnachkommen (Tab. 3.2) ermittelt. Letzterer Genotyp dürfte jedoch noch Gene für Kotyledonenresistenz besitzen, die zu einigen in diesem Stadium resistenten Nachkommen führten (Tab. 3.2). Aufgrund der Adultanfälligkeit beider BC<sub>3</sub>-Pflanzen mußte für weitere Analysen auf putative BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>- (im folgenden: BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>\*-)Genotypen zurückgegriffen werden: aus 172 Ovarien, die auf das offene Abblühen der BC<sub>2</sub> 16/1 zurückgehen, wurden mittels *embryo rescue* zwölf derartige Pflanzen gewonnen, die z. T. Kotyledonen- und/oder Adultresistenz zeigten.

Da die Mehrzahl dieser Individuen noch hochgradig steril war, wurden nur vier Genotypen näher untersucht. Während die BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>\* 16/1-1 (Tab. 3.6), die stark mixoploide BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>\* 16/1-6 (Abb. 3.1f-h, Tab. 3.2 & 3.6) und die BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>\* 16/1-12 (Tab. 3.2 & 3.6) ohne aufwendige Knospenbestäubung nur wenig Selbstungssaatgut lieferten, zeichnete sich die ebenfalls phänotypisch intermediäre BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>\*-Pflanze 16/1-3 (Abb. 3.1i, oben links) bereits durch einen hohen Grad an Fertilität aus. Dieses Individuum, von der sich alle weiteren relevanten Genotypen ableiteten, wies eine Chromosomenzahl von  $2n=44$  auf, wobei in mitotischen Zellen mit GISH stets vier Extrachromosomen (Abb. 3.1i) von *C. monensis* detektiert wurden. GISH-Untersuchungen an Pollenmutterzellen zeigten, daß in der Metaphase I der Meiose meist drei der vier *C. monensis*-Chromosomen als Univalente vorliegen (Abb. 3.1j & k, Tab. 3.6). Darüber hinaus traten wiederholt auch ein bis zwei der nach den Zählungen in mitotischen Metaphasen 40 (statt 38) Rapschromosomen als Univalente auf. An Telo- und Anaphasen der zweiten meiotischen Teilung wurde deutlich, daß zurückhängende (*lagging*) Chromosomen zumeist GISH-Signale von *C. monensis* aufwiesen (Abb. 3.1l). Diese *lagger* wurden jedoch in hohem Maße an die Meiosporen weitergegeben (Abb. 3.1m). Tetradenanalysen ergaben jedoch wiederholt auch mehr als die für vier Additionschromosomen theoretisch möglichen acht Signale. So legen die in Abbildung 3.1m gezeigten 14 Signale im Tetradenstadium die Präsenz von sieben statt vier *C. monensis*-Chromosomen in zumindest einigen Pollenmutterzellen nahe (Mixoploidie). Mikrokerne wurden nur in wenigen der analysierten Tetraden gefunden (zwölf von 300 Tetraden mit einem Mikrokern, 4 %). Die Selbstungsnachkommenschaften dieses putativ doppelt-resistenten Genotyps umfaßten

zumeist phänotypisch intermediäre Pflanzen mit Chromosomenzahlen zwischen  $2n=39$  und  $2n=44$ ; die in Abbildung 3.1q gezeigte GISH-Metaphase der  $BC_2S_2^*$  16/1-3-6<sub>VII</sub> ( $2n=40-42$ , zwei Extrachromosomen des Resistenzdonors) stellt einen typischen Fall dar (Tab. 3.6; auch N. KRONE, pers. Mitteilung). Diese Nachkommenschaft wies stets mehr adultresistente (Abb. 3.1p, die beiden Pflanzen links im Bild) als adultanfällige (Abb. 3.1p, die beiden Pflanzen rechts) sowie mehr kotyledonenanfällige als kotyledonenresistente Individuen auf, was insbesondere gegenüber dem Isolat W4 deutlich wurde (Tab. 3.2, Abb. 3.2a; siehe auch Kap. 3.1.3).

Bei der sich von der  $BC_2S_1^*$  16/1-3 ableitenden adultresistenten  $BC_2S_2^*$ -Pflanze 16/1-3-27 (Abb. 3.1r) konnte für die Mehrzahl der Zellen eine monosome Addition ( $2n=39$ ) festgestellt werden, auch  $2n=40$  und andere Chromosomenzahlen traten bei dieser mixoploiden Pflanze auf. Die ermittelte Kotyledonenresistenz dieses Individuums gegenüber dem Isolat M1 konnte vor allem für das Isolat W4 in aufeinanderfolgenden Selbstungsnachkommenschaften nicht bestätigt werden. Die  $BC_2S_2^*$ -Pflanze 16/1-3-27 zeichnete sich bereits durch einen Rapshabitus und eine hohe Fertilität aus. Da GISH-Untersuchungen jedoch nur an Interphasezellen (Abb. 3.1r, kleines Bild unten rechts) erfolgen konnten, kann keine Aussage über die Gestalt des Additionschromosoms getroffen werden. Allerdings wurde in der Selbstungsnachkommenschaft dieser Pflanze bei einem Individuum, der  $BC_2S_3^*$  16/1-3-27.9, mit GISH ein monosomes, meta- oder submetacentrisches Additionschromosom detektiert (Abb. 3.1s). Die  $BC_2S_2^*$  16/1-3-2, die noch einen intermediären Phänotyp besaß, wies ebenfalls eine in Interphasezellen beobachtete monosome Addition auf (Tab. 3.2 & 3.6). Auffällig ist die hohe Anzahl adultresistenter Selbstungsnachkommen der  $BC_2S_2^*$ -Pflanze 16/1-3-27 (Tab. 3.2, Abb. 3.2). Durch weitere Selbstungen dieser Individuen konnte eine Vielzahl putativer Rekombinationslinien ( $BC_2S_3^*$  bis  $BC_2S_5^*$ ) erstellt und identifiziert werden (Kap. 3.1.2.2).

Tabelle 3.2 zeigt auch, daß die Wildcrucifere *C. monensis* (Abb. 3.3a) resistente und anfällige Individuen auf beiden Ebenen umfaßt (Abb. 3.2 sowie 3.3b & c; vgl. die in Tab. 3.7 dargelegte vollständige Resistenz von *S. arvensis*). Hierauf basierten die Kreuzungsexperimente zur Untersuchung der Genetik der Kotyledonenresistenz (Kap. 3.1.2.4, Abb. 3.3c). Im Gegensatz zu nahezu allen anderen getesteten Genotypen (Ausnahme: *B. juncea*) wies *C. monensis* gegenüber dem Isolat M1 mehr adultanfällige Individuen auf als gegenüber W4 (Abb. 3.2).

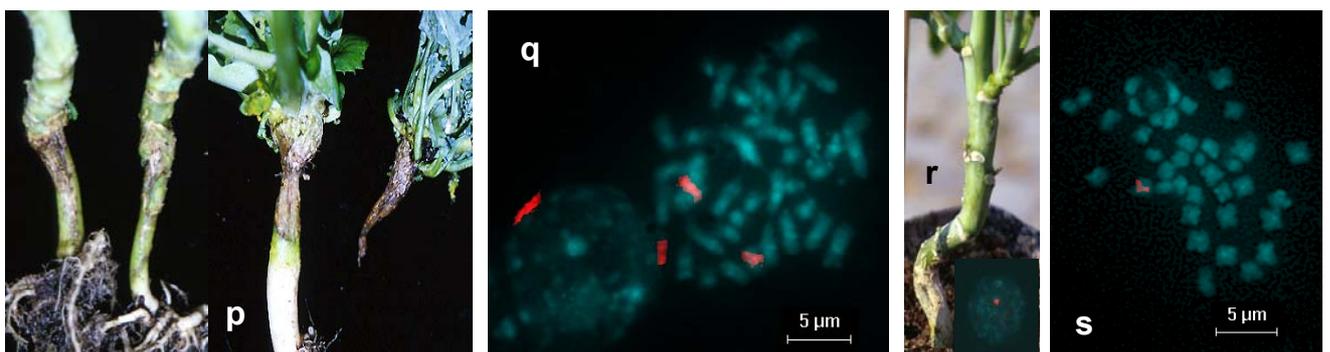
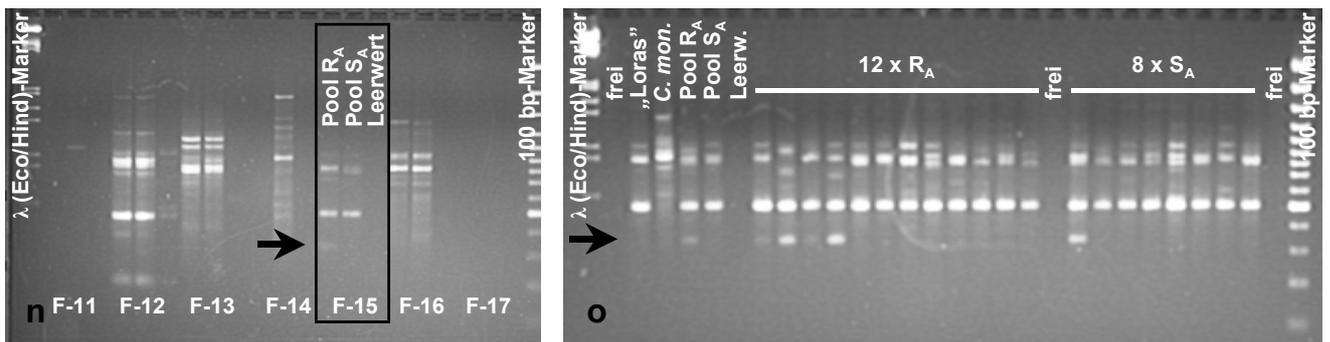
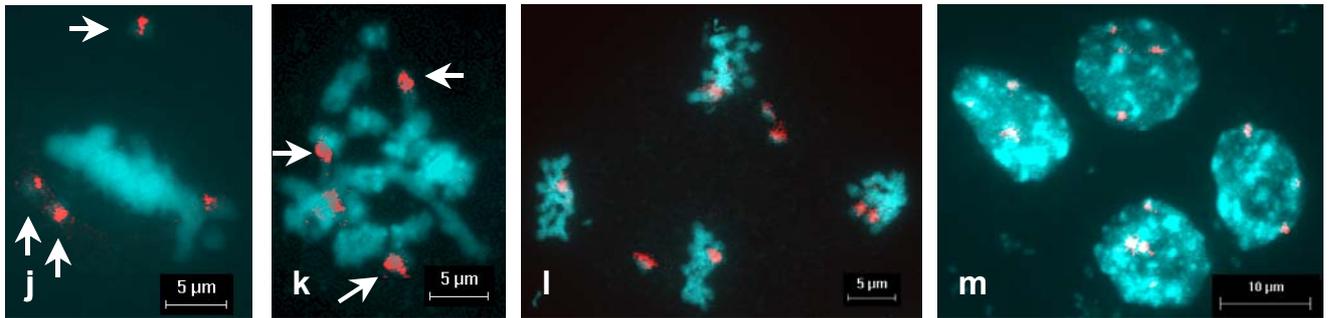
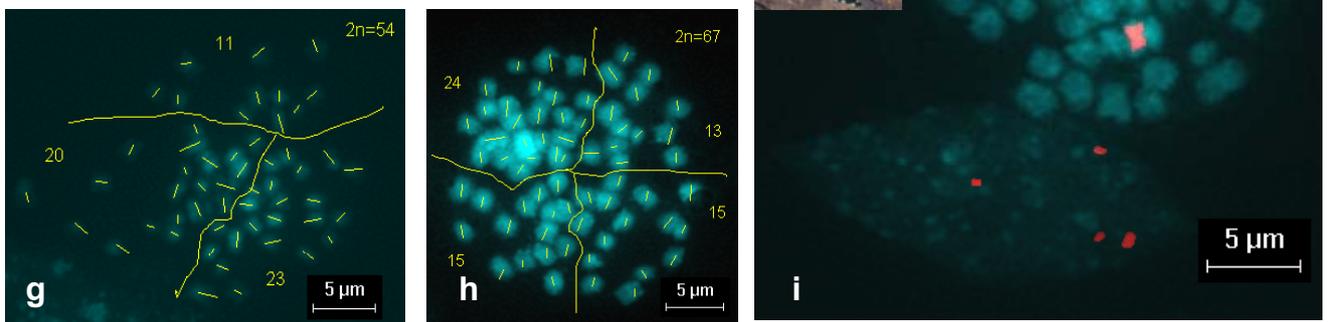
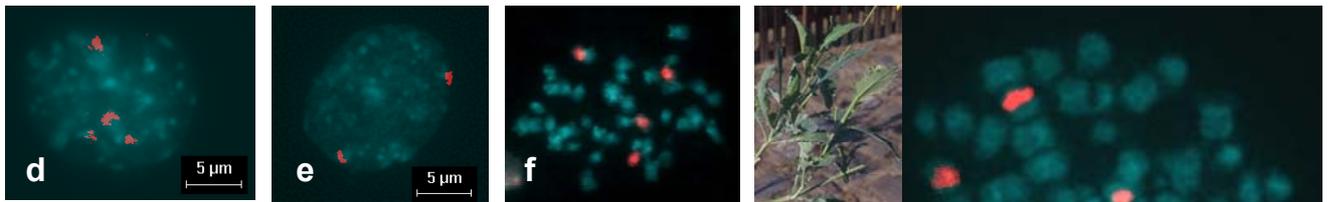
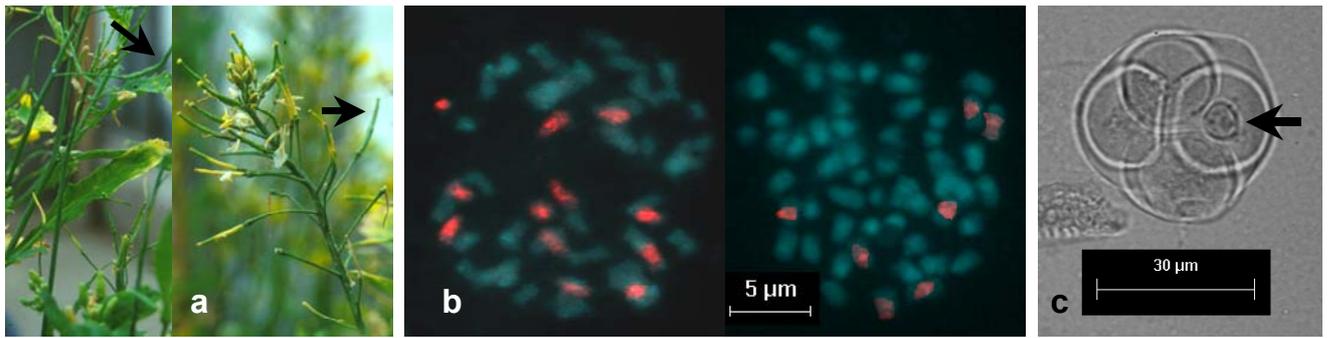
**Tab. 3.2** (S. 53) Karyotypen von *B. napus*-*C. monensis*-Rückkreuzungsnachkommen sowie Verhalten ihrer Selbstungsnachkommenschaften und von Kontrollpflanzen in Tests mit Doppelinokulation gegenüber den Isolaten W4 (blau) bzw. M1 (rot) von *Leptosphaeria maculans*. Einige Genotypen wurden auch in Adulttests an kotyledoneninokulierten Pflanzen (W4, M1), Stengelbasistests (W4, M1) und Kotyledonentests (W4, M1) untersucht. Die Chromosomenzahlen ( $2n$ ) sowie die darin enthaltene, mit GISH ermittelte Anzahl der Chromosomen von *C. monensis* (Extrachromosomen) sind angegeben; aufgeführt ist der Regel-Karyotyp, zu Abweichungen siehe Tab. 3.6. Den bereits direkt getesteten  $BC_2S_2^*$ -Genotypen (tiefgestellte römische Zahlen: Versuchsbezeichnung) ist darüber hinaus das mit dem jeweiligen Isolat ermittelte Resistenzverhalten zugeordnet. *C. monensis* ist der Resistenzdonor; der rekurrente Rückkreuzungselter, *B. napus* „Loras“, ist eine anfällige Rapssorte. Die unter „*C. monensis*“ aufgeführten Pflanzen gehen auf älteres Saatgut (PLÜMPER 1995) zurück, dessen genaue Abstammung nicht mehr zweifelsfrei zu ermitteln ist (vermutlich alte Charge von *C. monensis* „86“). \* = putative Selbstungen, zurückgehend auf das freie Abblühen der  $BC_2$ -Pflanze 16/1; n.b. = nicht bestimmt/nicht bestimmbar. Resistenzklassen: R = resistant, S = anfällig, C = Kotyledonen- (in Zus.), A = Adult- (in Zus.), C/A = kombinierte Kotyledonen- und Adultresistenz bzw. -anfälligkeit (siehe auch Kap. 2.2.3.1 & 2.2.3.2 sowie Tab. 2.4 & 2.6).

Genotyp [Isolat: Resistenzverh.]	2n [Extra- chrom.]	Pfl.- anzahl	Häufigkeiten des jeweiligen Resistenzverhaltens							
			R <sub>C</sub>	S <sub>C</sub>	R <sub>A</sub>	S <sub>A</sub>	R <sub>C/A</sub>	S <sub>C/R<sub>A</sub></sub>	R <sub>C/S<sub>A</sub></sub>	S <sub>C/A</sub>
BC <sub>3</sub> 16/1/2	38-42 <sup>a</sup> [2]	30	10	20	0	30	0	0	10	20
		28	6	22	0	28	0	0	6	22
BC <sub>2</sub> S <sub>1</sub> * 16/1-3	44 [4]	76	23	53	53	23	18	35	5	18
		10			6	4				
		49	23	26	29	20	14	15	9	11
BC <sub>2</sub> S <sub>1</sub> * 16/1-6	~42, 42-67, 60-70 <sup>a</sup> , 54 [4-6]	10	6	4	5	5	3	2	3	2
		10	2	8	2	8	0	2	2	6
BC <sub>2</sub> S <sub>1</sub> * 16/1-12	n.b.	7	1	6	2	5	0	2	1	4
BC <sub>2</sub> S <sub>2</sub> * 16/1-3-2 <sub>IV</sub> [W4: S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]	39 (42) [1]	9	7	2	6	3	5	1	2	1
		6	0	6	4	2	0	4	0	2
BC <sub>2</sub> S <sub>2</sub> * 16/1-3-5 <sub>IV</sub> [W4: S <sub>C/A</sub> ]	n.b.	2	1	1	0	2	0	0	1	1
BC <sub>2</sub> S <sub>2</sub> * 16/1-3-8 <sub>IV</sub> [W4: S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]	n.b.	14	4	10	8	6	3	5	1	5
		11	1	10	7	4	1	6	0	4
BC <sub>2</sub> S <sub>2</sub> * 16/1-3-15 <sub>VI</sub> [W4: R <sub>C/A</sub> ]	n.b.	23	7	16	17	6	6	11	1	5
		8	0	8	6	2	0	6	0	2
BC <sub>2</sub> S <sub>2</sub> * 16/1-3-27 <sub>IV</sub> [M1: R <sub>C/A</sub> ]	39 (40) [1]	65	5	60	61	4	5	56	0	4
		9			9	0				
		50	1	49	43	7	1	42	0	7
<i>C. monensis</i>	24	41 <sup>b</sup>	27 <sup>b</sup>	14 <sup>b</sup>	27 <sup>b</sup>	14 <sup>b</sup>	22 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>	9 <sup>b</sup>
		3			1	2				
		7	4	3						
		9	4	5	4	5	2	2	2	3
		2			1	1				
<i>C. monensis</i> „86“	24	13	5	8	11	2	5	6	0	2
		33	14	19	30	3	12	18	2	1
		14	4	10	3	11	0	3	4	7
		35	11	24	23	12	6	17	5	7
<i>C. monensis</i> „95“	24	12	4	8	10	2	3	7	1	1
		28	8	20	28	0	8	20	0	0
		12	4	8	5	7	2	3	2	5
		33	8	25	22	11	5	17	3	8
		1	0	1						
<i>B. napus</i> „Loras“	38	69	6	63	0	69	0	0	6	63
		13			0	13				
		54	13	41	0	54	0	0	13	41
		10 <sup>c</sup>			1 <sup>c</sup>	9 <sup>c</sup>				
		4			1			3		

<sup>a</sup> Exakte Bestimmung der Chromosomenzahl war nicht möglich (bezieht sich auf Chromosomenzahl einer Zelle).

<sup>b</sup> Inklusive Tests, die nicht Bestandteil dieser Arbeit waren (S. GÄRTIG, pers. Mitteilung; Winter *et al.* 1999).

<sup>c</sup> Adulttest an kotyledoneninokulierten Pflanzen ohne Kotyledonenbonitur.



**Abb. 3.1** (S. 54) Charakterisierung der *B. napus*-*C. monensis*-Gruppe (I). **(a)** Blattmorphologie und weitreichende Sterilität der BC<sub>2</sub>-Pflanze 16/1 mit Genen für Kotyledonen- und Adultresistenz; die Pfeile kennzeichnen wenige, auf offenes Abblühen zurückgehende Schoten, die nach Anwendung von *embryo rescue* zu putativen BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>-Pflanzen (BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>\*, **f-m**) führten. **(b, d-m, q-s)** Genomische *in situ*-Hybridisierung (GISH) an adultresistenten Pflanzen (rot: mit Fluorochrom Cy3 bzw. Digoxigenin markierte *C. monensis*-Chromosomen, blau: *B. napus*-Chromosomen in DAPI-Gegenfärbung, Bildbearbeitung mit Software Image-Pro® Plus, Version 4.5). Alle mitotischen Zellen aus Griffelgewebe **(b, d-i, q-s)**, meiotische Zellen (Pollenmutterzellen) und Tetradenstadien aus Antheren **(c, j-m)**. **(b)** Zwölf (Bild links) bzw. sieben (rechts, 2n=54) Chromosomen von *C. monensis* in der mixoploiden BC<sub>2</sub>-Pflanze 16/1 (zumeist 2n=50-54). **(c)** Meiosestörungen in der BC<sub>2</sub> 16/1 führen zu Mikrokernen (Pfeil) im Tetradenstadium. **(d, e)** Vier bzw. zwei Extrachromosomen in Interphasezellen der adultanfälligen BC<sub>3</sub>-Pflanzen 16/1/1 **(d)** und 16/1/2 **(e)**. **(f-h)** Mixoploidie in der BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>\* 16/1-6; in **(g)** und **(h)** zu viel Hintergrund für GISH-Signal, im Bild ist die typische Art der Chromosomenzählung dargestellt (manuell, lediglich von der Zeichnungsfunktion der Bildbearbeitungssoftware unterstützt): 2n~42 **(f)**, vier Chromosomen von *C. monensis*; 1250fache Vergrößerung wie in Abb. 3.4), 2n=54 **(g)**, 2n=67 **(h)**. **(i-m)** BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>\*-Pflanze 16/1-3. **(i)** Habitus (kleines Bild oben links) sowie vier *C. monensis*-Additionschromosomen jeweils in mitotischer Meta- und Interphase (2n=44). **(j, k)** *C. monensis*-Chromosomen treten in Form von mindestens drei Univalenten [Pfeile; bei **(k)** nach Fokussieren am Mikroskop deutlich] in der meiotischen Metaphase I auf. Das Paarungsverhalten des vierten Extrachromosoms ist unklar. **(l)** Drei zurückhängende (*lagging*) Chromosomen von *C. monensis* in der späten Anaphase II. **(m)** Verteilung der Extrachromosomen (-chromatiden) auf die Produkte der Meiose in einer Tetrade ohne Mikrokern: Vier (oberes und unteres Pollenkorn) bzw. drei (Pollenkörner links und rechts) *C. monensis*-Signale (Evidenz für sieben Extrachromosomen der Wildart in der zugrundeliegenden Pollenmutterzelle, Mixoploidie). **(n)** *Bulk segregant analysis* zeigt bei Operon-Primer F-15 (OPF-15) RAPD-Polymorphismus (Pfeil) zwischen dem adultresistenten (R<sub>A</sub>, z. B. die beiden Pflanzen links im Bild in **p**) und -anfälligen (S<sub>A</sub>, z. B. die beiden Individuen rechts im Bild in **p**) Pool (Selbstungsnachkommen der BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>\* 16/1-3 gegenüber Isolat W4), dem nach Testen auf Einzelpflanzenniveau **(o)**, 12 x R<sub>A</sub>, 8 x S<sub>A</sub>) jedoch kein Markercharakter zukommt. **(q)** Zwei Extrachromosomen in einer Pflanze der nächsten Selbstungsgeneration (BC<sub>2</sub>S<sub>2</sub>\* 16/1-3-6<sub>VII</sub>, 2n=40-42). **(r)** Adultresistenz der mixoploiden BC<sub>2</sub>S<sub>2</sub>\* 16/1-3-27 (Rapshabitus) nach Test mit Doppelinokulation und monosome Addition in Interphase (unten rechts). **(s)** Ein meta- oder submetacentrisches Additionschromosom in der darauffolgenden BC<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\* 16/1-3-27.9<sub>VII</sub>.

### 3.1.2.2 Selbstungen putativ rekombinanter Rückkreuzungsnachkommen (2n=38) zur Analyse der Genetik der Adultresistenz (BC<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\*-BC<sub>2</sub>S<sub>5</sub>\*)

Tabelle 3.3 zeigt die Ergebnisse von Resistenztests an Selbstungsnachkommen von BC<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\*- und BC<sub>2</sub>S<sub>4</sub>\*-Genotypen mit hoher Fertilität und Rapshabitus (Abb. 3.3d). Diese leiten sich mit einer Ausnahme von den BC<sub>2</sub>S<sub>2</sub>\*-Pflanzen 16/1-3-2 und 16/1-3-27 ab (Kap. 3.1.2.1).

Es ist davon auszugehen, daß die in Tabelle 3.3 aufgeführten Genotypen keine Gene für Kotyledonenresistenz gegenüber dem Isolat W4 mehr besitzen (vergleiche demgegenüber die Ergebnisse der Selbstungsnachkommen der BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>\* 16/1-3 auf Kotyledonenebene; Tab. 3.2 und Abb. 3.2). Davon abweichende Resultate einiger Nachkommenschaften und die uneindeutige Situation für das Isolat M1 bezüglich Kotyledonenresistenz werden in Kapitel 4.1.2 diskutiert.

**Tab 3.3** (S. 56) Karyotypen von *B. napus*-*C. monensis*-Rückkreuzungsnachkommen (tiefgestellte römische Zahlen: Versuchsbezeichnung) sowie Verhalten von Selbstungsnachkommenschaften und Kontrollgenotypen gegenüber den Isolaten W4 (blau) bzw. M1 (rot) von *Leptosphaeria maculans* in Tests mit Doppelinokulation und Stengelbasistests (W4). Das Resistenzverhalten auf Adultebene ist hervorgehoben. NPZ I und II sind für die NPZ getestete Rapslinien. 0 Signale = in GISH-Analysen wurde kein *C. monensis*-Chromatin detektiert, \* = putative Selbstungen (zurückgehend auf das freie Abblühen der BC<sub>2</sub> 16/1), n.b. = nicht bestimmt/nicht bestimmbar. Bezeichnung der Resistenzklassen wie in Tab. 3.1. <sup>a/b/c</sup> Resultate im Detail aufgrund suboptimaler Testbedingungen fraglich, <sup>a</sup> GV IX, <sup>b</sup> GV VII, <sup>c</sup> PCK.

Genotyp [Resistenzverhalten gegenüber Isolat W4]	2n=38	0 Sign.	Pfl.- anzahl	Häufigkeiten des jeweiligen Resistenzverhaltens							
				R <sub>C</sub>	S <sub>C</sub>	R <sub>A</sub>	S <sub>A</sub>	R <sub>C/A</sub>	S <sub>C/R<sub>A</sub></sub>	R <sub>C/S<sub>A</sub></sub>	S <sub>C/A</sub>
BC <sub>2</sub> S <sub>3</sub> * 16/1-3-2.1 <sub>V</sub>	(x)	x	33	0	33	6	27	0	6	0	27
[S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]			25	0	25	14	11	0	14	0	11
BC <sub>2</sub> S <sub>3</sub> * 16/1-3-2.6 <sub>V</sub>	x	x	17	3	14	12	5	3	9	0	5
[S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]			1	0	1	0	1	0	0	0	1
BC <sub>2</sub> S <sub>3</sub> * 16/1-3-8.13 <sub>V</sub>	n.b.	n.b.	15	0	15	9	6	0	9	0	6
[R <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]			15	4	11	11	4	3	8	1	3
BC <sub>2</sub> S <sub>3</sub> * 16/1-3-27.16 <sub>V</sub>	x		19	2	17	11	8	2	9	0	8
[S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]			10	4	6	10	0	4	6	0	0
BC <sub>2</sub> S <sub>3</sub> * 16/1-3-27.18 <sub>V</sub>	x	x	38	0	38	31	7	0	31	0	7
[S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]			19 <sup>c</sup>			15 <sup>c</sup>	4 <sup>c</sup>				
			19	3	16	16	3	3	13	0	3
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.1.1 <sub>VI</sub>	x	x	29	3	26	0	29	0	0	3	26
[S <sub>C/A</sub> ]			10 <sup>a</sup>	0	10	3 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>
			19	0	19	0	19	0	0	0	19
			10 <sup>a</sup>	0	10	3 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.1.5 <sub>VI</sub>	x	x	18	0	18	16	2	0	16	0	2
[S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]			17	4 <sup>a</sup>	13 <sup>a</sup>	17	0	4 <sup>a</sup>	13 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
			9 <sup>b</sup>	7 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	9	0	7 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
			16	0	16	12 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	12 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.6.1 <sub>VI</sub>	x	x	20	0	20	14	6	0	14	0	6
[S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]			10	3	7	7	3	3	4	0	3
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.6.8 <sub>VI</sub>	x	x	39	2	37	31	8	2	29	0	8
[S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]			20	0	20	17	3	0	17	0	3
			9 <sup>b</sup>	9 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	9 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	9 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.6.9 <sub>VI</sub>	x	x	19	0	19	5	14	0	5	0	14
[S <sub>C/A</sub> ]			19 <sup>a</sup>	15 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	9 <sup>a</sup>	10 <sup>a</sup>	8 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>
			10	1	9	0	10	0	0	1	9
			19 <sup>a</sup>	0	19	10 <sup>a</sup>	9 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	10 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	9 <sup>a</sup>
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.6.13 <sub>VI</sub>	x	x	39	7	32	36	3	7	29	0	3
[S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]			29	16	13	28	1	16	12	0	1
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.6.14 <sub>VI</sub>	x	x	14	0	14	3	11	0	3	0	11
[S <sub>C/A</sub> ]			19 <sup>b</sup>	0	19	8 <sup>b</sup>	11 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	8 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	11 <sup>b</sup>
			9 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	8 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>
			28	3	25	2	26	0	2	3	23
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.1 <sub>VI</sub>	x	x	47	3	44	33	14	2	31	1	13
[S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]			18	6	12	15	3	5	10	1	2
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.13 <sub>VI</sub>	x	x	38	0	38	30	8	0	30	0	8
[S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]			26	8	18	20	6	6	14	2	4
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.16 <sub>VI</sub>	x	x	46	0	46	34	12	0	34	0	12
[S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]			20 <sup>c</sup>			18 <sup>c</sup>	2 <sup>c</sup>				
			34	5	29	27	7	5	22	0	7
NPZ I	n.b.	n.b.	30	0	30	0	30	0	0	0	30
			31	0	31	0	31	0	0	0	31
NPZ II	n.b.	n.b.	30	0	30	0	30	0	0	0	30
			29	0	29	0	29	0	0	0	29

Selbstungsnachkommen

Kontr.pfl.

Mit Ausnahme der BC<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\* 16/1-3-2.1 (neben 2n=38 auch Zellen mit 2n=41/42) konnte bei keinem der in den Tabellen 3.3 und 3.6 dokumentierten cytologischen Analysen an Vertretern dieser Gruppe eine Abweichung vom Raps-Karyotyp (2n=38, keine GISH-Signale; Abb. 3.3f & g) nachgewiesen werden. Exemplarisch durchgeführte Meiose-Untersuchungen an BC<sub>2</sub>S<sub>4</sub>\*-Individuen zeigten die hohe cytologische Stabilität dieser Pflanzen (nur Bivalente, keine *lagging*-Chromosomen in Anaphase, keine Mikrokerne; Abb. 3.3h).

Die Resistenztests an einer Vielzahl von Nachkommenschaften geselbsteter putativ rekombinanter, adultresistenter und -anfälliger (letztere: BC<sub>2</sub>S<sub>4</sub>\*-Pflanzen 16/1-3-2.1.1, 16/1-3-2.6.9 und 16/1-3-2.6.14) Individuen gaben Hinweise auf die Genetik der Adultresistenz. Diese sind in Tabelle 3.4 zusammenfassend dargelegt. Es konnten zwei Gene (*Rlmca1*, *Rlmca2*; *Rlmca* = resistance to *Leptosphaeria maculans* from *Coincya monensis* at the adult plant stage) ermittelt werden, die wie folgt Adultresistenz (R<sub>A</sub>, die drei Pflanzen links in Abb. 3.3e) bewirken:

<p><b>R<sub>A</sub>:</b>    <b><i>Rlmca1</i></b>    <b>— — —</b>                            <b>— —</b> <b><i>Rlmca2</i></b> <b><i>Rlmca2</i></b></p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Die monogen-dominante Vererbung (*Rlmca1*) wird dabei durch den Locus *Rlmca2* modifiziert. Dieser bewirkt im Falle des Vorliegens beider dominanter Allele ebenfalls die Ausprägung des adultresistenten Phänotyps.

Diese Resistenzgenetik - die  $\chi^2$ -Grenze bei einem Freiheitsgrad und einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % ( $\alpha = 0,05$ ) liegt bei 3,84 (Tab. 3.4) - trifft im Falle der Selbstungsnachkommen der BC<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\* 16/1-3-27.18 auf beide Isolate zu. Jedoch ist auch ein monogener Erbgang unter ausschließlicher Beteiligung des Resistenzgens *Rlmca1* aus Tabelle 3.4 ableitbar. Die Existenz eines zweiten Resistenzgens erklärt sich aus dem Resistenzverhalten eines großen Teils der BC<sub>2</sub>S<sub>4</sub>\*- und BC<sub>2</sub>S<sub>5</sub>\*-Nachkommenschaften, die sich von der BC<sub>2</sub>S<sub>2</sub>\* 16/1-3-2 ableiten (Tab. 3.4). Bei der BC<sub>2</sub>S<sub>2</sub>\* 16/1-3-2 und der BC<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\* 16/1-3-27.16 legt das Verhalten ihrer Selbstungsnachkommen (Tab. 3.2 & 3.3) insbesondere für das Isolat M1 die Präsenz eines weiteren, dritten Resistenzgens nahe. Im Falle von W4 kann der Einfluß eines solchen dritten Gens nicht ausgeschlossen werden (siehe Selbstungsnachkommen der BC<sub>2</sub>S<sub>4</sub>\*-Pflanzen 16/1-3-2.1.5 und 16/1-3-2.6.14, bedingt auch bei denen der BC<sub>2</sub>S<sub>4</sub>\* 16/1-3-2.6.13; Tab. 3.4 und Kap. 4.1.2).

Eine ursprünglich bereits angenommene homozygote Fixierung der Adultresistenz in zwei BC<sub>2</sub>S<sub>4</sub>\*-Genotypen (16/1-3-2.1.5, 16/1-3-2.6.13) muß vor dem Hintergrund der im vorigen Absatz angestellten Überlegungen problematisiert werden. Die daraus erstellten BC<sub>2</sub>S<sub>5</sub>\*-Generationen spalteten in einigen Versuchen hinsichtlich dieses Merkmals nicht mehr auf. Auf Ursachen für die Adultanfälligkeit einiger weniger Individuen (Tab. 3.3 & 3.4) wird in Kapitel 4.1.2 eingegangen.

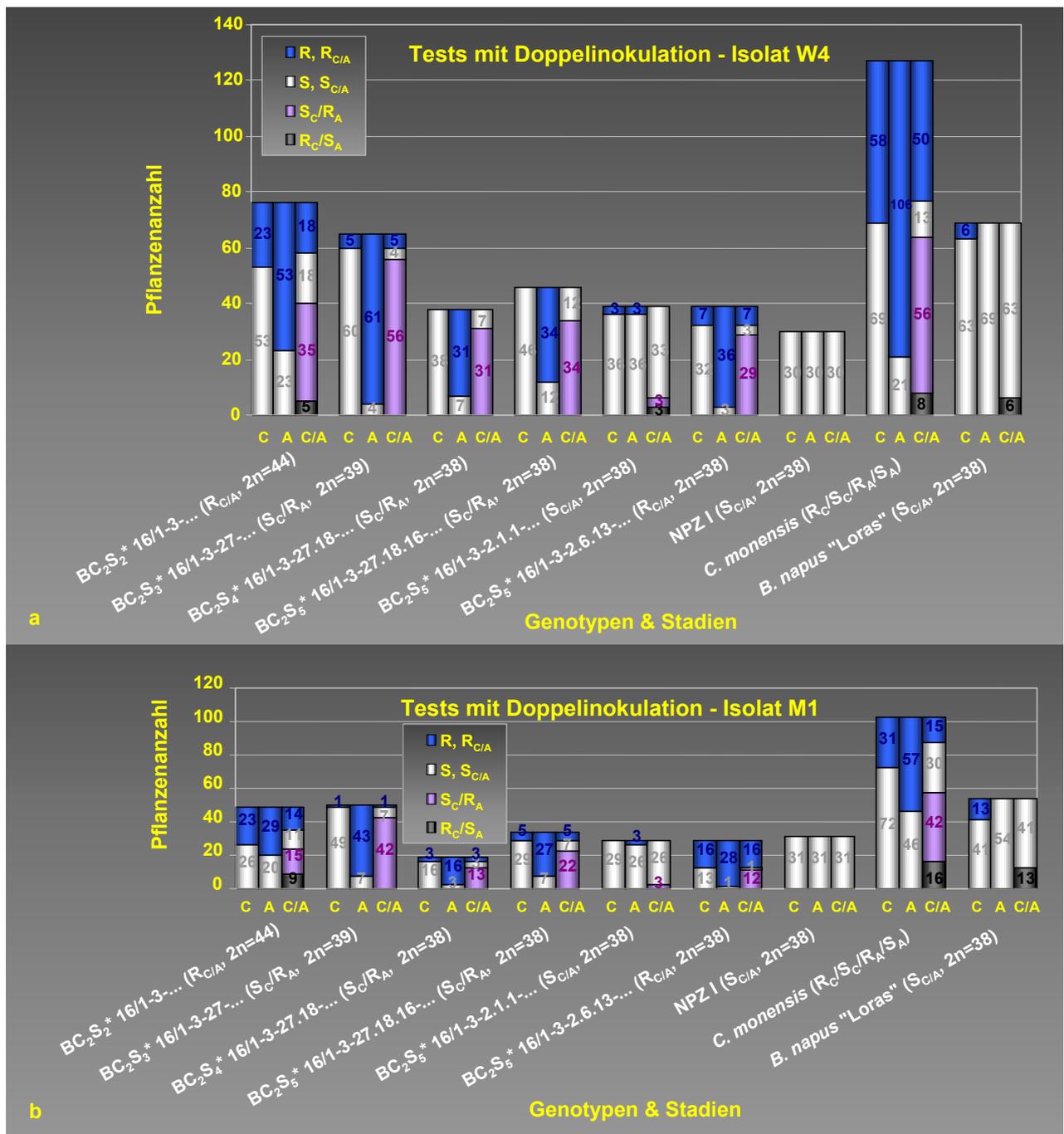
Nach signifikanten Abweichungen von der Nullhypothese (H<sub>0</sub>) des  $\chi^2$ -Homogenitätstests (H<sub>0</sub>: Den Teilversuchen - siehe Tab. 3.3 - liegt die bei  $\alpha = 0,05$  die gleiche Verteilung zugrunde.) konnten lediglich die Teilergebnisse der BC<sub>2</sub>S<sub>5</sub>\* 16/1-3-2.6.9-... (Isolat M1) und der BC<sub>2</sub>S<sub>5</sub>\* 16/1-3-2.6.13-... (Isolat W4) nicht zusammengefaßt werden (Tab. 3.4). Bei allen anderen statistisch untersuchten Spaltungsverhältnissen dieser Arbeit erlaubte der  $\chi^2$ -Homogenitätstests eine solche Datenakkumulation.

**Tab. 3.4** Prüfung der 2-Gen-Hypothese (siehe S. 57) zur Genetik der Adultresistenz der *B. napus*-*C. monensis*-Linien (Isolate **W4** und **M1**) anhand zusammengefaßter Ergebnisse von Tests mit Doppelinkulation an Selbstungsnachkommenschaften von Einzelpflanzen (tiefgestellte römische Zahlen: Versuchsbezeichnung; siehe Tabelle 3.3) anhand des  $\chi^2$ -Anpassungstests (FG = 1,  $\alpha = 0,05$ ,  $\chi^2$ -Grenze = 3,84).  $R_A$  = Adultresistenz bzw. Anzahl solcher Pflanzen in Nachkommenschaft,  $S_A$  = Adultanfälligkeit bzw. Anzahl solcher Pflanzen in Nachkommenschaft.  $\chi^2$  mit \* = keine signifikante Abweichung von Nullhypothese ( $H_0$ ) erst ab  $\alpha = 0,025$ ,  $\chi^2$  mit \*\* = signifikante Abweichung von  $H_0$  bei  $\alpha = 0,001$ . [...] = Ergebnisse des  $\chi^2$ -Homogenitätstests (aufgeführt nur, sofern dieser zur Ablehnung der  $H_0$  bei  $\alpha = 0,05$  führte; FG = 1): keine signifikante Abweichung von  $H_0$  erst ab  $\alpha = 0,01$  (#) bzw.  $\alpha = 0,001$  (##).

Genotyp [Resistenzverhalten gegenüber Isolat W4]	$R_A$	$S_A$	Postulierte Resistenzgene (bei Selbstungselter)	Theor. Spaltung ( $R_A:S_A$ )	$\chi^2$
BC <sub>2</sub> S <sub>3</sub> * 16/1-3-2.1 <sub>V</sub> [ $S_C/R_A$ ]	6	27	rlmca1 rlmca1 Rlmca2 rlmca2	1:3	0,495
	14	11	rlmca1 rlmca1 Rlmca2 rlmca2	1:3	11,213**
BC <sub>2</sub> S <sub>3</sub> * 16/1-3-2.6 <sub>V</sub> [ $S_C/R_A$ ]	12	5	Rlmca1 rlmca1 Rlmca2 rlmca2	13:3	0,665
	0	1		-	-
BC <sub>2</sub> S <sub>3</sub> * 16/1-3-27.18 <sub>V</sub> [ $S_C/R_A$ ]	31	7	Rlmca1 rlmca1 Rlmca2 rlmca2	13:3	0,025
	16	3	Rlmca1 rlmca1 Rlmca2 rlmca2	13:3	0,001
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.1.1 <sub>VI</sub> [ $S_C/A$ ]	3 <sup>a</sup>	36 <sup>a</sup>	rlmca1 rlmca1 rlmca2 rlmca2	alle $S_A$	-
	3 <sup>a</sup>	26 <sup>a</sup>	rlmca1 rlmca1 rlmca2 rlmca2	alle $S_A$	-
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.1.5 <sub>VI</sub> [ $S_C/R_A$ ]	33	2	rlmca1 rlmca1 Rlmca2 Rlmca2	alle $R_A$	-
	21	4	rlmca1 rlmca1 Rlmca2 Rlmca2	alle $R_A$	-
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.6.1 <sub>VI</sub> [ $S_C/R_A$ ]	14	6	Rlmca1 rlmca1 rlmca2 rlmca2	3:1	0,067
	7	3	Rlmca1 rlmca1 rlmca2 rlmca2	3:1	0
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.6.8 <sub>VI</sub> [ $S_C/R_A$ ]	31	8	Rlmca1 rlmca1 Rlmca2 rlmca2	13:3	0,006
	26 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	Rlmca1 rlmca1 Rlmca2 rlmca2	13:3	0,850
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.6.9 <sub>VI</sub> [ $S_C/A$ ]	14 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>	rlmca1 rlmca1 Rlmca2 rlmca2	1:3	2,245
	10 <sup>a</sup>	19 <sup>a</sup>	rlmca1 rlmca1 Rlmca2 rlmca2	1:3	[7,035]##
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.6.13 <sub>VI</sub> [ $S_C/R_A$ ]	36	3	Rlmca1 rlmca1 Rlmca2 rlmca2	13:3	2,447
	28	1	Rlmca1 rlmca1 Rlmca2 rlmca2	13:3	3,509
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.6.14 <sub>VI</sub> [ $S_C/A$ ]	18 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>	rlmca1 rlmca1 Rlmca2 rlmca2	1:3	[6,604]#
	2	26	rlmca1 rlmca1 Rlmca2 rlmca2	1:3	3,857*
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.1 <sub>VI</sub> [ $S_C/R_A$ ]	33	14	Rlmca1 rlmca1 rlmca2 rlmca2	3:1	0,348
	15	3	Rlmca1 rlmca1 rlmca2 rlmca2	3:1	0,296
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.13 <sub>VI</sub> [ $S_C/R_A$ ]	30	8	Rlmca1 rlmca1 Rlmca2 rlmca2	13:3	0,025
			Rlmca1 rlmca1 rlmca2 rlmca2	3:1	0,140
	20	6	Rlmca1 rlmca1 Rlmca2 rlmca2	13:3	0,099
		Rlmca1 rlmca1 rlmca2 rlmca2	3:1	0	
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.16 <sub>VI</sub> [ $S_C/R_A$ ]	34	12	Rlmca1 rlmca1 rlmca2 rlmca2	3:1	0
	27	7	Rlmca1 rlmca1 rlmca2 rlmca2	3:1	0,157

Selbstungsnachkommen

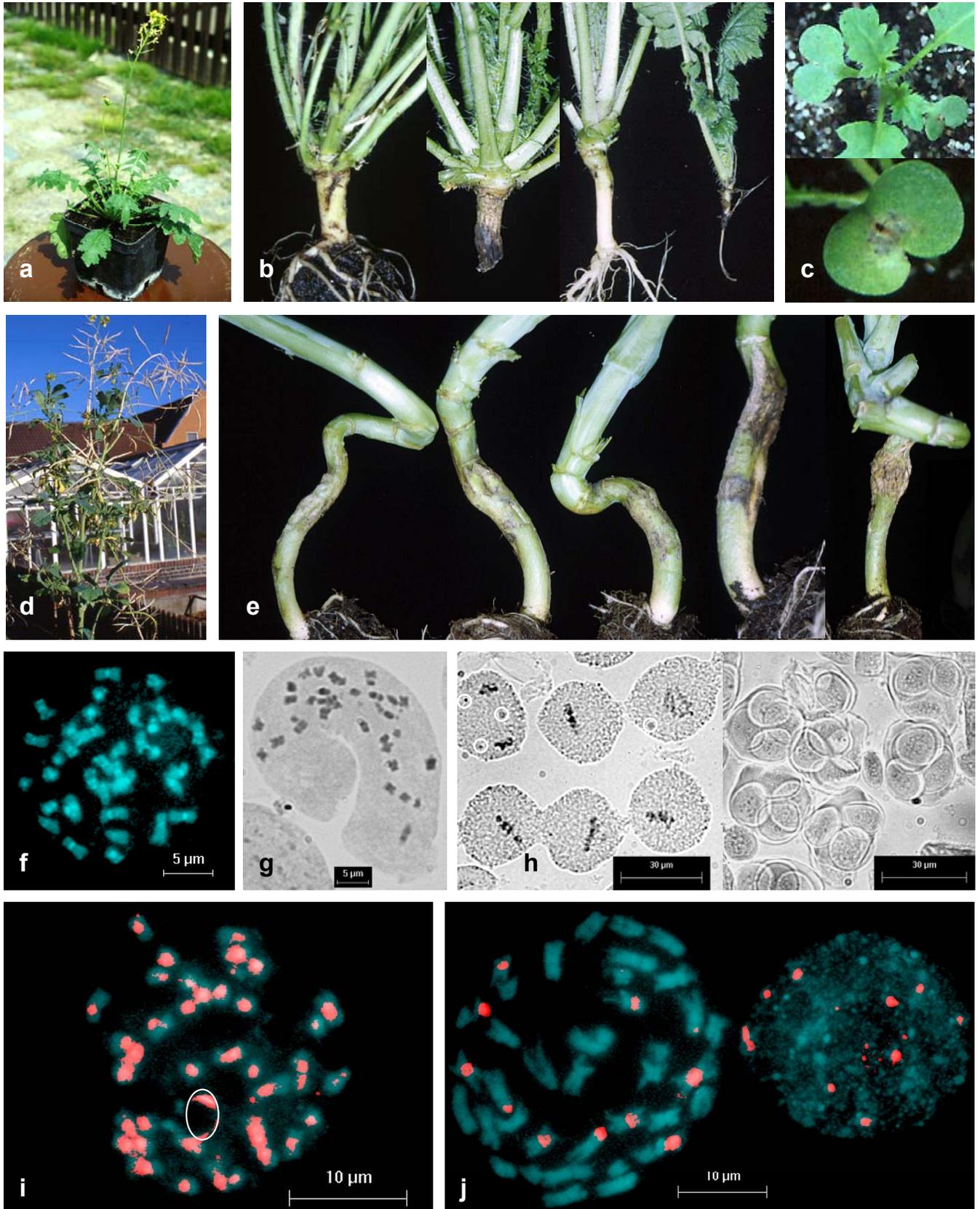
<sup>a</sup> Resultate im Detail aufgrund suboptimaler Testbedingungen fraglich



**Abb. 3.2** Resistenzverhalten ausgewählter *B. napus*-*C. monensis*-Rückkreuzungsnachkommenschaften sowie negativer und positiver Kontrollgenotypen in Tests mit Doppelinokulation gegenüber den Isolaten W4 (a) bzw. M1 (b). *C. monensis* ist der Resistenzdonor (mit bzgl. beider Resistenzen resistenten und anfälligen Individuen), hier beinhalten die Zahlen zusätzlich auch Ergebnisse von Adulttests an kotyledoneninokulierten Pflanzen; *B. napus* „Loras“ ist der Rückkreuzungselter und eine gegenüber *L. maculans* anfällige Rapsorte. NPZ I ist eine für die NPZ getestete Rapslinie. Hinter den Genotypen ist in Klammern die Chromosomenzahl und das Resistenzverhalten der Mutterpflanze, von der sich die Nachkommenschaft ableitet, aufgeführt, bei den Kontrollen das jeweilige genotypspezifische Normalverhalten. Das Resistenzverhalten ist in Blöcken von jeweils drei Säulen dargestellt: Kotyledonenresistenz/-anfälligkeit (linke Säule), Adultresistenz/-anfälligkeit (mittlere Säule), Kombination von Kotyledonen- und Adultresistenz/-anfälligkeit (rechte Säule). Resistenzklassen: R = resistent, S = anfällig, C = Kotyledonen- (in Zus.), A = Adult- (in Zus.), C/A = kombinierte Kotyledonen- und Adultresistenz bzw. -anfälligkeit (siehe auch Kap. 2.2.3.1 & 2.2.3.2 sowie Tab. 2.4 & 2.6).

Abbildung 3.2 verdeutlicht das Resistenzverhalten ausgewählter Rückkreuzungsnachkommen-

schaften. Sie zeigt noch einmal für beide Isolate die bei Selbstungsnachkommen doppelt-resistenter Pflanzen ( $BC_2S_1^*$  16/1-3) weniger starke Vererbung der Kotyledonenresistenz, sowohl im Vergleich zur Kotyledonenanfälligkeit als auch im Verhältnis zur Adultresistenz.



**Abb. 3.3** (S. 60) Charakterisierung der *B. napus-C. monensis*-Gruppe (II). **(a-c)** Resistenzdonor *C. monensis*. **(a)** Habitus. **(b)** Adultresistenz (Pflanze links und zweite von rechts) und -anfälligkeit (Pflanze rechts und zweite von links). Die beiden linken Pflanzen nach Test mit Doppelinokulation, die beiden rechten Pflanzen nach Adulttest an kotyledoneninokulierten Pflanzen. **(c)** Kotyledonenresistenz (oben) und -anfälligkeit (unten). **(d-h)** Auftreten von adultresistenten und -anfälligen Pflanzen ohne GISH-Signale, mit Raps-Habitus und hoher Fertilität ab der BC<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\*. **(d)** Habitus BC<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\* 16/1-3-2.1 (S<sub>C/A</sub>, 2n=38 und 2n=41/42, mixoploid, keine GISH-Signale), **(e)** Adultresistenz (die drei Pflanzen links) und -anfälligkeit (die beiden Pflanzen rechts) nach Test mit Doppelinokulation in *B. napus-C. monensis*-Linien der BC<sub>2</sub>S<sub>5</sub>\*-Generation. **(f-h)** Cytologische Analyse der adultresistenten BC<sub>2</sub>S<sub>4</sub>\*-Pflanze 16/1-3-27.18.16 (2n=38, nicht mixoploid), **(f)** Genomische *in situ*-Hybridisierung: keine Detektion von *C. monensis*-Chromatin (blau: *B. napus*-Chromosomen in DAPI-Gegenfärbung) in somatischen Zellen (Griffelgewebe), **(g)** klassische Chromosomenfärbung mit Orcein (Griffelgewebe), **(h)** reguläre Meiosen in Pollenmutterzellen (linkes Bild: Metaphase I und Anaphase I, weiße Kreise kennzeichnen Artefakte) und keine Detektion von Mikrokernen bei Tetradenanalyse (Antherengewebe, rechtes Bild). **(i)** Alle Chromosomen (Griffelgewebe) mit AACC-Signalen (*blocking*-DNA: *B. nigra*) bei GISH-Analyse der adultresistenten BC<sub>2</sub>S<sub>4</sub>\* 16/1-3-2.6.1 (2n=38, nicht mixoploid). Ellipse markiert Artefakt. **(j)** FISH-Analysen an *B. napus* „Loras“ zeigen ca. zwölf Signale unterschiedlicher Größe nach Hybridisierung mit 45S rDNA (Wurzelspitzen Gewebe).

Eine „umgekehrte Hybridisierung“ mit Raps-(AACC-)DNA bei BC<sub>2</sub>S<sub>4</sub>\*- und BC<sub>2</sub>S<sub>5</sub>\*-Genotypen führte zu Signalen unterschiedlicher Größe an allen 38 Chromosomen (Abb. 3.3i). Dabei wurde genomische DNA von *B. nigra* (Genom BB) als *blocking*-DNA verwendet. Die in Abbildung 3.3j bei *B. napus* „Loras“ gezeigten ca. zwölf FISH-Signale (10-14 Signale) nach Hybridisierung mit 45S rDNA traten auch bei allen fünf daraufhin untersuchten putativ rekombinanten *B. napus-C. monensis*-Rückkreuzungsnachkommen auf, z. B. bei der BC<sub>2</sub>S<sub>4</sub>\*-Pflanze 16/1-3-27.18.16.

### 3.1.2.3 Suche nach RAPD-Markern mittels *bulk segregant analysis*

Mittels *bulk segregant analysis* wurde die Selbstungsnachkommenschaft der aneuploiden BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>\*-Pflanze 16/1-3 (2n=44, vier Additionschromosomen von *C. monensis*, siehe auch Abb. 3.1i-r & 3.2 sowie Tab. 3.2 & 3.6) auf RAPD-PCR-Marker für Kotyledonen- bzw. Adultresistenz untersucht. Trotz des Prüfens von 320 RAPD-Primern für Kotyledonenresistenz (nicht im Rahmen dieser Arbeit, N. KRONE, pers. Mitteilung; WINTER *et al.* 2003a & b) bzw. 80 RAPD-Primern für Adultresistenz (siehe Tab. 2.11, Kap. 2.2.5.2) wurden keine Marker gefunden. Putative Differentialbanden (siehe Primer OPF-15 in Abb. 3.1n), die zunächst beim Testen der resistenten und anfälligen Pools auftraten, waren trotz gleicher PCR-Bedingungen oft nur schlecht reproduzierbar. Erschienen solche Banden nach Wiederholungen immer noch relevant, so erbrachte das Testen der jeweiligen Primer auf Einzelpflanzenebene die Erkenntnis, daß diesen Primer-Banden-Kombinationen kein Markercharakter zukommt (Abb. 3.1o). Aufgrund der Ergebnisse der RAPD-Primer-Suche für Kotyledonenresistenz und der in Kapitel 4.3 dargelegten Überlegungen wurde auf das Testen einer höheren Anzahl von Primern hinsichtlich Markern für Adultresistenz bei dieser aneuploiden Nachkommenschaft verzichtet.

Wie im Kapitel 3.1.2.2 dargestellt, wurden im weiteren Verlaufe der Untersuchungen hinsichtlich der Adultresistenz aufspaltende cytologisch stabile, putativ rekombinante *B. napus-C. monensis*-Linien (2n=38, keine GISH-Signale) identifiziert, die nur eines der beiden Resistenzgene besitzen. Hierzu gehört auch die Selbstungsnachkommenschaft der BC<sub>2</sub>S<sub>4</sub>\*-Pflanze 16/1-3-27.18.1

(Tab. 3.4, gleiches cytologisches Verhalten wie die in Abb. 3.3f-h dargestellte Pflanze). Der Genotyp dieser BC<sub>2</sub>S<sub>4</sub>\*-Pflanze (Rlmca1 rlmca1 rlmca2 rlmca2) führte zu einer 3:1-Aufspaltung der Selbstungsnachkommenschaft. Diese Nachkommen waren Grundlage einer erneuten, im Vorfeld aussichtsreicheren Suche nach molekularen Markern mittels *bulk segregant analysis*. Es wurden 83 Primer (siehe Tab. 2.11, Kap. 2.2.5.2) am resistenten und am anfälligen Pool sowie an den Elterngenotypen getestet. 20 davon, die zunächst erfolgversprechend erschienen, wurden mindestens zweimal geprüft: OPE-6, OPE-11, OPE-12, OPE-13, OPE-14, OPE-19, OPF-1, OPF-8, OPF-9, OPF-12, OPF-13, OPF-15, OPF-16, OPF-19, OPF-20, OPH-2, OPG-11, OPL-12, OPM-18 und OP2-20. Sieben Primer (OPE-11, OPE-13, OPE-19, OPG-11, OPL-12, OPM-18 und OP2-20), die putative Differentialbanden erbrachten, deren Reproduzierbarkeit jedoch ebenfalls zu wünschen übrig lies, wurden abschließend noch auf Einzelpflanzenebene untersucht. Auch diese Untersuchungen führten nicht zur Identifizierung von RAPD-Markern für Adultresistenz. Nicht nur die Elterngenotypen, *B. napus* „Loras“ und *C. monensis*, auch Pflanzen innerhalb der jeweiligen Pools zeigten sich deutlich polymorph.

### 3.1.2.4 Kreuzungsexperimente mit *C. monensis*-Genotypen – Beiträge zum Studium der Genetik der Kotyledonenresistenz

Die Genetik der Kotyledonenresistenz wurde am Resistenzdonor *C. monensis* untersucht. Tabelle 3.5 zeigt Ergebnisse von Resistenztests an Nachkommenschaften aus Selbstungen und Kreuzungen kotyledonenresistenter (R<sub>C</sub>; Abb. 3.3c, oben) und -anfälliger (S<sub>C</sub>; Abb. 3.3c, unten) Pflanzen. Diese deuten - trotz des teilweise begrenzten Stichprobenumfangs - für die Interaktion mit dem Isolat W4 auf einen digenen Erbgang hin (*Rlmcc1*, *Rlmcc2*; Rlmcc = resistance to *Leptosphaeria maculans* from *Coincya monensis* at the cotyledon stage), wobei der Locus *Rlmcc1* im homozygot-dominanten Zustand auch alleine Kotyledonenresistenz bewirkt:

<p><b>R<sub>C</sub>:    Rlmcc1 _ Rlmcc2 _</b>  <b>         Rlmcc1 Rlmcc1 _ _</b></p>
------------------------------------------------------------------------------------------

Die beobachteten Spaltungsverhältnisse nach Inokulation mit dem Isolat W4 unterschieden sich nicht signifikant von den zu erwartenden theoretischen Aufspaltungen. Das Verhalten einiger Linien gegenüber dem australischen Isolat M1 - Selbstungsnachkommenschaft der Pflanze 95/2-12 [R<sub>C</sub>], Kreuzungsnachkommen aus 95/1 [S<sub>C</sub>] x 95/3 [R<sub>C</sub>] (für 1:3-Spaltung:  $\chi^2 = 11,213$ ; signifikante Abweichung auch bei  $\alpha = 0,001$ ), 95/2-12 [R<sub>C</sub>] x 86/3-8 [S<sub>C</sub>], 95/2-12 [R<sub>C</sub>] x 95/1-9 [S<sub>C</sub>], 95/2-14 [R<sub>C</sub>] x 86/3-8 [S<sub>C</sub>] - spricht trotz der geringeren Stichprobe für eine andere Resistenzgenetik (Tab. 3.5). Mit Ausnahme der Nachkommen aus 95/1 [S<sub>C</sub>] x 95/3 [R<sub>C</sub>] wiesen

**Tab. 3.5** (S. 63) Ergebnisse von Kotyledonentests an Nachkommenschaften aus Selbstungen oder Kreuzungen von *Coincya monensis*-Pflanzen (Isolate **W4** und **M1**). Die tiefgestellten römischen Zahlen bezeichnen den Versuch, in dem die Pflanzen getestet wurden. Das in eckigen Klammern aufgeführte Resistenzverhalten bezieht sich, sofern nicht anders angegeben, auf das Isolat W4. Prüfung der 2-Gen-Hypothese (siehe S. 62) zur Genetik der Kotyledonenresistenz für das Isolat **W4** anhand des  $\chi^2$ -Anpassungstests (FG = 1,  $\alpha = 0,05$ ,  $\chi^2$ -Grenze = 3,84). R<sub>C</sub> = Kotyledonenresistenz bzw. Anzahl solcher Pflanzen in Nachkommenschaft, S<sub>C</sub> = Kotyledonenanfälligkeit bzw. Anzahl solcher Pflanzen in Nachkommenschaft, \* ursprünglich als R<sub>C</sub> klassifiziert (Fehlbonitur?).

Genotyp bzw. Kreuzung [Resistenzverhalten]	R <sub>C</sub>	S <sub>C</sub>	Postulierte Resistenzgene (bei Selbstungseiter)	Erwartung		
				Theor. Spaltung (R <sub>C</sub> :S <sub>C</sub> )	$\chi^2$	
86/3 [S <sub>C</sub> ] <sub>VI</sub>	Selbstungsnachkommen	0	14	rlmcc1 rlmcc1 Rlmcc2 rlmcc2	alle S <sub>C</sub>	-
86/9 [S <sub>C</sub> ] <sub>VI</sub>		0	7	rlmcc1 rlmcc1 Rlmcc2 rlmcc2	alle S <sub>C</sub>	-
95/1 [S <sub>C</sub> ] <sub>VI</sub>		0	8	rlmcc1 rlmcc1 rlmcc2 rlmcc2	alle S <sub>C</sub>	-
95/2 [R <sub>C</sub> ] <sub>VI</sub>		18	9	Rlmcc1 rlmcc1 Rlmcc2 rlmcc2	5:3	0,062
95/3 [R <sub>C</sub> ] <sub>VI</sub>		9	5	Rlmcc1 rlmcc1 Rlmcc2 rlmcc2	5:3	0,019
95/6 [S <sub>C</sub> ?*] <sub>VI</sub>		7	24	Rlmcc1 rlmcc1 rlmcc2 rlmcc2	1:3	0,011
95/18 [M1: S <sub>C</sub> ] <sub>VI</sub>		7	35	Rlmcc1 rlmcc1 rlmcc2 rlmcc2	1:3	1,143
86/3 [S <sub>C</sub> ] x 95/2 [R <sub>C</sub> ]	Kreuzungsnachkommen	6	9		3:5	0,004
95/2 [R <sub>C</sub> ] x 86/3 [S <sub>C</sub> ]		18	32		3:5	0,005
95/2 [R <sub>C</sub> ] x 86/9 [S <sub>C</sub> ]		1	5			
		22	25		3:5	1,363
95/1 [S <sub>C</sub> ] x 95/3 [R <sub>C</sub> ]		17	42		1:3	0,277
		14	11			
95/3 [R <sub>C</sub> ] x 95/1 [S <sub>C</sub> ]		3	15		1:3	0,296
86/9 [S <sub>C</sub> ] x 95/6 [S <sub>C</sub> ?*]	13	45		1:3	0,092	
	2	8				
95/6 [S <sub>C</sub> ?*] x 86/9 [S <sub>C</sub> ]	13	45		1:3	0,092	
	6	13				
86/3-7 [S <sub>C</sub> ] <sub>VII</sub>	Selbstungsnachkommen	0	6	rlmcc1 rlmcc1 _ _	alle S <sub>C</sub>	-
86/3-8 [S <sub>C</sub> ] <sub>VII</sub>		-	-	rlmcc1 rlmcc1 rlmcc2 rlmcc2		
95/1-9 [S <sub>C</sub> ] <sub>VII</sub>		-	-	rlmcc1 rlmcc1 rlmcc2 rlmcc2		
95/2-12 [R <sub>C</sub> ] <sub>VII</sub>		15	3	Rlmcc1 rlmcc1 Rlmcc2 rlmcc2	5:3 oder	2,504
		2	12	Rlmcc1 rlmcc1 Rlmcc2 Rlmcc2	3:1	0,296
95/2-13 [R <sub>C</sub> ] <sub>VII</sub>		10	3	Rlmcc1 rlmcc1 Rlmcc2 rlmcc2	5:3 oder	0,621
				Rlmcc1 rlmcc1 Rlmcc2 Rlmcc2	3:1	0,026
95/2-14 [R <sub>C</sub> ] <sub>VII</sub>	17	2	Rlmcc1 rlmcc1 Rlmcc2 Rlmcc2	3:1	1,421	
95/3-8 [R <sub>C</sub> ] <sub>VII</sub>	-	-	Rlmcc1 rlmcc1 Rlmcc2 Rlmcc2			
95/2-12 [R <sub>C</sub> ] x 86/3-8 [S <sub>C</sub> ]	Kreuzungsnachk.	10	9		1:1	0,000
		6	12			
95/2-12 [R <sub>C</sub> ] x 95/1-9 [S <sub>C</sub> ]	9	6		1:1	0,266	
	4	14				
95/2-14 [R <sub>C</sub> ] x 86/3-8 [S <sub>C</sub> ]	10	9		1:1	0,000	
	7	12				
95/3-8 [R <sub>C</sub> ] x 95/1-9 [S <sub>C</sub> ]	7	9		1:1	0,063	

diese Genotypen im Vergleich zu den Resultaten für W4 bei M1 stets eine Tendenz hin zu mehr kotyledonenanfälligen Individuen auf.

Detaillierte Angaben zum Adult-Resistenzverhalten der in Tabelle 3.5 dokumentierten Genotypen werden aus Gründen der Übersichtlichkeit an dieser Stelle nicht aufgeführt (für Auswahl siehe Tabellenanhang II). Auch mußte aus arbeitsorganisatorischen Gründen z. T. auf die Durchführung von Tests mit Doppelinokulation zugunsten von Adulttests an (lediglich) kotyledoneninokulierten Pflanzen verzichtet werden. Die Eignung und Vergleichbarkeit dieser beiden Tests (siehe auch Tab. 3.2), gerade auch vor dem Hintergrund morphologischer Besonderheiten von *C. monensis* (Abb. 3.3a, Kap. 4.1.2), wird später diskutiert (Kap. 4.1.1.1). An dieser Stelle muß jedoch die auffällig starke Adultanfälligkeit der auch kotyledonenanfälligen Nachkommen der Pflanzen 86/3 und 86/3-7 erwähnt werden.

Generell konnte auch beim Resistenzdonor *C. monensis*, wie in den Kapiteln 3.1.2.1 bis 3.1.2.3 (siehe Abb. 3.2) für die Rückkreuzungsnachkommen beschrieben, kein Zusammenhang zwischen Kotyledonen- und Adultresistenz festgestellt werden.

### 3.1.2.5 Zusammenfassende Bemerkungen zur Cytologie

Durch die Anwendung der GISH-Methode über weite Strecken des Rückkreuzungs- und Selbstungsprogramms konnte die Reduktion des Extrachromatingehalts und die Zunahme der cytologischen Stabilität (Abnahme von Mixoploidien und irregulären Meiosen) in den Nachkommenschaften dokumentiert werden (siehe Abb. 3.1 & 3.3). Eine solche Reihe wird im folgenden dargestellt:

BC <sub>2</sub> 16/1	(2n meist 50-54, sieben bis zwölf Extrachromosomen von <i>C. monensis</i> , mixoploid, viele Univalente und viele Mikrokerne)
↓	
BC <sub>2</sub> S <sub>1</sub> * 16/1-3	(2n=44, vier Extrachromosomen von <i>C. monensis</i> , mixoploid, Univalente und wenige Mikrokerne)
↓	
BC <sub>2</sub> S <sub>2</sub> * 16/1-3-27	(2n meist 39, ein Extrachromosom von <i>C. monensis</i> , mixoploid)
↓	
BC <sub>2</sub> S <sub>3</sub> * 16/1-3-27.18	(2n=38, keine GISH-Signale, nicht mixoploid)
↓	
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.16	(2n=38, keine GISH-Signale, nicht mixoploid, keine Univalente und keine Mikrokerne)

Die vollständigen Ergebnisse der klassisch-cytologischen und molekular-cytogenetischen Untersuchungen an Pflanzen der *B. napus-C. monensis*-Linien sind in Tabelle 3.6 zusammengestellt.

**Tab. 3.6** Karyotypen von Rückkreuzungsnachkommen unterschiedlichen Resistenzverhaltens (gegenüber dem Isolat W4, sofern nicht anders angegeben; für Abkürzungen siehe Tab. 3.1) nach GISH-Analyse (Detektion von *C. monensis*-Chromatin) sowie Verhalten ausgewählter Pflanzen in der Meiose [Anzahl Univalenter ( $X_1$ ): in Anzahl Pollenmutterzellen] und bei Tetradenanalysen [Anzahl an Mikrokernen (1 oder 2): Anzahl solcher Tetraden gegenüber der Gesamtanzahl untersuchter Tetraden]. Ein in Klammern angegebenes Resistenzverhalten ist ein Rückschluß aus den Daten der jeweiligen, auf diese Pflanze folgenden Selbstungs- oder Rückkreuzungsnachkommenschaft. Tiefgestellte römische Zahlen bezeichnen den Versuch, in dem das Resistenzverhalten des jeweiligen Genotyps ermittelt wurde. n.b. = nicht bestimmt/nicht bestimmbar.

Genotyp	Resistenzverhalten	Chromosomenzahl (2n)	davon <i>C. monensis</i> -Chromos.	mixoploid (x)	Miose (Univalente)	Mikrokern i. Tetradenstadium
BC <sub>2</sub> 16/1	R <sub>A</sub> (R <sub>C</sub> )	50-53 <sup>a</sup> (43-48) 54	12 7	x	8 <sub>I</sub> : 2, 9 <sub>I</sub> : 3, 10 <sub>I</sub> : 1	1: 22, 2: 1 von 204
BC <sub>3</sub> 16/1/1	S <sub>A</sub>	2n≥40 <sup>a</sup> , 44-46 <sup>a</sup> 42-44 40	2-5 4-7 4	x		
BC <sub>3</sub> 16/1/2	S <sub>A</sub> (R <sub>C</sub> )	38-42 <sup>a</sup> , 39 40	2 2	x	#	1: 8, 2: 1 von 170
BC <sub>2</sub> S <sub>1</sub> * 16/1-1	R <sub>A</sub>	42, ≤45 <sup>a</sup>	4	x		1: 8 von 173
BC <sub>2</sub> S <sub>1</sub> * 16/1-3	R <sub>A</sub> (R <sub>C/A</sub> )	(42), 44, 41-44, ≤45	4	(x)	3 <sub>I</sub> : 12, 4 <sub>I</sub> : 2, 2 <sub>I</sub> : 2; ##	1: 12 von 300
BC <sub>2</sub> S <sub>1</sub> * 16/1-6	R <sub>A</sub> (R <sub>C/A</sub> )	~42, 60-70 <sup>a</sup> 42-67, 54	4, ca.6 6	x		
BC <sub>2</sub> S <sub>1</sub> * 16/1-12	R <sub>A</sub> (R <sub>C/A</sub> )	n.b.	n.b.			1-2: 5 von 100
BC <sub>2</sub> S <sub>2</sub> * 16/1-6-2 <sub>IV</sub>	R <sub>C/A</sub>	~44	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>2</sub> * 16/1-3-2 <sub>IV</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	39, 42 (~33)	1	x		
BC <sub>2</sub> S <sub>2</sub> * 16/1-3-5 <sub>IV</sub>	S <sub>C/A</sub>	n.b.	3			1: 2 von 200
BC <sub>2</sub> S <sub>2</sub> * 16/1-3-6 <sub>VII</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	40-42 <sup>a</sup>	1-2			
BC <sub>2</sub> S <sub>2</sub> * 16/1-3-27 <sub>IV</sub>	R <sub>C/A</sub> (M1)	39 (~28, ~38, 40, 60)	1	x		
BC <sub>2</sub> S <sub>2</sub> * 16/1-3-28 <sub>IV</sub>	S <sub>C/A</sub> (M1)	~40	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>2</sub> * 16/1-3-36 <sub>VII</sub>	R <sub>C/A</sub>	40	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>3</sub> * 16/1-3-2.1 <sub>V</sub>	S <sub>C/A</sub>	38, 41, ~42	0	x		
BC <sub>2</sub> S <sub>3</sub> * 16/1-3-2.6 <sub>V</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	~38	0			
BC <sub>2</sub> S <sub>3</sub> * 16/1-3-27.9 <sub>VII</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	39	1 ( auch 0)	x		
BC <sub>2</sub> S <sub>3</sub> * 16/1-3-27.12 <sub>V</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	0			
BC <sub>2</sub> S <sub>3</sub> * 16/1-3-27.16 <sub>V</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	0			1: 1 von 200
BC <sub>2</sub> S <sub>3</sub> * 16/1-3-27.18 <sub>V</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	0			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.1.1 <sub>VI</sub>	S <sub>C/A</sub>	38	0			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.1.6 <sub>VI</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	0			

Fortsetzung **Tab. 3.6**

<b>Genotyp</b>	<b>Resistenz- verhalten</b>	<b>Chromo- somenzahl (2n)</b>	<b>davon <i>C. monensis</i>- Chromos.</b>	<b>mixo- ploid (x)</b>	<b>Meiose (Uni- valente)</b>	<b>Mikrokerne i. Tetraden- stadium</b>
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.6.1 <sub>VI</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	0			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.6.8 <sub>VI</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	37-38 <sup>a</sup>	0			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-2.6.9 <sub>VI</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	n.b.	0			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.16.1 <sub>VI</sub>	S <sub>C/A</sub>	37-38 <sup>a</sup>	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.16.3 <sub>VI</sub>	S <sub>C/A</sub>	38-40 <sup>a</sup>	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.16.4 <sub>VI</sub>	S <sub>C/A</sub>	38	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.16.9 <sub>VI</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38-39 <sup>a</sup>	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.16.10 <sub>VI</sub>	S <sub>C/A</sub>	38	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.1 <sub>VI</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	0			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.5 <sub>VI</sub>	S <sub>C/A</sub>	38	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.5 <sub>VII</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	0		0 <sub>I</sub>	0 (200 Tetr.)
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.6 <sub>VI</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.7 <sub>VI</sub>	S <sub>C/A</sub>	38	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.8 <sub>VI</sub>	S <sub>C/A</sub>	38	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.9 <sub>VI</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.10 <sub>VI</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.10 <sub>VII</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	0			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.11 <sub>VI</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.12 <sub>VI</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.13 <sub>VI</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	0			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.15 <sub>VI</sub>	S <sub>C/A</sub>	38	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.16 <sub>VI</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	0		0 <sub>I</sub>	0 (200 Tetr.)
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.17 <sub>VI</sub>	S <sub>C/A</sub>	38	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.19 <sub>VI</sub>	S <sub>C/A</sub>	~38	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>4</sub> * 16/1-3-27.18.20 <sub>VI</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	~38	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>5</sub> * 16/1-3-2.1.1-1 <sub>EV</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38 (auch 19)	0	x		
BC <sub>2</sub> S <sub>5</sub> * 16/1-3-2.1.1-2 <sub>EV</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>5</sub> * 16/1-3-2.6.8-13 <sub>VII</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	n.b.	0			
BC <sub>2</sub> S <sub>5</sub> * 16/1-3-2.6.13-11 <sub>VII</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	0			
BC <sub>2</sub> S <sub>5</sub> * 16/1-3-27.18.1-1 <sub>EV</sub>	S <sub>C/A</sub>	38	0			
BC <sub>2</sub> S <sub>5</sub> * 16/1-3-27.18.1-2 <sub>EV</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	0			
BC <sub>2</sub> S <sub>5</sub> * 16/1-3-27.18.1-5 <sub>EV</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	n.b.			
BC <sub>2</sub> S <sub>5</sub> * 16/1-3-27.18.16-14 <sub>VII</sub>	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	38	0			

<sup>a</sup> Exakte Ermittlung der Chromosomenzahl war nicht möglich.

# Selten *lagger* in Ana-/Telophase I.

## 4-8 *lagger* in Anaphase II, Telophase II meist normal (selten 1 Chromosom etwas abseits).

### 3.1.3 *Brassica napus*-*Sinapis arvensis*-Linien

Der Resistenztest, der die Grundlage der GISH-Untersuchungen der *B. napus*-*S. arvensis*-Linien bildete, ist im Tabellenanhang I aufgeführt.

#### 3.1.3.1 Charakterisierung von BC<sub>3</sub>-, BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>-, BC<sub>4</sub>- und BC<sub>4</sub>S<sub>1</sub>-Generationen – Identifikation monosomer Additionschromosomen von *S. arvensis* im Zusammenhang mit dem Resistenzverhalten

Mit GISH konnten in BC<sub>3</sub>- (Tab. 3.7, Abb. 3.7d-g) und BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>-Pflanzen (Tab. 3.8, Abb. 3.4d-h) der *B. napus*-*S. arvensis*-Linien monosome und doppelt-monosome Additionschromosomen von *S. arvensis* detektiert werden. Dabei war die Präsenz eines acrocentrischen Additionschromosoms (Abb. 3.4f) stets mit Adultresistenz der Pflanze (Abb. 3.4d) verbunden. Diese Genotypen wiesen das gleiche hohe Resistenzniveau wie der Resistenzdonor *S. arvensis* (Abb. 3.4b & 3.7a) auf (hypersensitive Reaktion). War die Addition metacentrisch (Abb. 3.4h), blieb sie ohne Einfluß. In diesen Fällen wurde der adultanfällige Phänotyp (Abb. 3.4e) ausgeprägt. Hingegen waren Individuen, die sowohl ein acrocentrisches als auch ein metacentrisches Additionschromosom aufwiesen (doppelt-monosome Addition, Abb. 3.4g), immer adultresistent. Die nur moderate Adultanfälligkeit des Rückkreuzungselters *B. napus* „Ceres“ (Abb. 3.4c) führte zu einer relativ großen Anzahl als resistent zu klassifizierender Individuen dieses Genotyps (Tab. 3.7, Abb. 3.5 & 3.6). Sie wirkte auch erschwerend auf die Unterscheidung zwischen adultresistenten und -anfälligen Pflanzen in den Rückkreuzungsnachkommenschaften. Dies betraf insbesondere Individuen, die Boniturnoten um die Resistenzgrenze (Tab. 2.5) aufwiesen. Durch Tests mit Doppelinokulation war jedoch auch bei den *B. napus*-*S. arvensis*-Linien eine akzeptable Trennschärfe gegeben (siehe auch Kapitel 3.3). Untersuchungen an Selbstungsnachkommen adultanfälliger Pflanzen (z. B. BC<sub>3</sub> 31.2 in Tab. 3.7 und Abb. 3.6) hatten diesbezüglich vor allem Kontrollcharakter und bestätigten diese Aussage. Weitere derartige Kontrollen sind im Kapitel 3.1.3.2 beschrieben.

Die Nachkommenschaften der BC<sub>3</sub>-Pflanzen 16.3 und 18.10 umfaßten eine Vielzahl nach der Samenkeimung nicht ergrünender Individuen. Diese starben nach wenigen Tagen ab.

Schon frühzeitig wurde mit der BC<sub>3</sub>-Pflanze 13.4 ein Genotyp mit 2n=38 und doppelter Resistenz (Kotyledonen- und Adultresistenz = R<sub>C/A</sub>) identifiziert, der jedoch keine GISH-Signale (Abb. 3.7b) aufwies. Analysen sich davon ableitender Selbstungsnachkommenschaften (Tab. 3.7 & 3.8, Abb. 3.5 & 3.6) zeigten die Weitergabe der Adultresistenz an einen Teil der Nachkommen. Derartiges wurde auch für andere BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>- und BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub>-Pflanzen gefunden (siehe Kapitel 3.1.3.2 und Tab. 3.10). Für einige dieser Pflanzen wie auch für die BC<sub>3</sub> 13.4 selber wurden wiederholt, aber nicht hinreichend reproduzierbar, mehrere kleine Signale detektiert, die deutlich unterhalb des Niveaus der ganzen Chromosomen lagen (ähnlich Abb. 3.7l, siehe Kapitel 4.2).

**Tab. 3.7** (S. 68 & 69) Chromosomenzahlen von BC<sub>3</sub>-Pflanzen, darin enthaltene Anzahl der mit GISH ermittelten *S. arvensis*-Chromosomen (Extrachromosomen) und Verhalten daraus abgeleiteter *B. napus*-*S. arvensis*-Rückkreuzungsnachkommenschaften (BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>, BC<sub>4</sub>) sowie negativer und positiver Kontrollpflanzen gegenüber *Leptosphaeria maculans* in Tests mit Doppelinokulation (Isolate W4 bzw. M1), Adulttests an kotyledoneninokulierten Pflanzen (W4) bzw. Stengelbasistests (W4, M1). *S. arvensis* ist der Resistenzdonor, während „Ceres“, „Madora“ und „Lesira“ in unterschiedlichem Maße anfällige Rapssorten sind. n.b. = nicht bestimmt/bestimmbar. Resistenzklassen wie in Tabelle 3.1.

Genotyp	Chrom.- zahl (2n)	Extra- chrom.	Pfl.- anzahl	Häufigkeiten des jeweiligen Resistenzverhaltens								
				R <sub>C</sub>	S <sub>C</sub>	R <sub>A</sub>	S <sub>A</sub>	R <sub>C/A</sub>	S <sub>C/R<sub>A</sub></sub>	R <sub>C/S<sub>A</sub></sub>	S <sub>C/A</sub>	
BC <sub>3</sub> 4.5	38-40 <sup>a</sup>	1		9	5	4	9	0	5	4	0	0
				11			8	3				
				9	5	4	8	1	5	3	0	1
BC <sub>3</sub> 6.5	38-41 <sup>a</sup>	1		9	3	6	8	1	3	5	0	1
				16	12 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	10	6	8 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>
BC <sub>3</sub> 9.10	38, 39	1		52	14	38	35	17	12	23	3	14
				24	6	18	22	2	5	17	1	1
				11			10	1				
BC <sub>3</sub> 11.3	38-40 <sup>a</sup>	1		35	12	23	30	5	9	21	3	2
				39	4	35	36	3	3	33	1	2
				26	5	21	24	2	5	19	0	2
BC <sub>3</sub> 12.11	~22, 27-28, 1, 2 ~35 <sup>a</sup>	1, 2		14	14 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	12	2	12 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
				9	3	6	8	1	3	5	0	1
				9	7 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	5	4	5 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>
BC <sub>3</sub> 13.3	38	n.b.	BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> -Nachkommen	13	0	13	8	5	0	8	0	5
				34	0	34	29	5	0	29	0	5
				6 <sup>b</sup>	6 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	4	2	4 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
BC <sub>3</sub> 13.4	38	0		92	10	82	58	34	5	53	5	29
				12	0	12	10	2	0	10	0	2
				20			12	8				
BC <sub>3</sub> 13.6	37, 39, 41	1, 2		63	13	50	41	22	13	28	0	22
				56	12	44	37	19	11	26	1	18
				11			6	5				
BC <sub>3</sub> 16.3	40-43 <sup>a</sup>	2		40	6	34	32	8	5	27	1	7
				32	5	27	24	8	5	19	1	7
				2	2	0	2	0	2	0	0	0
BC <sub>3</sub> 18.9	38, ~40, + polyploide Zellen <sup>a</sup>	1		15	13 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	12	3	10 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	3 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
				4	0	4	4	0	0	4	0	0
				11	0	11	5	6	0	5	0	6
BC <sub>3</sub> 18.10	39	1		9	2	7	7	2	1	6	1	1
				6	4 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	3	3	3 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>
				37	5	32	26	11	2	24	3	8
BC <sub>3</sub> 26.3	36, 38, ~40	1-4		40	16	24	34	6	14	20	2	4
				21	2	19	7	14	2	5	0	14
				1	0	1	0	1	0	0	0	1
BC <sub>3</sub> 31.2	36, 38	0		24	6	18	7	17	3	4	3	14
				19	0	19	0	19	0	0	0	19
<i>S. arvensis</i>	36	-		51	51	0	51	0	51	0	0	0
				2			2	0				
				41	40	1	41	0	40	1	0	0
<i>B. napus</i> „Ceres“	38	-	Kontrollpflanzen	52	0	52	16	36	0	16	0	36
				21			14	7				
				56	22	34	35	21	13	22	9	12
<i>B. napus</i> „Madora“	38	-		4			4	0				
				53	1	52	3	50	0	3	1	49
				14			3	11				
				50	13	37	7	43	2	5	11	32

Fortsetzung Tab. 3.7

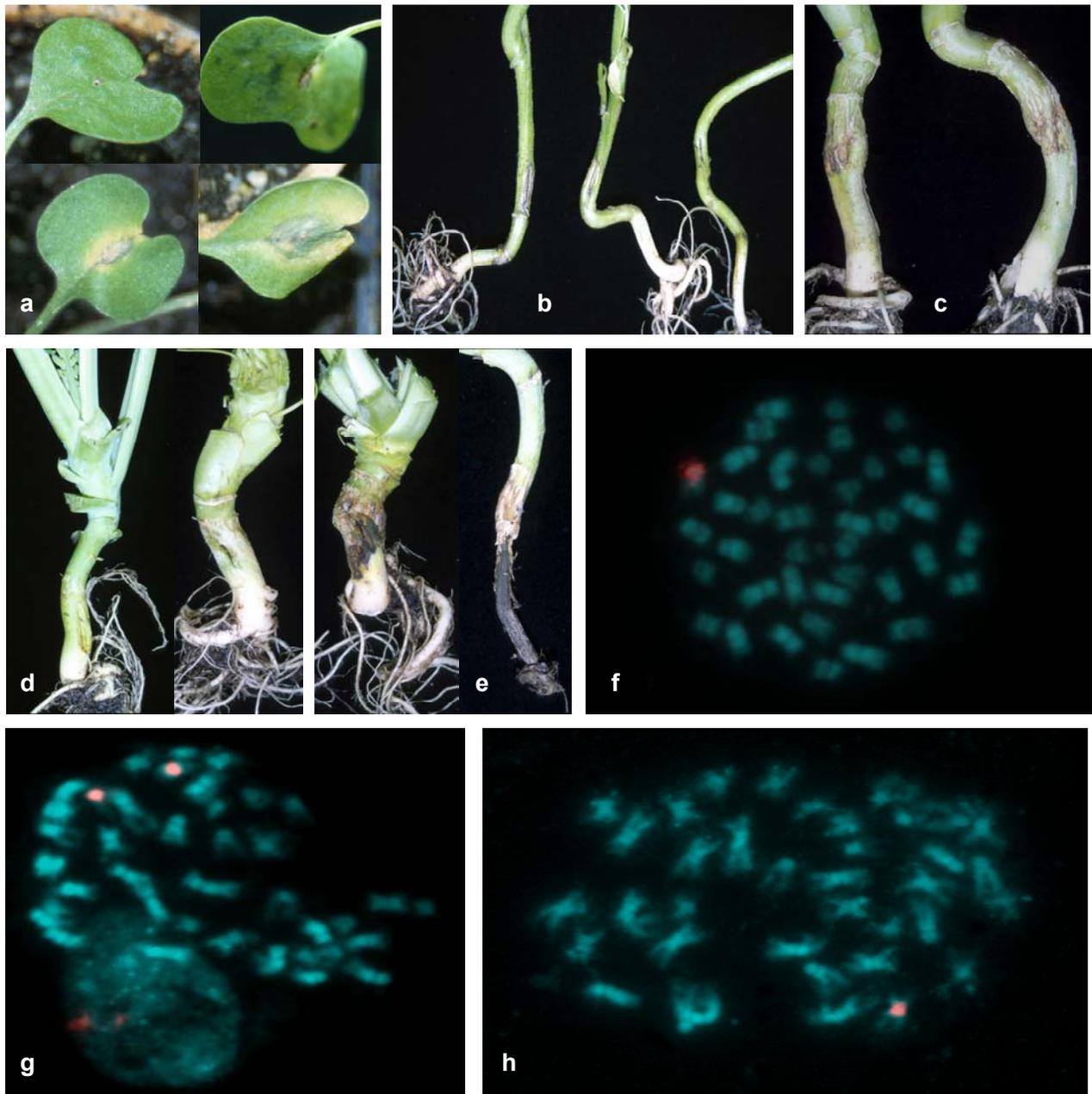
Genotyp	Chromosomenzahl (2n)	Extra-chrom. (GISH)	Pfl.-anzahl	Häufigkeiten des jeweiligen Resistenzverhaltens								
				R <sub>C</sub>	S <sub>C</sub>	R <sub>A</sub>	S <sub>A</sub>	R <sub>C/A</sub>	S <sub>C/R<sub>A</sub></sub>	R <sub>C/S<sub>A</sub></sub>	S <sub>C/A</sub>	
BC <sub>3</sub> 11.3	38-40 <sup>a</sup>	1	BC <sub>4</sub> -Nachkommen	39	6	33	25	14	6	19	0	14
				39	17	22	33	6	15	18	2	4
BC <sub>3</sub> 12.11	~22, ~27-28, ~35 <sup>a</sup>	1		9	2	7	4	5	1	3	1	4
				9	5	4	7	2	3	4	2	0
BC <sub>3</sub> 16.3	40-43 <sup>a</sup>	2		28	15	13	17	11	11	6	4	7
				9	0	9	7	2	0	7	0	2
BC <sub>3</sub> 18.10	39	1		49	11	38	37	12	7	30	2	10
				41	22	19	38	3	22	16	0	3

<sup>a</sup> Exakte Bestimmung der Chromosomenzahl war nicht möglich.

<sup>b</sup> Resultate im Detail fraglich aufgrund suboptimaler Testbedingungen.

Meiose-Untersuchungen innerhalb der *B. napus-S. arvensis*-Linien dienten nicht nur der Selektion chromosomal stabiler, resistenter Genotypen mit 38 Chromosomen (Kap. 3.1.3.2), sondern auch dem Studium des Verhaltens des erwähnten acrocentrisch-monosomen Additionschromosoms. Hierzu wurde die GISH-Technik auf meiotische Zellen angewendet. Bei den näher untersuchten, sich von den BC<sub>3</sub>-Pflanzen 9.10 bzw. 13.6 (Tab. 3.7 & 3.8) ableitenden Selbstungsnachkommen (Tab. 3.7 & 3.8) zeigte sich eine auffällig hohe Transmissionsrate des acrocentrischen Additionschromosoms. Dieses konnte in der meiotischen Prophase I der BC<sub>3</sub> 9.10 mit GISH zwar dargestellt, sein Paarungsverhalten aber nicht vollständig geklärt werden (Abb. 3.7d). In der Metaphase I wurde es in sieben von zehn Fällen als Univalent detektiert (Abb. 3.7e). Darüber hinaus gab es in drei Metaphasen Hinweise auf eine allosyndetische Paarung dieses *S. arvensis*-Chromosoms mit Rapschromosomen (Abb. 3.7f). Im weiteren Verlauf der Meiose wurde das acrocentrische Chromosom dann regulär weitergegeben (siehe u. a. Abb. 3.7g für Telophase I); Tetradenanalysen ergaben z. B. für die BC<sub>3</sub> 13.6 (acro- und metacentrische Addition) und für die BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 9.10-14 (acrocentrische Addition) keine Mikrokerne in jeweils 100 untersuchten Tetraden. Das Phänomen der Mixoploidie zeigte sich besonders ausgeprägt in der BC<sub>3</sub>-Pflanze 26.3, bei der mittels GISH Zellen mit Extrachromosomenzahlen zwischen eins und vier gefunden wurden (Abb. 3.7c). Darüber hinaus war die Mehrzahl der in Tabelle 3.7 aufgeführten BC<sub>3</sub>-Genotypen durch somatische Zellen mit unterschiedlichen Chromosomenzahlen gekennzeichnet. Diese Mixoploidien nahmen jedoch mit fortschreitenden Rückkreuzungsgenerationen, die mit einer Reduktion des Extrachromatins korrespondieren, ab (Tab. 3.8).

Auch für die *B. napus-S. arvensis*-Linien konnte bei Inokulation sowohl mit W4 als auch mit M1 an Selbstungsnachkommen doppelt-resistenter Pflanzen festgestellt werden: Adultresistenz wird in größerem Maße vererbt als Kotyledonenresistenz (Tab. 3.7 & 3.8, Abb. 3.5). Adultresistente Individuen konnten sowohl kotyledonenresistent (Abb. 3.4a, die beiden oberen Bilder) als auch kotyledonenanfällig (Abb. 3.4a, die beiden unteren Bilder) sein. Das gleiche galt auch für adultanfällige Pflanzen. Dennoch war die Kombination Kotyledonenresistenz/Adultanfälligkeit, wie auch schon bei den *B. napus-C. monensis*-Linien, stets unterrepräsentiert (Abb. 3.5).



**Abb. 3.4** Charakterisierung der *B. napus*-*S. arvensis*-Gruppe (I), Abbildung modifiziert aus SNOWDON *et al.* (2000). Resistenztests mit Isolat W4. **(a)** Kotyledonenresistenz (oben) und -anfälligkeit (unten) bei BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>-Pflanzen. Der Phänotyp oben links ist auch typisch für *S. arvensis*, während das Bild unten rechts die Situation der Rapssorten „Ceres“, „Madora“ und „Lesira“ (letzterer Kontrollgenotyp ist vor allem im Kapitel 3.1.5 beschrieben) widerspiegelt. **(b)** Adultresistenz bei *S. arvensis*. **(c)** Moderate Adultanfälligkeit bei *B. napus* „Ceres“. **(d-h)** Pflanzen der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>-Generation: Adultresistenz **(d)** und -anfälligkeit **(e)**. Der Phänotyp auf der linken Seite bei **(e)** ist repräsentativ für die Mehrheit der adultanfälligen Rückkreuzungsnachkommen; hingegen ist der Kollaps der Pflanze rechts bei **(e)** typisch für *B. napus* „Lesira“. **(f-h)** Ergebnisse der Genomischen *in situ*-Hybridisierung dreier BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>-Pflanzen. Metaphasen aus Wurzelspitzenmeristem. *S. arvensis*-Chromosomen (rot) sind mit Cy3 markiert, die Chromosomen von *B. napus* zeigen keine Hybridisierungssignale und sind mit DAPI blau gefärbt (Ergebnisse in Kooperation mit R.J. Snowdon, Justus-Liebig-Universität Gießen, entstanden; 1250fache Vergrößerung). **(f, g)** Individuen mit Kotyledonen- und Adultresistenz (doppelte Resistenz), mit **(f)** einer monosomen, acrocentrischen Addition und **(g)** mit einem acrocentrischen und einem zweiten, metacentrischen *S. arvensis*-Additionschromosom. **(h)** Eine doppelt-anfällige Pflanze mit einem monosom-metacentrischen Additionschromosom. **(f)** und **(g)** korrespondieren mit den Pflanzen in **(d)**, während das Resistenzverhalten des Genotyps in **(h)** durch die rechte Pflanze in **(e)** repräsentiert wird.

### 3.1.3.2 Erstellung weiterer Selbstungsnachkommenschaften zur Erzeugung von Pflanzen mit Raps-Karyotyp

Im Mittelpunkt des Interesses standen adult- bzw. doppelt-resistente (Kotyledonen- und Adultresistenz) BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>-Individuen, die mittels der im Kapitel 3.1.3.1 beschriebenen Analysen bereits cytologisch charakterisiert waren. Vor allem wurden solche Pflanzen näher betrachtet, die entweder das acrocentrische Additionschromosom besaßen (insbesondere Individuen, die sich von den BC<sub>3</sub>-Genotypen 9.10 bzw. 13.6 ableiteten) oder Nachkommen der bereits den Raps-Karyotyp aufweisenden BC<sub>3</sub>-Pflanze 13.4 waren. Tabelle 3.8 zeigt die Ergebnisse von Resistenztests an Selbstungsnachkommen solcher Genotypen. Die Selbstungen dienten der Reduktion des Extrachromatingehalts, möglichst bis auf das Niveau von Null (2n=38), bei Beibehaltung der Resistenz. Nachkommenschaften derartiger Pflanzen mit Raps-Karyotyp sollten dann auch Hinweise auf die Vererbung von Kotyledonen- und Adultresistenz geben. Darüber hinaus konnte man bei diesen Generationen hoffen, die praktisch relevantere Adultresistenz homozygot zu fixieren.

Die bereits im Kapitel 3.1.3.1 dargelegte beachtliche Transmissionsrate des acrocentrischen Additionschromosoms und das hohe Ausmaß der Weitergabe der Adultresistenz an die Selbstungsnachkommen bestätigte sich auch bei den in den Tabellen 3.8 und 3.9 aufgeführten nachfolgenden Generationen. Die in Tabelle 3.8 zusammengestellten Selbstungsnachkommenschaften doppelt-resistenter Pflanzen umfaßten wiederum mehr adult- als kotyledonenresistente Pflanzen; auch überwog erneut Adultresistenz gegenüber Adultanfälligkeit (Abb. 3.5).

Während die Reduktion des Extrachromatingehalts bei vielen Linien gezeigt werden konnte, werden an dieser Stelle nur zurückhaltende Aussagen zur Genetik der Resistenzen gemacht. Dies indiziert zum einen die im Kapitel 3.1.3.4 beschriebene Temperaturabhängigkeit des Resistenzverhaltens der *B. napus*-*S. arvensis*-Linien auf Kotyledonenebene (Abb. 3.8). Zum anderen führte die lediglich moderate Adultanfälligkeit des Rückkreuzungselters, *B. napus* „Ceres“ (Abb. 3.4c & 3.6), zu größeren Unschärfen bei der Klassifizierung einiger Rückkreuzungsnachkommen in adultresistente und -anfällige Individuen (z. B. Tab. 3.7, Abb. 3.5 & 3.6). Demgegenüber traten auch bei den hier zu besprechenden Linien Individuen mit starker Adultanfälligkeit auf, z. B. die Nachkommen der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 31.2-3 (ähnlich Abb. 3.4e). Insbesondere die in Tabelle 3.8 gezeigten Ergebnisse legen auch für diese Gruppe eine oligogene Vererbung der Adultresistenz nahe. Obwohl aufgrund der oben erwähnten Einschränkungen im Gegensatz zur Situation bei den *B. napus*-*C. monensis*-Linien auf eine Formulierung von Nullhypothesen und ihre statistische Überprüfung verzichtet wurde, sind wahrscheinlich mindestens zwei Gene an der Ausprägung der Adultresistenz beteiligt. Die Vielzahl von 1:3- (wenn Mutterpflanze adultanfällig; z. B. Selbstungsnachkommen der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 13.4-8, der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 13.6-19 und der BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub> 13.4-7.2 in Tab. 3.7) und 5:3-Spaltungen (wenn Mutterpflanze adultresistent; z. B. Selbstungsnachkommen der BC<sub>3</sub> 13.4 in Tab. 3.7 sowie der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 13.4-7, BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub> 13.4-7.1 und der BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub> 13.6-11.9 in Tab. 3.8) erinnern stark an die 2-Gen-Hypothese zur Erklärung der Kotyledonenresistenz bei *C. monensis* (Kapitel 3.1.2.4); ausführlichere Überlegungen, auch Genotypen betreffend, die andere Spaltungen zeigen, werden später diskutiert (Kapitel 4.1.3).

Bei Selbstungsnachkommen, die sich von den BC<sub>3</sub>-Pflanzen 16.3 bzw. 18.10 ableiten, gab es erneut Individuen, die nach der Keimung nicht ergrünten und bald abstarben (siehe Kap. 3.1.3.1).

**Tab. 3.8** Karyotypen und Resistenzverhalten von BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>- und BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub>-Pflanzen [Extrachromosomen: a/m = acrocentric/metacentric Addition/Substitution, \* = aus Analyse der Nachkommenschaft geschlußfolgert] und Verhalten von *B. napus*-*S. arvensis*-Rückkreuzungsnachkommenschaften (BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub>, BC<sub>3</sub>S<sub>3</sub>) gegenüber *Leptosphaeria maculans* in Tests mit Doppelinokulation (Isolate W4 bzw. M1). n.b. = nicht bestimmt/bestimmbar. Resistenzklassen: R = resistent, S = anfällig, C = Kotyledonen- (in Zus.), A = Adult- (in Zus.), C/A = kombinierte Kotyledonen- und Adultresistenz bzw. -anfälligkeit (siehe auch Kap. 2.2.3.1 & 2.2.3.2 sowie Tab. 2.4 & 2.6 und Tabellenanhang I).

Genotyp [Resistenzverhalten gegenüber W4]	2n [Extra- chrom.]	Pfl.- an- zahl	Häufigkeiten des jeweiligen Resistenzverhaltens							
			R <sub>C</sub>	S <sub>C</sub>	R <sub>A</sub>	S <sub>A</sub>	R <sub>C/A</sub>	S <sub>C/R<sub>A</sub></sub>	R <sub>C/S<sub>A</sub></sub>	S <sub>C/A</sub>
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 9.10-5 [S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]	36/37, 38 [0]	36	19	17	22	14	11	11	8	6
		25	9	16	18	7	7	11	2	5
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 9.10-8 [R <sub>C/A</sub> ]	n.b.	21	7	14	10	11	3	7	4	7
		24	8	16	21	3	7	14	1	2
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 9.10-19 [S <sub>C/A</sub> ]	38 [0]	15	3	12	9	6	2	7	1	5
		16	0	16	8	8	0	8	0	8
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 11.3-13 [S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]	n.b.	14	0	14	9	5	0	9	0	5
		14	10	4	13	1	10	3	0	1
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 11.3-14 [S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]	n.b.	15	0	15	12	3	0	12	0	3
		15	9	6	13	2	7	6	2	0
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 13.4-2 [S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]	38 [0]	29	2	27	12	17	2	10	0	17
		26	1	25	19	7	1	18	0	7
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 13.4-7 [R <sub>C/A</sub> ]	38 [0]	38	3	35	23	15	3	20	0	15
		26	3	23	16	10	3	13	0	10
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 13.4-8 [S <sub>C/A</sub> ]	38 [0]	44	3	41	7	37	1	6	2	35
		37	8	29	12	25	5	7	3	22
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 13.6-7 [R <sub>C/A</sub> ]	39 [1a]	26	6	20	22	4	6	16	0	4
		24	1	23	21	3	1	20	0	3
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 13.6-9 [S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]	40 [1a+1m]	30	4	26	23	7	3	20	1	6
		29	4	25	26	3	4	22	0	3
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 13.6-11 [R <sub>C/A</sub> ]	39 [1a]	22	7	15	14	8	6	8	1	7
		22	2	20	13	9	1	12	1	8
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 13.6-19 [S <sub>C/A</sub> ]	39 [1m]	45	5	40	11	34	2	9	3	31
		35	2	33	11	24	1	10	1	23
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 16.3-2 [R <sub>C/A</sub> ]	40 [1a+1m]	15	13	2	8	7	8	0	5	2
		15	1	14	13	2	0	13	1	1
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 16.3-6 [S <sub>C/A</sub> ]	39 [1m]	7	2	5	4	3	1	3	1	2
		5	2	3	5	0	2	3	0	0
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 18.10-1 [S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]	n.b.	14	2	12	9	5	0	9	2	3
		1	0	1	1	0	0	1	0	0
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 18.10-6 [S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]	n.b.	34	3	31	28	6	3	25	0	6
		25	17	8	22	3	15	7	2	1
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 31.2-3 [S <sub>C/A</sub> ]	38 [0]	14	1	13	1	13	0	1	1	12
		15	0	15	0	15	0	0	0	15

BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub>-Nachkommen

Fortsetzung Tab. 3.8

Genotyp [Resistenzverhalten gegenüber W4]	2n [Extra- chrom.]	Pfl.- an- zahl	Häufigkeiten des jeweiligen Resistenzverhaltens							
			R <sub>C</sub>	S <sub>C</sub>	R <sub>A</sub>	S <sub>A</sub>	R <sub>C/A</sub>	S <sub>C/R<sub>A</sub></sub>	R <sub>C/S<sub>A</sub></sub>	S <sub>C/A</sub>
BC <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 9.10-5.5 [S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]	38 [0]	33	4	29	31	2	4	27	1	1
		32	25	7	29	3	22	7	3	0
BC <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 13.4-7.1 [R <sub>C/A</sub> ]	38 [0]	33	4	29	19	14	3	16	1	13
		32	25	7	29	3	22	7	3	0
BC <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 13.4-7.2 [S <sub>C/A</sub> ]	38 [0]	28	3	25	9	19	1	8	2	17
		20	6	14	3	17	1	4	3	12
BC <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 13.4-7.7 [S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]	38 [0]	31	8	23	23	8	7	16	1	7
		26	0	26	21	5	0	21	0	5
BC <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 13.6-7.2 [R <sub>C/A</sub> ]	39 [1]*	32	4	28	32	0	4	28	0	0
		32	10	22	32	0	10	22	0	0
BC <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 13.6-7.12 [R <sub>C/A</sub> ]	n.b.	14	0	14	12	2	0	12	0	2
		14	8	6	14	0	8	6	0	0
BC <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 13.6-9.13 [S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub> ]	39 [1]	13	0	13	7	6	0	7	0	6
		12	1	11	8	4	1	7	0	4
BC <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 13.6-11.3 [R <sub>C/A</sub> ]	39 [1]	28	6	22	27	1	6	21	0	1
		24	10	14	21	3	9	12	1	2
BC <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 13.6-11.5 [R <sub>C/A</sub> ]	39 [1]	13	0	13	7	6	0	7	0	6
		16	3	13	13	3	3	10	0	3
BC <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 13.6-11.8 [S <sub>C/A</sub> ]	38 [0]	25	1	24	11	14	1	10	0	14
		18	3	15	4	14	2	2	1	13
BC <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 13.6-11.9 [R <sub>C/A</sub> ]	38 [0]	47	4	43	31	16	3	28	1	15
		29	14	15	25	4	13	12	1	3
BC <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 13.6-11.12 [R <sub>C/A</sub> ]	n.b.	14	0	14	8	6	0	8	0	6
		14	5	9	11	3	4	7	1	2

BC<sub>3</sub>S<sub>3</sub>-Nachkommen

Die Selbstungsnachkommenschaft der doppelt-resistenten (R<sub>C/A</sub>) BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub>-Pflanze 13.6-7.2 erwies sich gegenüber beiden Isolaten als vollständig adultresistent (Tab. 3.8, Abb. 3.5). Bei sieben dieser Nachkommen konnte eine Chromosomenzahl von 2n=38 sowie das Fehlen von GISH-Signalen (Abb. 3.7i) festgestellt werden. Z. T. wurden nicht hinreichend reproduzierbare sehr kleine Signale (Abb. 3.7j) gefunden. Ein Individuum wies jedoch noch das acrocentrische Additionschromosom bei 2n=39 auf (Abb. 3.7h). Bei einer weiteren BC<sub>3</sub>S<sub>3</sub>-Pflanze dieser Abstammung mit der Hauptchromosomenzahl 2n=38 wurden sowohl einige Zellen mit 2n~76 (Abb. 3.7k, rechts) als auch, in anderen Zellen, die Präsenz eines Chromosomenfragments (Abb. 3.7k, links) gezeigt. Letzteres war deutlich kleiner als ein Chromosom und wird als Präparationsartefakt interpretiert (Kap. 4.2). Der Stammbaum dieser Nachkommenschaft verdeutlicht wiederum anschaulich die Abnahme des Extrachromatingehalts: von der mixoploiden BC<sub>3</sub>-Pflanze 13.6 (R<sub>C/A</sub>) mit zumeist 2n=40 und zwei Additionschromosomen von *S. arvensis* (acrocentrische und metacentrische Addition, ähnlich Abb. 3.4g) über die BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 13.6-7 (R<sub>C/A</sub>) mit 2n=39 und einem Additionschromosom (acrocentrische Addition, Abb. 3.4f) und die oben diskutierten BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub>

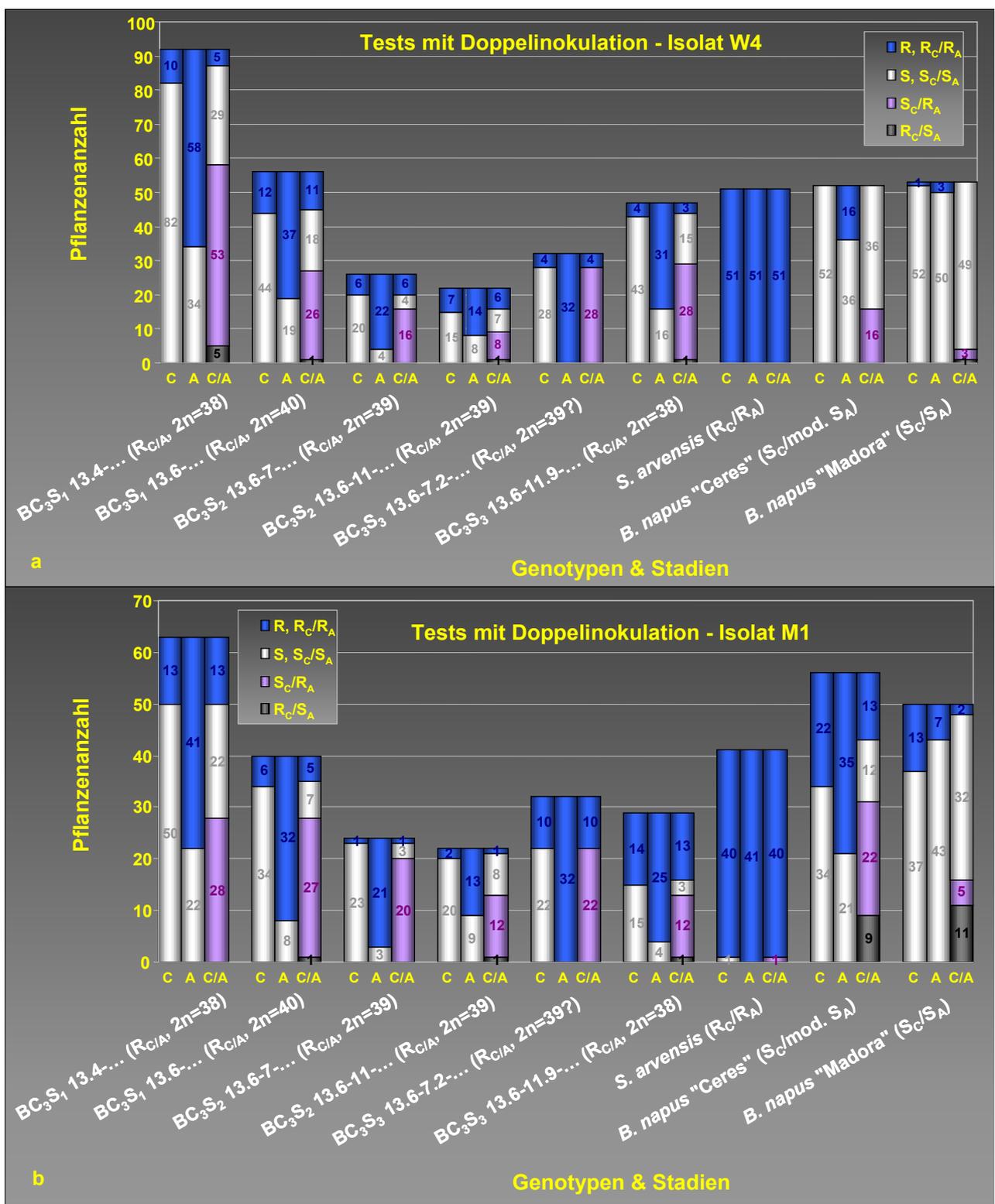
13.6-7.2 ( $R_{C/A}$ ;  $2n=39$ , acrocentrische Addition ist aufgrund der GISH-Analyse eines Selbstungsnachkommens - Abb. 3.7h - wahrscheinlich, keine experimentelle Bestätigung) hin zu mehreren putativ rekombinanten Pflanzen der  $BC_3S_3$  13.6-7.2-... ( $2n=38$ , keine Additions- oder Substitutionschromosomen von *S. arvensis*, Abb. 3.7l).

Zur Bestätigung der prinzipiellen Richtigkeit vorangegangener Bonituren und der in Tabelle 2.5 dargelegten Resistenzgrenzen wurden auch weitere Selbstungsnachkommenschaften adultanfälliger Pflanzen phytopathologisch untersucht (Tab. 3.8 & 3.9). Während sich die Nachkommenschaft der  $BC_3S_1$  31.2-3 wie die der Mutterpflanze  $BC_3$  31.2 (Tab. 3.7 und Abb. 3.6) nahezu vollständig adultanfällig zeigte, wiesen beispielsweise die Selbstungsnachkommenschaften der  $BC_3S_1$  9.10-19, der  $BC_3S_1$  13.4-8 und der  $BC_3S_1$  13.6-19 in unterschiedlichem Maße auch als resistent klassifizierte Individuen auf. Dieses wird im Kapitel 4.1.3 diskutiert.

Tabelle 3.9 zeigt Ergebnisse von Selbstungsnachkommenschaften, die aus  $BC_4$ -Pflanzen erstellt wurden. Diese  $BC_4$ -Genotypen wiederum wurden durch Rückkreuzung ausgewählter  $BC_3$ -Pflanzen gewonnen. Das geschah in einem frühen Stadium der Arbeit, als noch nicht absehbar war, daß die Adultresistenz von *S. arvensis* bereits in  $BC_3$ -Individuen bzw. in Selbstungsnachkommen aneuploider  $BC_3$ -Pflanzen in den Raps-Karyotyp integriert werden konnte. Diese Ergebnisse werden hier aus Gründen der Vollständigkeit und Vergleichbarkeit dokumentiert. Cytologische Analysen der in Tabelle 3.9 (linke Spalte) dargestellten Pflanzen wurden nicht durchgeführt.

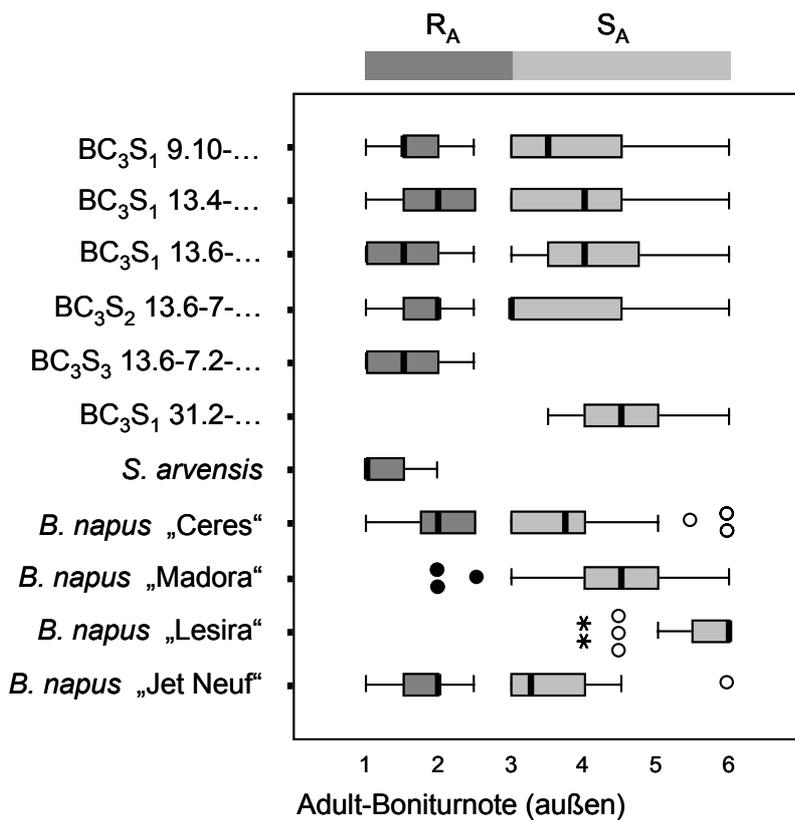
**Tab. 3.9** Verhalten von *B. napus*-*S. arvensis*-Rückkreuzungsnachkommenschaften ( $BC_4S_1$ ,  $BC_4S_2$ ) gegenüber *Leptosphaeria maculans* in Tests mit Doppelinokulation (Isolate **W4** bzw. **M1**). Resistenzklassen wie in Tabelle 3.1 (siehe auch Kap. 2.2.3.1 und 2.2.3.2 sowie Tab. 2.4 und 2.6).

Genotyp [Resistenzverhalten gegenüber W4 oder M1]	Pfl.- anzahl	Häufigkeiten des jeweiligen Resistenzverhaltens							
		$R_C$	$S_C$	$R_A$	$S_A$	$R_{C/A}$	$S_C/R_A$	$R_C/S_A$	$S_{C/A}$
$BC_4$ 11.3-5 [W4: $S_{C/A}$ ]	10	0	10	3	7	0	3	0	7
	10	5	5	9	1	5	4	0	1
$BC_4$ 11.3-12 [W4: $S_C/R_A$ ]	14	0	14	9	5	0	9	0	5
	15	10	5	13	2	9	4	1	1
$BC_4$ 16.3-13 [M1: $R_{C/A}$ ]	15	0	15	5	10	0	5	0	10
	16	1	15	5	11	0	5	1	10
$BC_4$ 18.10-1 [W4: $S_C/R_A$ ]	10	1	9	6	4	0	6	1	3
	10	3	7	7	3	3	4	0	3
$BC_4$ 18.10-8 [W4: $S_C/R_A$ ]	11	1	10	4	7	1	3	0	7
	13	2	11	7	6	2	5	0	6
$BC_4$ 18.10-10 [W4: $S_C/R_A$ ]	33	7	26	28	5	6	22	1	4
	23	9	14	23	0	9	14	0	0
$BC_4$ 18.10-11 [M1: $R_{C/A}$ ]	14	1	13	8	6	0	8	1	5
	16	0	16	11	5	0	11	0	5
$BC_4S_1$ 18.10-11.4 [W4: $S_C/R_A$ ]	33	5	28	32	1	5	27	0	1
	34	20	14	33	1	20	13	0	1
$BC_4S_1$ 18.10-11.8 [W4: $S_C/R_A$ ]	33	4	29	23	10	3	20	1	9
	33	5	28	21	12	4	17	1	11



**Abb. 3.5** Resistenzverhalten von *B. napus*-*S. arvensis*-Rückkreuzungsnachkommenschaften sowie von negativen und positiven Kontrollgenotypen in Tests mit Doppelinokulation gegenüber den Isolaten W4 (a) und M1 (b). *S. arvensis* ist der Resistenzdonor; *B. napus* „Ceres“ ist der Rückkreuzungselter und eine gegenüber *L. maculans* moderat adultanfällige Rapsorte. *B. napus* „Madora“ ist der Rapselter der Originalkreuzung. Hinter den Genotypen ist in Klammern die Chromosomenzahl und das Resistenzverhalten der jeweiligen Mutterpflanze aufgeführt, bei den Kontrollen das genotypspezifische Normalverhalten. Das Resistenzverhalten ist in Blöcken von jeweils drei Säulen dargestellt: Kotyledonenresistenz/-anfälligkeit (linke Säule), Adultresistenz/-anfälligkeit (mittlere Säule), Kombination von Kotyledonen- und Adultresistenz/-anfälligkeit (rechte Säule). Resistenzklassen wie in Tabelle 3.1.

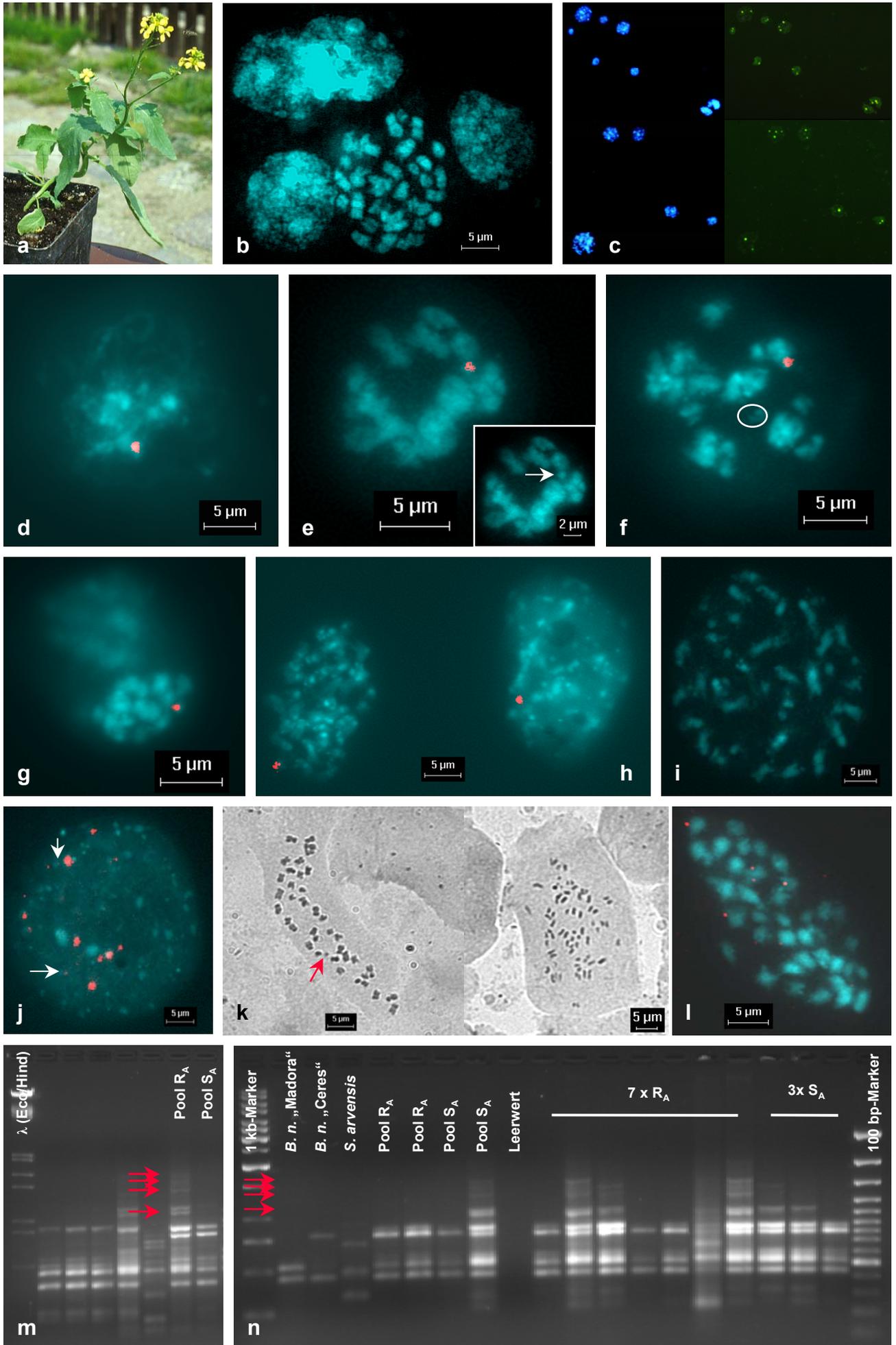
Abbildung 3.6 zeigt die Verteilung der Adult-Boniturnoten (außen, Tests mit Doppelinokulation) ausgewählter Linien und Kontrollgenotypen. In der Regel war eine hinreichende Differenzierung der spaltenden Nachkommenschaften in resistente und anfällige Pflanzen aufgrund der Trennschärfe der Tests mit Doppelinokulation gegeben (siehe auch Tab 3.7 & 3.8). Während einige Genotypen (BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 31.2-..., *B. napus* „Lesira“) ausschließlich adultanfällige Individuen aufwiesen, mußte bei den Rapssorten „Ceres“ und „Jet Neuf“ eine größere Anzahl an Pflanzen als resistent klassifiziert werden. Wurden diese Individuen nach der Vernalisation erneut bonitiert, so war der Anteil adultanfälliger Pflanzen größer (Daten nicht gezeigt).



**Abb. 3.6** Box-Whisker-Plot (erstellt mit SPSS Version 11.0) zeigt die Verteilung der Außen-Boniturnoten ausgewählter *B. napus*-*S. arvensis*-Rückkreuzungsnachkommenschaften und Kontrollgenotypen in Tests mit Doppelinokulation gegenüber dem Isolat W4. *S. arvensis* ist der Resistenzdonor; *B. napus* „Ceres“ ist der Rückkreuzungselter und wie *B. napus* „Jet Neuf“ eine gegenüber *L. maculans* lediglich moderat adultanfällige Rapssorte. *B. napus* „Madora“ (adultanfällig) ist der Originalkreuzungselter, und *B. napus* „Lesira“ ist eine stark anfällige Rapssorte. Die boxes geben den Interquartilbereich an, die darin enthaltenen dicken vertikalen Linien kennzeichnen den Median. Die whiskers überspannen die verbleibende Variation mit der Ausnahme von Extremwerten (\*), Ausreißern (○) und drei als resistent klassifizierten Individuen von *B. napus* „Madora“ (●).

Auch in der Gruppe mit *S. arvensis* als Resistenzdonor konnten nur geringe Unterschiede in der Resistenz der adulten Pflanze hinsichtlich der Inokulation mit W4 oder M1 festgestellt werden (Abb. 3.5). Die meisten der in den Tabellen 3.7 bis 3.9 aufgeführten Nachkommenschaften, insbesondere die, die sich von den BC<sub>3</sub>-Pflanzen 9.10, 13.6 und 18.10 ableiten, zeigten gegenüber M1 im Vergleich zu W4 ein tendenziell zur Adultresistenz (R<sub>A</sub>) verschobenes R<sub>A</sub>:S<sub>A</sub>-Verhältnis (S<sub>A</sub> = Adultanfälligkeit). Auf Kotyledonenebene gab es bei der Interaktion mit M1 eine ähnliche Tendenz hin zu mehr resistenten Individuen, die sich vor allem in einigen aufeinanderfolgenden Nachkommenschaften der BC<sub>3</sub> 11.3 und der BC<sub>3</sub> 18.10 manifestierte.

FISH-Analysen mit einer 45S rDNA-Sonde an BC<sub>3</sub>S<sub>3</sub>-Pflanzen mit 2n=38, die keine GISH-Signale aufwiesen, zeigten wie bei den *B. napus*-*C. monensis*-Linien zwölf bis vierzehn Signale unterschiedlicher Größe (Abb. 3.7j).



**Abb. 3.7** (S. 77) Charakterisierung der *B. napus*-*S. arvensis*-Gruppe (II). **(a)** Resistenzdonor *S. arvensis*. **(b-i, l)** Genomische *in situ*-Hybridisierung (GISH) und **(j)** Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierung (FISH) an adultresistenten Pflanzen; **(b, d-j, l)** Kompositionsbilder, rot: mit Fluorochrom Cy3 bzw. Digoxigenin markierte *S. arvensis*-Chromosomen (Ausnahme bei **j**: 45S rDNA), blau: *B. napus*-Chromosomen in DAPI-Gegenfärbung. **(b & c)** Mitosen aus Griffelgewebe. **(b)** BC<sub>3</sub> 13.4 (2n=38, keine GISH-Signale). **(c)** Mixoploidie in BC<sub>3</sub> 26.3 (2n=36-40), ein bis vier Chromosomen von *S. arvensis* (500fache Vergrößerung). Einzelbilder (gescannte Dias) unter Verwendung des DAPI- (links) bzw. FITC-Filters (rechts, zur Detektion Digoxigenin-markierter *S. arvensis*-DNA). **(d-g)** Verhalten des acrocentrischen Additionschromosoms in der Meiose der BC<sub>3</sub> 9.10 (Pollenmutterzellen): Prophase I (Pachytän, **d**); Additionschromosom liegt als Univalent **(e)** in Metaphase I vor, im kleinen Bild (DAPI-Aufnahme) gut sichtbar (Pfeil); Evidenz für Paarung des Additionschromosoms mit Rapschromosomen (möglicherweise Bildung eines Trivalents) in Metaphase I; Ellipse kennzeichnet Artefakt **(f)**; Telophase I **(g)** zeigt Präsenz des Additionschromosoms in lediglich einem der Pole (im Fokus). **(h-l)** Mitotische Zellen aus Wurzelspitzenmeristem. **(h)** Das acrocentrische Additionschromosom in Metaphase und Interphase der BC<sub>3</sub>S<sub>3</sub> 13.6-7.2-11<sub>IX</sub> (Selbstungsnachkommenschaft der BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub> 13.6-7.2 ohne Ausnahme adultresistent). **(i)** BC<sub>3</sub>S<sub>3</sub> 13.6-7.2-3<sub>IX</sub> (2n=38, keine GISH-Signale). **(j)** 12-14 FISH-Signale in Interphase der BC<sub>3</sub>S<sub>3</sub> 13.6-11.9-2<sub>EV</sub> nach Hybridisierung mit 45S rDNA, Pfeile kennzeichnen fragliche Signale. **(k)** BC<sub>3</sub>S<sub>3</sub> 13.6-7.2-15<sub>IX</sub> weist neben Zellen mit der Hauptchromosomenzahl 2n=38 auch solche mit einem zusätzlichen kleinen Chromosomenbruchstück (Bild links; wahrscheinlich Präparationsartefakt) sowie Metaphasen mit ungefähr 2n=76 (Bild rechts) auf. **(l)** Kleine, nicht immer reproduzierbare Signale nach Hybridisierung mit Digoxigenin-markierter *S. arvensis*-DNA bei der BC<sub>3</sub>S<sub>3</sub>-Pflanze 13.6-7.2-3<sub>IX</sub>. Diese Metaphase zeigt auch Hintergrundsignale, dennoch erscheinen die Signale an den Chromosomen real. **(m)** *Bulk segregant analysis* zeigt für den Primer OPE-19 RAPD-Polymorphismen (Pfeile) zwischen dem adultresistenten (R<sub>A</sub>) und -anfälligen (S<sub>A</sub>) Pool (Selbstungsnachkommenschaft der BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub> 13.6-11.9, Inokulation mit Isolat W4), denen nach Testen auf Einzelpflanzenniveau **(n, 7 x R<sub>A</sub>, 3 x S<sub>A</sub>)** jedoch kein Markercharakter zukommt. Unterschiede im Bandenmuster bei *B. napus* „Madora“ und „Ceres“ **(n)**.

### 3.1.3.3 PCR-Analysen

In frühen Versuchen wurden einzelne Pflanzen aus Selbstungsnachkommenschaften doppelt-resistenter BC<sub>3</sub>-Pflanzen mit einigen RAPD-Primern untersucht. So zeigten z. B. die Nachkommen der BC<sub>3</sub> 13.4 (R<sub>C/A</sub>, 2n=38) gegenüber dem Primer OPL-4 Polymorphismen im Bandenmuster, die jedoch nicht mit einem bestimmten Resistenzverhalten im Zusammenhang standen (Daten nicht gezeigt).

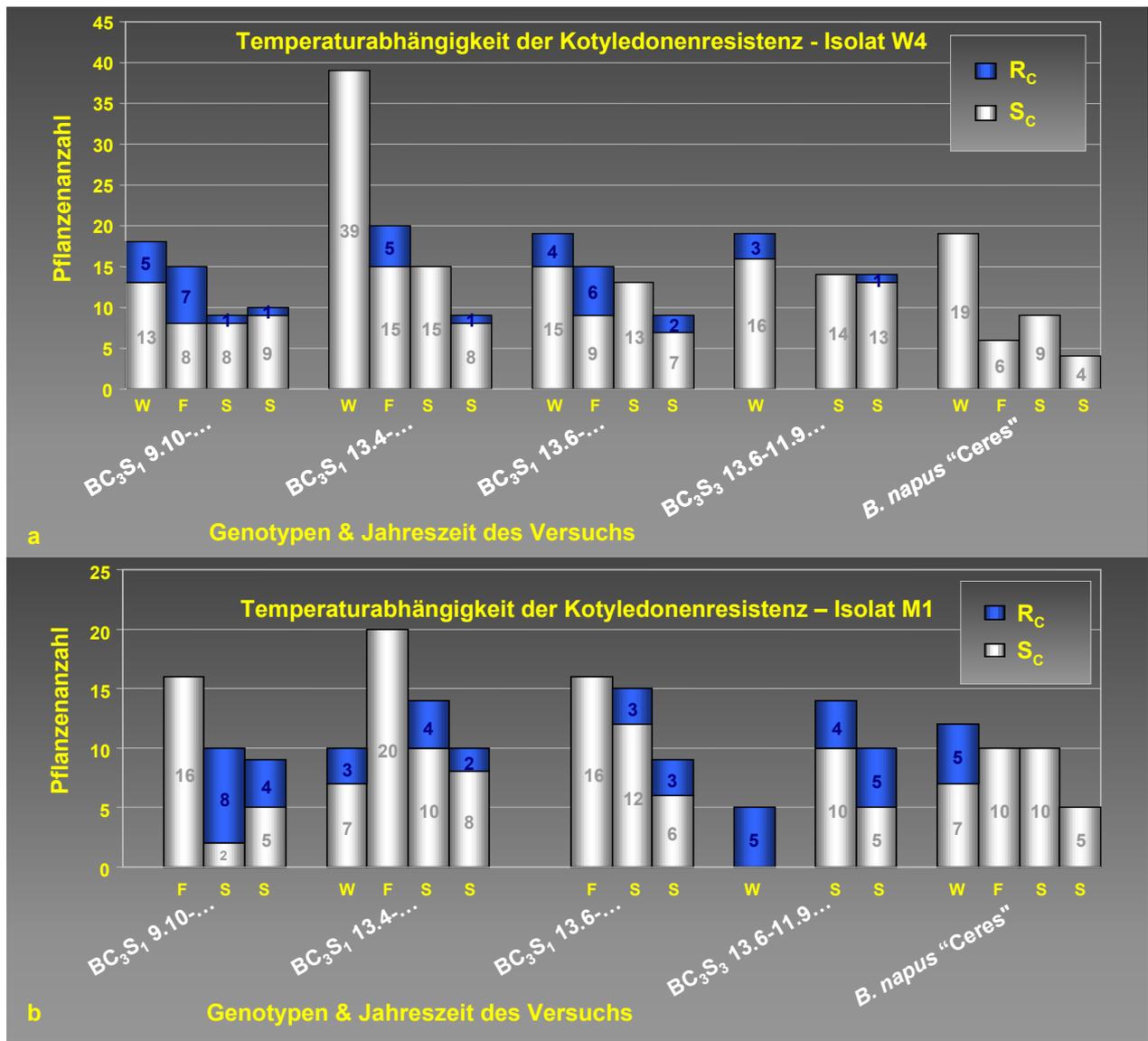
Die Suche nach RAPD-Markern wurde auch in dieser Gruppe im wesentlichen mittels *bulk segregant analysis* durchgeführt. Es wurden 83 Primer (siehe Tab. 2.11, Kap. 2.2.5.2) am resistenten und am anfälligen Pool der Selbstungsnachkommenschaft der BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub> 13.6-11.9 sowie an den Eltern genotypen getestet. 13 davon, die zunächst erfolgversprechend erschienen, wurden mindestens zweimal geprüft: OPE-11, OPE-14, OPE-19, OPF-1, OPF-12, OPF-15, OPF-16, OPF-19, OPH-1, OPG-11, OPL-12, OPM-18 und OP2-20. Sechs Primer (OPE-11, OPE-19, OPG-11, OPL-12, OPN-16 und OP2-20), die putative, oft jedoch nur mangelhaft reproduzierbare Differentialbanden erbrachten, wurden abschließend noch auf Einzelpflanzenebene untersucht. Auch diese Versuche führten nicht zur Identifizierung von RAPD-Markern für Adultresistenz. Die Abbildungen 3.7m & n zeigen die Analyse am Beispiel des Primers OPE-19. Die zunächst erhaltenen putativen Differentialbanden (3.7m) konnte auf Einzelpflanzenebene nicht bestätigt werden (3.7n). Nicht nur die Eltern der Originalkreuzung, *B. napus* „Madora“ und *S. arvensis*, sowie der Rückkreuzungselter *B. napus* „Ceres“, sondern auch Pflanzen innerhalb der jeweiligen Pools zeigten sich polymorph. Darüber hinaus differierte auch hier z. T. das Bandenmuster der zweimal analysierten DNA desselben Pools (S<sub>A</sub>-Pool in Abb. 3.7n).

### 3.1.3.4 Temperaturabhängigkeit der Kotyledonenresistenz

Insbesondere bei den *B. napus*-*S. arvensis*-Linien muß von einer Temperaturabhängigkeit der Kotyledonenresistenz ausgegangen werden. So traten in dieser Gruppe in Selbstungsnachkommenschaften kotyledonenresistenter Individuen deutliche temperaturbedingte Unterschiede nach Inokulation mit dem Isolat W4 auf. In der Regel umfaßten die gleichen Nachkommenschaften in Tests im Sommer (Temperaturen oft weit über 30 °C, insbesondere auch in der sensitiven, mehrtägigen Phase kurz vor und kurz nach der Kotyledoneninokulation) weniger kotyledonenresistente Individuen als in Tests im Winter (Temperaturen i. d. R. 18-22 °C) oder im Frühjahr (Temperaturen intermediär). Abbildung 3.8 verdeutlicht diesen Zusammenhang anhand der Daten ausgewählter, repräsentativer Rückkreuzungsnachkommenschaften. Bei der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 13.4-... ist dieser Trend jedoch nicht bzw. nicht in diesem Maße feststellbar.

Nach Inokulation mit dem Isolat M1 zeigte sich jedoch eine gegenläufige Tendenz. Hier nahm mit steigenden Temperaturen die Zahl der als kotyledonenresistent eingeschätzten Individuen zu. Auch in diesem Falle deuten die Ergebnisse auf ein abweichendes Verhalten der Selbstungsnachkommen der BC<sub>3</sub> 13.4 hin.

Darüber hinaus waren die frühen Versuche, wie auch in der Gruppe mit der *C. monensis*-Resistenz, mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden, nach Inokulation mit M1 überhaupt Kotyledonensymptome zu erhalten. So traten zum Teil erheblich von den Ergebnissen für W4 abweichende Resultate auf Kotyledonenebene auf (Daten nicht explizit gezeigt, eingeflossen in Tab. 3.7, siehe Kap. 4.1.3). Diese Unterschiede relativierten sich nach Optimierung der Kotyledoneninokulation unter Gewächshausbedingungen, die zumeist innerhalb von Tests mit Doppelinokulation durchgeführt wurde.



**Abb. 3.8** Temperaturabhängigkeit der Kotyledonenresistenz ausgewählter *B. napus*-*S. arvensis*-Rückkreuzungsnachkommenschaften sowie des Rückkreuzungselters, *B. napus* „Ceres“, in Tests mit Doppelinokulation gegenüber den Isolaten W4 (a) und M1 (b). Siehe auch Tabellen 3.7 & 3.8 sowie Abbildung 3.5. Das Resistenzverhalten (Kotyledonenresistenz/-anfälligkeit) in vier Versuchen ist in Blöcken von jeweils vier Säulen dargestellt: W = Versuch im Winter [GISH-Start-Versuch 1998/99 (siehe Tabellenanhang I), GV VI 2000/01 bzw. EV 2002/03, Säule ganz links], F = Versuch im Frühjahr 2000 (GV V, zweite Säule von links), S = Versuche im Sommer 2001 (GV VII, zweite Säule von rechts) bzw. im Sommer 2002 (GV IX, Säule ganz rechts). Resistenzklassen: R<sub>C</sub> = kotyledonenresistent, S<sub>C</sub> = kotyledonenanfällig (siehe auch Kap. 2.2.3.1 & 2.2.3.2 sowie Tab. 2.4 & 2.6).

### 3.1.3.5 Zusammenfassende Bemerkungen zur Cytologie

Tabelle 3.10 faßt die Ergebnisse der GISH-Analysen der *B. napus*-*S. arvensis*-Linien unter besonderer Berücksichtigung des Zusammenhangs zwischen Karyotyp und Resistenzverhalten zusammen (siehe auch Tab. 3.7 & 3.8). Sie verdeutlicht, daß das Auftreten des acrocentrischen Additionschromosoms stets mit Adultresistenz der jeweiligen Pflanze verbunden war. Daneben wurde jedoch auch eine Vielzahl adultresistenter Pflanzen identifiziert, die bei 2n=38 keine GISH-Signale aufwiesen. Hier sei jedoch erneut auf die kleinen, nicht immer hinreichend

reproduzierbaren Signale (Abb. 3.7l) hingewiesen, die bei einigen dieser Genotypen detektiert wurden. Darüber hinaus hatten weder das Auftreten von Mixoploidien (z. B. BC<sub>3</sub> 26.3, ein bis vier Extrachromosomen von *S. arvensis* bei 2n=36-40, Abb. 3.7c) noch eine Regel-Chromosomenzahl deutlich unter der des Rapses (z. B. BC<sub>3</sub> 12.11, Zählungen unterschiedlicher Metaphasen ergaben ca. 22, 27-28 bzw. ca. 35 Chromosomen sowie ein oder zwei Extrachromosomen, Tab. 3.7) einen Einfluß auf die Ausprägung des adultresistenten Phänotyps. In der Selbstungsnachkommenschaft der BC<sub>3</sub> 26.3 wurden jedoch im Vergleich zu denen anderer resistenter BC<sub>3</sub>-Pflanzen überproportional viele adultanfällige Individuen gefunden (Tab. 3.7). Die BC<sub>3</sub> 12.11 war durch einen hohen Grad an Sterilität gekennzeichnet, so daß nur eine geringe Zahl an Selbstungsnachkommen durch ein Abreifen gewonnen werden konnte.

**Tab. 3.10** Karyotypen untersuchter BC<sub>3</sub>-, BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>-, BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub>- und BC<sub>3</sub>S<sub>3</sub>-Pflanzen (GISH-Detektion von *S. arvensis*-Chromatin), gruppiert hinsichtlich ihres Resistenzverhaltens. Resistenzklassen: R = resistent, S = anfällig, C = Kotyledonen- (in Zus.), A = Adult- (in Zus.), C/A = kombinierte Kotyledonen- und Adultresistenz bzw. -anfälligkeit (siehe auch Kap. 2.2.3.1 & 2.2.3.2 sowie Tab. 2.4 & 2.6).

		Chromosomenzahl (2n)						
		36-37	38	38	39	39	40	Verschiedenes
GISH-Karyotyp	GISH-Signal	Kein GISH-Signal	Kein GISH-Signal	Monosom-metacentrisches Substitutionschromosom	Monosom-metacentrisches Additionschromosom	Monosom-acrocentrisches Additionschromosom	Meta-centrische plus acrocentrische Addition	Mit zwei Ausnahmen zumindest acrocentrisches Extrachromosom
Resistenzverhalten	S <sub>C</sub> /R <sub>A</sub>	1 <sup>a</sup>	15 <sup>a, b</sup>			5	2	1 <sup>b</sup>
	R <sub>C/A</sub>	1 <sup>d</sup>	7 <sup>c, f, h</sup>			12 <sup>c, d, f</sup>	2 <sup>g</sup>	6 <sup>d, g, h, i, j</sup>
	S <sub>C/A</sub>	1 <sup>e</sup>	10 <sup>e</sup>	1	1			

<sup>a-j</sup> Verschiedene Pflanzen, die jeweils unterschiedliche somatische Chromosomenzahlen aufweisen (Mixoploidie).

### 3.1.4 *Brassica napus-Brassica juncea*-Linien

Tabellenanhang II dokumentiert die vollständigen Ergebnisse eines für diese Gruppe wichtigen Resistenztests.

#### 3.1.4.1 Untersuchungen an dihaploiden Sublinien und Auswahl geeigneter Kreuzungspartner zur Analyse der Genetik der Adultresistenz

Zunächst wurden dihaploide Linien, die sich in Vorversuchen hinsichtlich Adultresistenz gegenüber dem Isolat M1 von *Leptosphaeria maculans* als vielversprechend erwiesen hatten (WINTER & SACRISTÁN 1998), näher untersucht. Dies betraf Selbstungsnachkommenschaften der adultresistenten, aber kotyledonenanfälligen (unteres Bild in Abb. 3.9h) Pflanzen BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>1</sub> 7/10, BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>2</sub> 8/1 und BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>2</sub> 8/10. Als in beiden Entwicklungsstadien besonders anfällige DH-Linie wurde die Selbstungsnachkommenschaft der BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>1</sub> 4/9 miteinbezogen.

Kotyledonentests an den *B. napus-B. juncea*-Linien wiesen in der Klimakammer insbesondere bei anfälligen Genotypen eine unakzeptabel hohe Schwankungsbreite der Bonitur auf (Daten nicht gezeigt), die bei den gleichen Tests im Gewächshaus (siehe Kap. 2.3.3.1) nicht auftraten. Die ersten phytopathologischen Versuche im Rahmen dieser Promotion umfaßten die bereits vorher etablierten Adulttests an kotyledoneninokulierten Pflanzen sowie Stengelbasistests, beide unter Verwendung des Isolats W4. Wenig später wurde der (Adult-)Test mit Doppelinokulation entwickelt, der aufgrund seiner erhöhten Trennschärfe zwischen resistenten und anfälligen Individuen und der geringeren Gefahr von *Escapes* (Tab. 3.11, Kap. 3.3 & 4.1.1.1) nachfolgend zur Methode der Wahl bei fast allen Tests wurde. Darüber hinaus konnte die Adultanfälligkeit des Resistenzdonors *B. juncea* gegenüber dem Isolat M1 (Abb. 3.9a & c; Kap. 3.1.4.4 ff.) als weiteres Kriterium zur Optimierung des Tests mit Doppelinokulation genutzt werden.

Hauptziel der frühen Resistenztests war die Auswahl geeigneter Kreuzungspartner zur späteren Analyse der Genetik der Adultresistenz (Kap. 3.1.4.2 ff.). Versuche an den Selbstungsnachkommen der vier oben genannten Pflanzen bestätigten das Resistenzverhalten der jeweiligen Mutterpflanze (Daten nicht gezeigt). Jedoch traten Abweichungen vom Regelfall der DH-Linien auf, wie sie auch die Abbildungen 3.9n & o für spätere Generationen zeigen. Deshalb wurden ausgewählte Pflanzen der resistenten Linien, die unterschiedliche Boniturnoten aufwiesen, cytologisch untersucht. Bei keinem dieser Genotypen (Tab. 3.11) konnte jedoch zweifelsfrei eine Abweichung von der Chromosomenzahl der Mutterpflanze ( $2n=38$ ) festgestellt werden. Da von geeigneten DH-Kreuzungspartnern auch eine möglichst hohe Reproduzierbarkeit der Resistenz bzw. Anfälligkeit in ihren Selbstungsnachkommenschaften erwartet wurde, erfolgten nunmehr eine erneute Selbstung dieser Pflanzen und Resistenztests an ihren Nachkommen (Tab. 3.11).

**Tab. 3.11** (S. 83 & 84) *B. napus-B. juncea*-Linien - Resistenztests I (Auswahl der Kreuzungspartner). Verhalten von Selbstungsnachkommenschaften dihaploider Rückkreuzungsnachkommen ( $2n$  = Chromosomenzahl) sowie von Kontrollgenotypen gegenüber *L. maculans* in Tests mit Doppelinokulation = DI (Isolat W4, Isolat M1), Adulttests an kotyledoneninokulierten Pflanzen = CI (W4, M1) bzw. Stengelbasistests = HI (W4, M1). Für M1 sind nur die Ergebnisse der Adultbonituren zusammengefaßt. n.b. = nicht bestimmt/bestimmbar. Resistenzklassen wie in Tabelle 3.1.

Genotyp [Boniturnote/Art des Test]	2n	Pfl.- an- zahl	Häufigkeiten des jeweiligen Resistenzverhaltens							
			R <sub>C</sub>	S <sub>C</sub>	R <sub>A</sub>	S <sub>A</sub>	R <sub>C/A</sub>	S <sub>C/R<sub>A</sub></sub>	R <sub>C/S<sub>A</sub></sub>	S <sub>C/A</sub>
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>2</sub> 7/10-1 [2/CI]	38	15	0	15	5	10	0	1	0	14
		54	2	52	40	14	2	38	0	14
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>2</sub> 7/10-6 [2/CI]	38	20	1	19	16	4	1	15	0	4
		57	2	55	53	4	2	51	0	4
		8			7	1				
		17			16	1				
		4			4	0				
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>2</sub> 7/10-11 [3/HI]	38	12			12	0				
		9	0	9	7	2	0	7	0	2
		52	0	52	41	11	0	41	0	11
		4			3	1				
		3			3	0				
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>2</sub> 7/10-20 [1/DI]	36-38	15	0	15	5	10	0	5	0	10
		7			6	1				
		8			8	0				
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>2</sub> 7/10-23 [2,5/DI]	38	25	0	25	11	14	0	11	0	14
		22			21	1				
		7			5	2				
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 8/1-3 [3/CI]	38	11	3	8	8	3	2	6	1	2
		22	8	14	22	0	8	14	0	0
		6			6	0				
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 8/1-6 [0/CI]	n.b.	5			5	0				
		29	0	29	19	10	0	19	0	10
		22	2	20	16	6	2	14	0	6
		56	13	43	42	14	11	31	2	12
		8			6	2				
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 8/1-7 [3/CI]	38	21			19	2				
		6			6	0				
		9			9	0				
		19	3	16	13	6	3	10	0	6
		57	3	54	42	15	3	39	0	15
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 8/10-5 [2,5/CI]	38	19			16	3				
		5			5	0				
		6	0	6	4	2	0	4	0	2
		32	0	32	30	2	0	30	0	2
		3			2	1				
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 8/10-6 [0/CI]	38	3			3	0				
		20	2	18	19	1	2	17	0	1
		57	9	48	38	19	6	32	3	16
		18			15	3				
		4			4	0				
			1	0						

Selbstungsnachkommen

Fortsetzung Tab. 3.11		Pfl.- an- zahl	Häufigkeiten des jeweiligen Resistenzverhaltens							
Genotyp [Boniturnote/Art des Test]	2n		R <sub>C</sub>	S <sub>C</sub>	R <sub>A</sub>	S <sub>A</sub>	R <sub>C/A</sub>	S <sub>C/R<sub>A</sub></sub>	R <sub>C/S<sub>A</sub></sub>	S <sub>C/A</sub>
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 8/10-8 [2/CI]	38	13	0	13	8	5	0	8	0	5
		21	8	13	20	1	7	13	1	0
		7			7	0				
		6			6	0				
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 8/10-11 [3/HI]	38	4	1	3	2	2	1	1	0	2
		50	8	42	45	5	8	37	0	5
		2			2	0				
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 8/10-14 [2/CI]	n.b.	16	0	16	13	3	0	13	0	3
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 8/10-24 [1/DI]	38	26	2	24	17	9	2	15	0	9
		21			20	1				
		6			6	0				
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 8/10-26 [2/DI]	38	17	0	17	13	4	0	13	0	4
		8			7	1				
		7			7	0				
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 8/10-28 [1/DI]	38	27	6	21	25	2	6	19	0	2
		3			3	0				
		21			21	0				
		10			10	0				
		10			10	0				
BC <sub>2</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>2</sub> 4/9-1 [5/CI]	38	32	0	32	0	32	0	0	0	32
		45	0	45	16	29	0	16	0	29
		1			0	1				
		29			0	29				
		1			0	1				
BC <sub>2</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>2</sub> 4/9-11 [5/HI]	38	22	0	22	3	19	0	3	0	19
		44	0	44	30	14	0	30	0	14
		20			0	20				
		6			0	6				
BC <sub>2</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>2</sub> 4/9-26 [5/DI]	38	16	0	16	0	16	0	0	0	16
		8			0	8				
		7			1	6				
BC <sub>2</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>2</sub> 4/9-27 [4/DI]	38	16	0	16	0	16	0	0	0	16
		7			0	7				
		6			6	0				
BC <sub>2</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 4/9-1-32 [5/CI]	38	5	0	5	0	5	0	0	0	5
		2			0	2				
		9			0	9				
<i>B. juncea</i>	36	20	20	0	20	0	20	0	0	0
		15	15	0	15	0	15	0	0	0
		18			18	0				
		19			3	16				
<i>B. napus</i> „Liropa“	38	3			3	0				
		23	0	23	1	22	0	1	0	22
		33	0	33	15	18	0	15	0	18
		5			0	5				
		18			0	18				
3			3	0						

Selbstungsnachkommen

Kontrollpflanzen

### 3.1.4.2 Charakterisierung von Nachkommen ( $F_1$ , $F_2$ und $BC_1$ ) aus Kreuzungen resistenter und anfälliger dihaploider Pflanzen

Aufgrund der in Tabelle 3.11 dargelegten Ergebnisse wurden die resistenten DH-Pflanzen  $BC_3S_1DHS_2$  7/10-6 (Abb. 3.9j),  $BC_3S_1DHS_3$  8/1-7 (Abb. 3.9n) und  $BC_3S_1DHS_3$  8/10-28 (ähnlich Abb. 3.9i) sowie der anfällige Genotyp  $BC_2S_1DHS_3$  4/9-1-32 (Selbstungsnachkomme der  $BC_2S_1DHS_2$  4/9-1, Abb. 3.9k) als Partner für reziproke Kreuzungen ausgewählt. Hierbei ist erwähnenswert, daß die Selbstungsnachkommenschaft der Pflanze 4/9-1-32 beispielsweise gegenüber der des sich von der gleichen Mikrospore ableitenden Genotyps  $BC_2S_1DHS_2$  4/9-11 deutlich anfälliger war (Abb. 3.9o). Während bei der erstgenannten Nachkommenschaft die Pflanzen unter optimalen Versuchsbedingungen fast immer tot waren (typische Außen-Boniturnote: 5 bis 6), waren die Individuen der  $BC_2S_1DHS_3$  4/9-11-... lediglich deutlich geschädigt (typische Außen-Boniturnote: 4 bis 5). Auch in den Nachkommenschaften der ausgewählten resistenten Genotypen traten vereinzelt deutliche Abweichungen vom Regelfall der DH-Linie auf (siehe Selbstungsnachkommen der  $BC_3S_1DHS_3$  8/1-7 in Abb. 3.9n).

Mit Hilfe der Genomischen *in situ*-Hybridisierung und begleitet von klassisch-cytologischen Analysen konnten für diese Genotypen eine Chromosomenzahl von  $2n=38$  und das Fehlen von Additions- und Substitutionschromosomen abgesichert werden. In frühen Untersuchungen wurden mehrfach GISH-Signale unterschiedlicher Größe auf mehr als 20 Chromosomen bei Hybridisierung mit B-Genom-Sonden detektiert. Diese stets angezweifelten Ergebnisse (Kap. 4.2) konnten im weiteren Verlauf der stichprobenartigen GISH-Analysen nicht verifiziert werden. Die Funktionsfähigkeit der Sonden wurde bei *B. juncea* (Abb. 3.9f) bzw. *B. carinata* bestätigt. Im Falle von BB-Dig- bzw. BB-Cy3-Sonden wurden die jeweils 16 Chromosomen des B-Genoms dieser digenomischen *Brassica*-Arten markiert. Jedoch war es stets schwierig, an *B. carinata*-Chromosomen die vollständige Signalanzahl zu detektieren (Abb. 3.9g). Sowohl bei den DH-Pflanzen, die als Kreuzungspartner dienten, als auch bei daraus erstellten nachfolgenden Genotypen (Selbstungsgenerationen,  $F_1$ ,  $F_2$  und  $BC_1$  mit Raps als rekurrentem Rückkreuzungspartner) ist von putativen Rekombinationslinien auszugehen, wobei die Introgressionen mittels GISH nicht sichtbar sind. Dies trifft ebenso auf die als Vergleichsmaterial analysierten französischen *B. napus*-*B. juncea*-Linien zu (98 MDB 23 self,  $2n=38$ , Tab. 3.12 & 3.13, Abb. 3.9l & m).

Die vier ausgewählten kreuzungsrelevanten Genotypen wurden als Stecklinge im Gewächshaus erhalten (Kap. 2.2.1.1) und standen somit über Jahre zu weiteren Untersuchungen zur Verfügung.

$F_1$ -,  $F_2$ - und  $BC_1$ -Nachkommenschaften aus Kreuzungen der oben genannten adultresistenten und -anfälligen DH-Pflanzen wurden hinsichtlich der Vererbung der Resistenzeigenschaften analysiert (Tab. 3.12). Aufgrund des verhältnismäßig hohen Anteils als anfällig bonitierter Individuen in den jeweiligen Nachkommenschaften wurden  $F_1$ -Individuen aus Kreuzungen mit der resistenten Pflanze  $BC_3S_1DHS_3$  8/1-7 nicht zur Erstellung der  $F_2$ - und  $BC_1$ -Generationen verwendet.

Pflanzen der  $F_1$ -Generation, die zwar alle als adultresistent eingeschätzt wurden, jedoch ein deutlich unterschiedliches Resistenzniveau aufwiesen, wurden cytologisch und hinsichtlich des Resistenzverhaltens ihrer  $F_2$ -Nachkommen untersucht (Tab. 3.12). Alle in diesem Zusammenhang analysierten Pflanzen wiesen jedoch eine Chromosomenzahl von  $2n=38$  und ein ähnliches Resistenzniveau und Spaltungsverhalten ihrer  $F_2$ - und  $BC_1$ -Nachkommenschaften auf. Die wenigen Abweichungen von dieser Aussage betreffen die Interaktion mit dem Isolat W4 und

werden im Abschnitt 3.1.4.3 beschrieben. Die bei mehreren Pflanzen einer jeweiligen Nachkommenschaft - hauptsächlich gegenüber M1 - ausgewiesene Kotyledonenresistenz (Tab. 3.11 & 3.12) beruht vor allem auf suboptimalen Bedingungen während einiger Tests (Kap. 4.1.1.1).

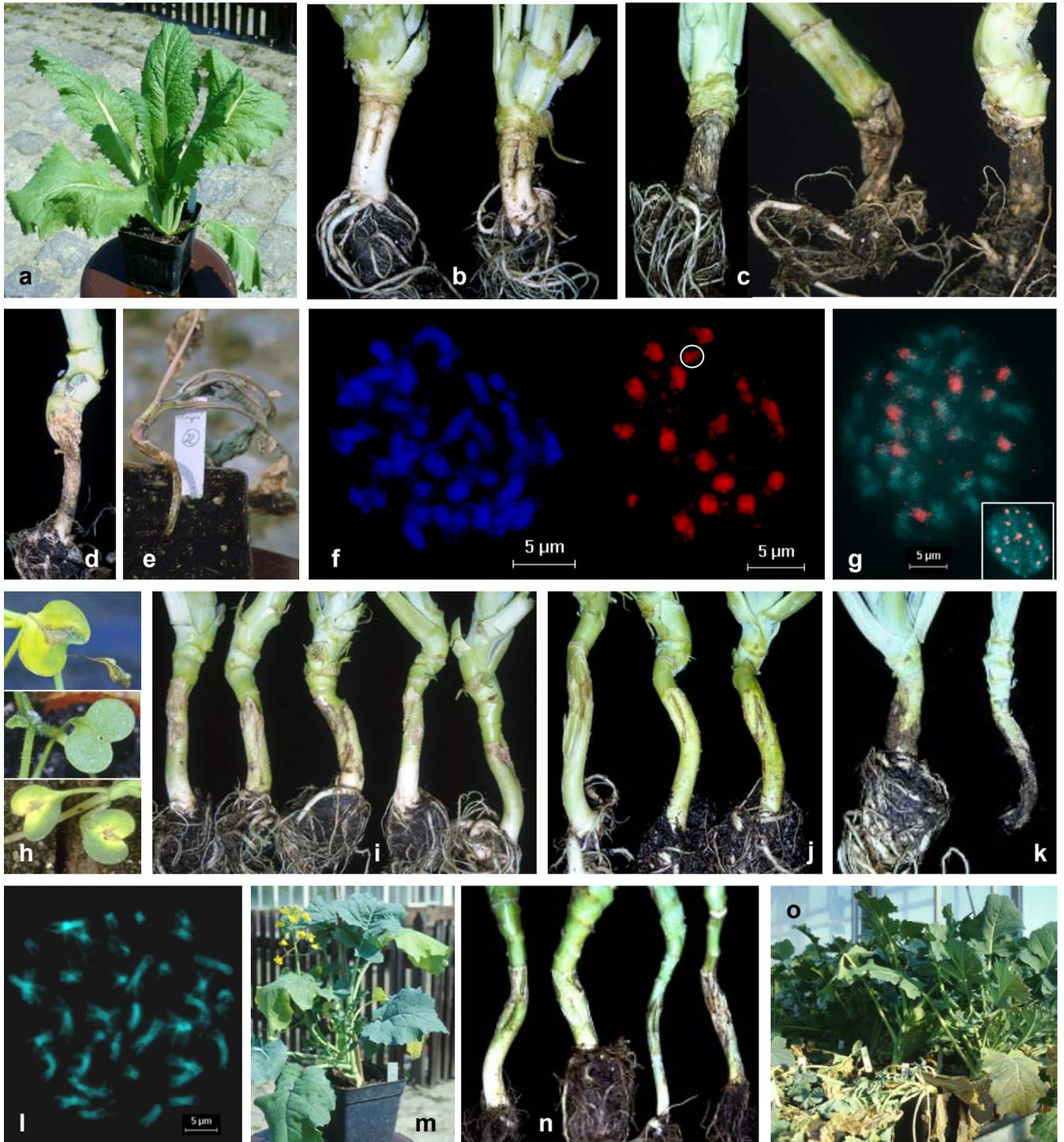
**Tab. 3.12** *B. napus*-*B. juncea*-Linien - Resistenztests II (Analyse von Kreuzungsnachkommen). Verhalten von Nachkommenschaften dihaploider Rückkreuzungsnachkommen sowie von Kontrollgenotypen gegenüber *L. maculans* in Tests mit Doppelinokulation (Isolat W4, Isolat M1), Adulttests an kotyledoneninokulierten Pflanzen (M1) bzw. Stengelbasistests (W4, M1). Die hier gezeigten Ergebnisse der Selbstungsnachkommen der vier DH-Pflanzen und die der Kontrollgenotypen sind nicht Bestandteil von Tab. 3.11. Tiefgestellte römische Zahlen: Versuchsbezeichnung. Resistenzklassen wie in Tabelle 3.1.

Genotyp	Pfl.-anzahl	Häufigkeiten des jeweiligen Resistenzverhaltens							
		R <sub>C</sub>	S <sub>C</sub>	R <sub>A</sub>	S <sub>A</sub>	R <sub>C/A</sub>	S <sub>C/R<sub>A</sub></sub>	R <sub>C/S<sub>A</sub></sub>	S <sub>C/A</sub>
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>2</sub> 7/10-6	32	1	31	31	1	1	30	0	1
	31	12	19	29	2	12	17	0	2
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 8/1-7	10	0	10	8	2	0	8	0	2
	10	0	10	6	4	0	6	0	4
BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 8/10-28	32	5	27	30	2	5	25	0	2
	19	8	11	15	4	7	8	1	3
BC <sub>2</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 4/9-1-32	18	0	18	1	17	0	1	0	17
	14	0	14	0	14	0	0	0	14
7/10-6 x 4/9-1-32	31	0	31	26	5	0	26	0	5
	6			4	2				
	21	5	16	20	1	5	15	0	1
	15			14	1				
4/9-1-32 x 7/10-6	6	0	6	2	4	0	2	0	4
	6			5	1				
	1	0	1	1	0	0	1	0	0
	12			10	2				
8/1-7 x 4/9-1-32	22	0	22	6	16	0	6	9	7
	5			4	1				
	10	0	10	8	2	0	8	0	2
	16			13	3				
4/9-1-32 x 8/1-7	6	0	6	2	4	0	2	0	4
	4			3	1				
	2	0	2	1	1	0	1	0	1
	10			8	2				
8/10-28 x 4/9-1-32	21	0	21	11	10	0	11	0	10
	5			2	3				
	9	0	9	7	2	0	7	0	2
	16			15	1				

Fortsetzung Tab. 3.12

Genotyp [Note Adultbonitur W4, außen]	Pfl.- anzahl	Häufigkeiten des jeweiligen Resistenzverhaltens							
		R <sub>C</sub>	S <sub>C</sub>	R <sub>A</sub>	S <sub>A</sub>	R <sub>C/A</sub>	S <sub>C/R<sub>A</sub></sub>	R <sub>C/S<sub>A</sub></sub>	S <sub>C/A</sub>
(7/10-6 x 4/9-1-32) <sub>1/IV</sub> [1]	15	0	15	10	5	0	10	0	5
(7/10-6 x 4/9-1-32) <sub>2/IV</sub> [2,5]	15 10	0 4	15 6	9 8	6 2	0 4	9 4	0 0	6 2
(7/10-6 x 4/9-1-32) <sub>3/IV</sub> [1,5]	10 10	0 1	10 9	8 7	2 3	0 1	8 6	0 0	2 3
(7/10-6 x 4/9-1-32) <sub>4/IV</sub> [2]	14	0	14	9	5	0	9	0	5
(7/10-6 x 4/9-1-32) <sub>GISH II/IV</sub> [4]	43 38	6 11	37 27	31 26	12 12	2 7	29 19	4 4	8 8
(7/10-6 x 4/9-1-32) <sub>8/IV</sub> [3,5]	13	0	13	7	6	0	7	0	6
(4/9-1-32 x 7/10-6) <sub>1/IV</sub> [2,5]	30 10	3 4	27 6	20 8	10 2	3 4	17 4	0 0	10 2
(4/9-1-32 x 7/10-6) <sub>4/IV</sub> [3]	14	0	14	11	3	0	11	0	3
(8/10-28 x 4/9-1-32) <sub>3/IV</sub> [2]	11	0	11	8	3	0	8	0	3
(8/10-28 x 4/9-1-32) <sub>7/IV</sub> [1]	29 27	0 12	29 15	23 18	6 9	0 8	23 10	0 4	6 5
(4/9-1-32 x 7/10-6) <sub>4/IV</sub> x <i>B. napus</i> „Loras“	34 19	1 4	33 15	15 11	19 8	0 3	15 8	1 1	18 7
(7/10-6 x 4/9-1-32) <sub>4/IV</sub> x 4/9-1-32	12 10	0 0	12 10	5 3	7 7	0 0	5 3	0 0	7 7
4/9-1-32 x (7/10-6 x 4/9-1-32) <sub>4/IV</sub>	13 5	0 1	13 4	3 1	10 4	0 1	3 0	0 0	10 4
(7/10-6 x 4/9-1-32) <sub>8/IV</sub> x <i>B. napus</i> „Loras“	14	0	14	6	8	0	6	0	8
(8/10-28 x 4/9-1-32) <sub>3/IV</sub> x <i>B. napus</i> „Loras“	9	0	9	3	6	0	3	0	6
(8/10-28 x 4/9-1-32) <sub>7/IV</sub> x <i>B. napus</i> „Loras“	28 29	2 12	26 17	16 14	12 15	1 5	15 9	1 7	11 8
4/9-1-32 x <i>B. napus</i> „Loras“	10	0	10	0	10	0	0	0	10
98 MDB self 23	25 5 19 5	25	0	25 5	0 0	25 0	0	0	0
<i>B. juncea</i>	19	11	8	17	2	11	6	0	2
	58	58	0	58	0	58	0	0	0
	1			1	0				
	49	14	35	4	45	3	1	12	33
<i>B. napus</i> „Liropa“	19			3	16				
	10 <sup>a</sup>			6 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>				
<i>B. napus</i> „Liropa“	22	0	22	0	22	0	0	0	22
	20	0	20	0	20	0	0	0	20

<sup>a</sup> Adultttest an kotyledoneninokulierten Pflanzen ohne Kotyledonenbonitur.



**Abb. 3.9** (S. 88) Charakterisierung der *B. napus*-*B. juncea*-Linien (I). **(a-c)** *B. juncea*. **(a)** Habitus ca. vier Wochen nach Stengelbasisinokulation. **(b)** Adultresistenz nach Inokulation mit dem Isolat W4. **(c)** Adultanfälligkeit nach Inokulation mit dem Isolat M1. **(d, e)** Adultanfälligkeit des Rückkreuzungselters *B. napus* „Liropa“ nach Inokulation mit W4 **(d)** und M1 **(e)**. **(f, g, l)** Ergebnisse der Genomischen *in situ*-Hybridisierung (siehe auch Abb. 3.1) an Wurzelspitzen-Metaphasen. B-Genom-Chromosomen (rot) sind mit Cy3 markiert, die Chromosomen von *B. napus* sind mit DAPI blau gefärbt. **(f)** *B. juncea* (2n=36): alle Chromosomen in DAPI-Färbung (links) bzw. 16 Signale an Cy3-markierten B-Genom-Chromosomen (rechts, Kreis kennzeichnet wahrscheinliches Artefakt). **(g)** *B. carinata*. Die 16 B-Genom-Chromosomen sind sowohl in der Metaphase (großes Bild) als auch in der Interphase (kleines Bild) unterschiedlich stark markiert, einige zeigen kaum Signale. **(h)** Resistenzverhalten auf Kotyledonenebene gegenüber dem Isolat W4: Kotyledonenanfälligkeit bei *B. napus* „Liropa“ (oben), -resistenz bei *B. juncea* (Mitte) und -anfälligkeit der *B. napus*-*B. juncea*-Rekombinationslinien am Beispiel der BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>2</sub> 4/9-1 (unten). **(i-k, n, o)** Ergebnisse dihaploider Linien in Tests mit Doppelinokulation. **(i)** Moderate Adultresistenz der Selbstungsnachkommenschaft der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>3</sub> 8/10-24 (Isolat W4). **(j)** Adultresistenz der Selbstungsnachkommenschaft der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>2</sub> 7/10-6 (Isolat M1). **(k)** Adultanfälligkeit bei Selbstungsnachkommen der Pflanze BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>3</sub> 4/9-1-32 (2n=38, Inokulation mit M1). **(l)** Keine Signale nach Hybridisierung mit *B. nigra*-DNA an Pflanze einer *B. napus*-*B. juncea*-Linie mit homozygot fixierter Kotyledonenresistenz, die von französischen Kollegen zur Verfügung gestellt wurden (Linie 98 MDB self 23); **(m)** Habitus einer gegenüber W4 doppelt-resistenten Pflanze dieses Genotyps, hier ohne Vernalisation blühend. **(n)** Selbstungsnachkommen der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>3</sub> 8/1-7 (2n=38): Adultresistenz nach Inokulation mit M1 als Regelverhalten der DH-Linie (die drei Pflanzen links), Adultanfälligkeit (Pflanze rechts) als abweichendes Verhalten einiger Selbstungsnachkommen (GV IV). **(o)** Signifikante Unterschiede im Grad der Adultanfälligkeit bei Pflanzen, die sich von derselben Mikrospore ableiten, als weiteres Beispiel für Abweichungen vom Regelverhalten innerhalb der DH-(Sub-)Linien: Kollaps der Selbstungsnachkommen der Pflanze BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>2</sub> 4/9-1, während die Individuen im Hintergrund, Selbstungsnachkommen des Genotyps BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>2</sub> 4/9-11, zwar schwere, jedoch nicht letale Schäden aufweisen (Isolat W4).

### 3.1.4.3 Genetik der Adultresistenz gegenüber dem Isolat W4

Die in Tabelle 3.12 dargelegten Ergebnisse der resistenten bzw. anfälligen DH-Linien ergänzen die bereits in Tabelle 3.11 aufgeführten und in Kapitel 3.1.4.2 besprochenen Resultate dieser Genotypen. Diese Pflanzen dienten als Kontrollen in den Versuchen zur Charakterisierung der Kreuzungsnachkommenschaften. Die Ergebnisse dieser Nachkommenschaften (F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> und BC<sub>1</sub>) legen für die Interaktion mit dem Isolat W4 - eingedenk nachfolgend dargelegter und im Kapitel 4.1.4 diskutierter Einschränkungen - einen monogen-dominanten Erbgang nahe. Hierbei sind jedoch sowohl die in Kapitel 3.1.4.2 erwähnten Abweichungen vom Regelfall der DH-Linie als auch die gegenüber diesem Isolat nur moderate Adultresistenz zu berücksichtigen. Oft wiesen resistente Pflanzen kleine bis mittlere, meist oberflächliche Läsionen auf (Abb. 3.9i) - ein deutlich vom doppelt-resistenten Resistenzdonor, *B. juncea* (Abb. 3.9b & mittleres Bild in h), und auch vom doppelt-anfälligen Rapselter, *B. napus* „Liropa“ (Abb. 3.9d und oberes Bild in h), abweichendes Resistenzverhalten. So erfolgten viele Adultbonituren in der Nähe der Resistenzgrenze (Daten nicht gezeigt). Darüber hinaus zeigt Tabelle 3.12 eine deutliche Tendenz hin zu mehr anfälligen Individuen bei Inokulation mit dem Isolat W4 gegenüber den Ergebnissen für das Isolat M1. Dies wird besonders deutlich durch relativ viele als anfällig bonitierte Individuen bei nahezu allen F<sub>1</sub>-Nachkommenschaften. Es zeigt sich aber auch in möglichen Abweichungen von der 3:1-Spaltung in F<sub>2</sub>-Populationen [z. B. (7/10-6 x 4/9-1-32)<sub>8/V</sub>] und von der 1:1-Spaltung bei BC<sub>1</sub>-Nachkommen [4/9-1-32 x (7/10-6 x 4/9-1-32)<sub>4/IV</sub>].

### 3.1.4.4 Hypothese über den Einfluß eines epistatischen Gens in der Interaktion der *B. napus*-*B. juncea*-Linien mit dem Isolat M1

Tabelle 3.13 faßt die Ergebnisse ausgewählter Genotypen in Tests mit Doppelinokulation für das Isolat M1 noch einmal zusammen (für Kontrollgenotypen inklusive Stengelbasistests siehe auch Tab. 3.11 & 3.12, Ergebnisse für *B. napus* „Loras“ in Tab. 3.2). Unter Berücksichtigung der insbesondere bei Inokulation mit dem Isolat W4 lediglich moderaten Adultresistenz und der bereits beschriebenen Abweichungen einzelner Pflanzen vom Regelfall der DH-Linie (siehe auch Kap. 3.1.4.2, 3.1.4.3 & 4.1.4) deuten die Resultate auf eine im wesentlichen monogene Resistenz hin. Für die Konstellation, daß sich bei Inokulation mit M1 („*B. juncea*-attackierend“) die gleichen *B. napus*-*B. juncea*-DH-Linien wie nach Inokulation mit W4 und ebenso die daraus hervorgegangenen F<sub>1</sub>-, F<sub>2</sub>- und BC<sub>1</sub>-Nachkommenschaften adultresistent zeigten, während beide Eltern der Originalkreuzung, *B. napus* „Liropa“ (Abb. 3.9e) und *B. juncea* (Abb. 3.9c), stark anfällig reagierten, wird ein epistatisches Gen (im folgenden Locus *E* genannt) postuliert. Das epistatische Gen wirkt im Falle der Interaktion mit M1 auf das eigentliche Resistenzgen (Locus *R*) ein. Die im Gegensatz zu den Bezeichnungen der Resistenzgene der *B. napus*-*C. monensis*-Linien (Kap. 3.1.2.2 & 3.1.2.4) hier gewählte allgemeinere und neutralere Terminologie ist aufgrund der international ohnehin schon unübersichtlichen Benennung von B-Genom-Resistenzgenen als vorläufig zu verstehen. Nach dieser Hypothese entstünde Adultresistenz (R<sub>A</sub>) wie folgt:

<b>R<sub>A</sub>:</b> <b>R R e _</b> <b>R r _ _</b>
--------------------------------------------------------

Die jeweiligen Eltern der Kreuzungen hätten dann folgende genetische Zusammensetzung: *B. napus* „Liropa“ bzw. anfällige DH-Linie = DH<sub>S</sub> (r r e e = anfällig), *B. juncea* (R R E E = anfällig) und resistente DH-Linie = DH<sub>R</sub> (R R e e). Die nicht mehr existierende Original-F<sub>1</sub> (R r E e) wäre resistent, ebenso die aus DH<sub>R</sub> x DH<sub>S</sub> hervorgehende F<sub>1</sub> (= DH-F<sub>1</sub>, R r e e, Tab. 3.12 & 3.13). Eine Rückkreuzung der DH-F<sub>1</sub> mit einem anfälligen Genotyp der Konstellation r r e e ergäbe eine 1:1-Aufspaltung (wie in Abb. 3.11b), während die DH-F<sub>2</sub> 3:1 (R<sub>A</sub>:S<sub>A</sub>, wie in Abb. 3.11a) spalten sollte (Tab. 3.13 und Abb. 3.10).

Erwähnenswert sind in diesem Zusammenhang auch die in den Tabellen 3.12 und 3.13 aufgeführten Ergebnisse der auch auf das Berliner Material zurückgehenden *B. napus*-*B. juncea*-Linie 98 MDB self 23 (Abb. 3.9l & m). Dieser Genotyp zeichnete sich gegenüber dem Isolat W4 ausnahmslos durch Kotyledonen- und Adultresistenz aus. Deutlich anders ist die Situation gegenüber dem australischen Isolat M1. Elf kotyledonenresistenten Individuen standen acht in diesem Stadium anfällige gegenüber. Fünf Pflanzen wurden in Tests mit Doppelinokulation (zwei) bzw. Stengelbasistests (drei) als adultanfällig eingeschätzt.

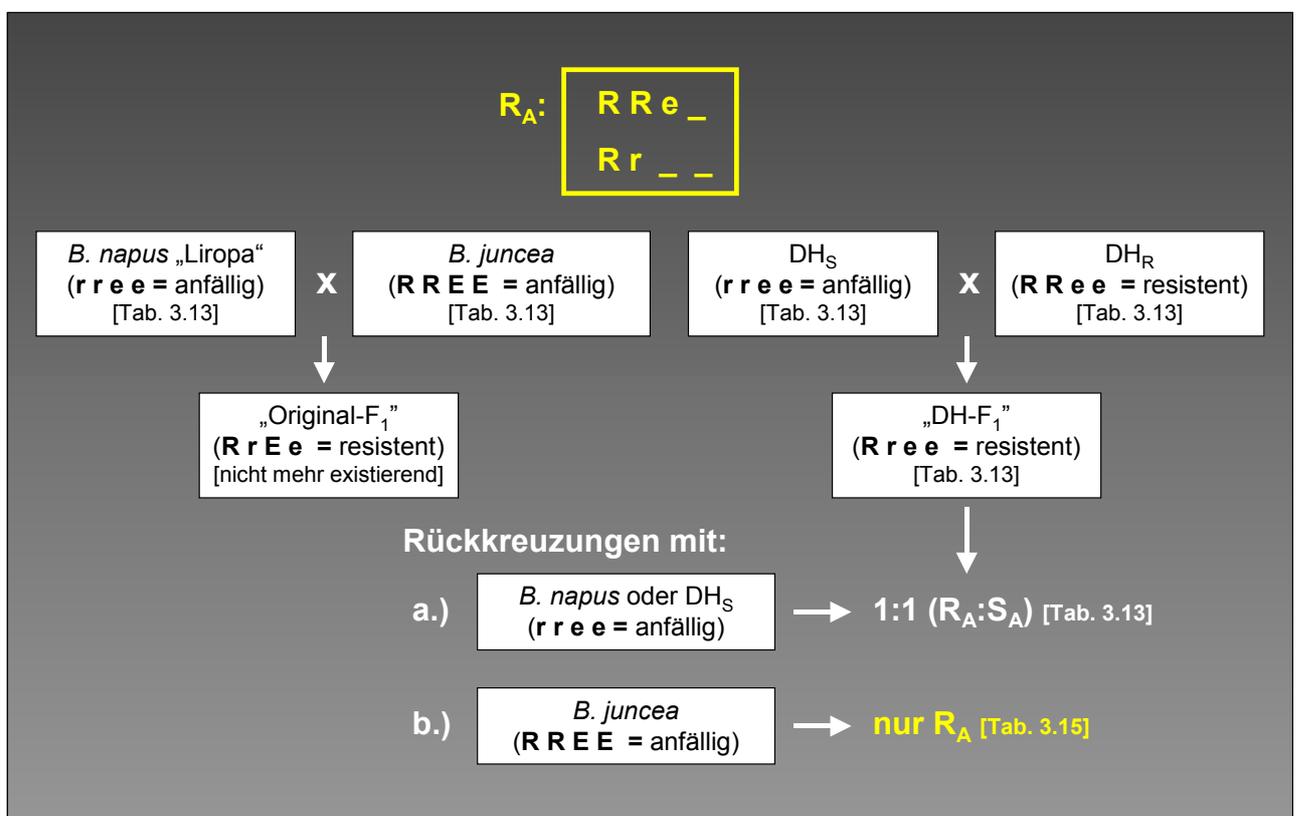
Die vierzehn in Tabelle 3.13 als adultresistent aufgeführten *B. juncea*-Pflanzen zeigten sich nach Weiterkultivierung drei bis vier Wochen nach dem Boniturzeitpunkt nahezu ausnahmslos adultanfällig (siehe auch S. 98).

**Tab. 3.13** Resistenzverhalten (Adultresistenz) von Selbstungs- und Kreuzungsnachkommen dihaploider Pflanzen der *B. napus*-*B. juncea*-Linien sowie ausgewählter Kontrollgenotypen in Tests mit Doppelinokulation gegenüber dem Isolat M1 (Kontrollgenotypen: inklusive Stengelbasistests). Prüfung der Epistasie-Hypothese anhand des  $\chi^2$ -Anpassungstests (FG = 1,  $\alpha = 0,05$ ,  $\chi^2$ -Grenze = 3,84).  $R_A/S_A$  = Adultresistenz/-anfälligkeit bzw. Anzahl solcher Pflanzen in Nachkommenschaft, \* = Ergebnisse beziehen sich auf vom Autor betreute Untersuchungen im Rahmen des Projekts, die aber nicht Bestandteil dieser Doktorarbeit waren (K. STERENBERG, pers. Mitteilung), weitere Erklärungen im Text.

Selbstungs- bzw. Kreuzungsnachkommenschaft oder Kontrollgenotyp [postulierte Resistenzgene]	Adult-Resistenzverhalten gegenüber Isolat M1				Erwartung [ $\chi^2$ ]
	alle Ergebnisse zusammen- gefaßt		*		
	$R_A$	$S_A$	$R_A$	$S_A$	
Selbstung BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>2</sub> 7/10-6 [RRee]	76	4	19	1	alle $R_A$
Selbstung BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 8/10-28 [RRee]	65	5	19	1	alle $R_A$
Selbstung BC <sub>2</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 4/9-1-32 [rree]	0	43	0	20	alle $S_A$
F <sub>1</sub> (4/9-1-32 x 7/10-6) [Rree]	11	2	0	0	alle $R_A$
F <sub>1</sub> (7/10-6 x 4/9-1-32) [Rree]	34	2	0	0	alle $R_A$
F <sub>1</sub> (8/10-28 x 4/9-1-32) [Rree]	22	3	0	0	alle $R_A$
F <sub>2</sub> (4/9-1-32 x 7/10-6) <sub>1/IV</sub> [1 RRee, 2 Rree, 1 rree]	42	18	34	16	3:1 [0,556]
F <sub>2</sub> (7/10-6 x 4/9-1-32) <sub>2/IV</sub> [1 RRee, 2 Rree, 1 rree]	48	13	40	11	3:1 [0,268]
F <sub>2</sub> (7/10-6 x 4/9-1-32) <sub>GISH II/V</sub> [1 RRee, 2 Rree, 1 rree]	26	12	0	0	3:1 [0,561]
BC <sub>1</sub> (4/9-1-32 x 7/10-6) <sub>4/IV</sub> x <i>B. n.</i> „Loras“ [1 Rree, 1 rree]	34	35	23	27	1:1 [0]
BC <sub>1</sub> (8/10-28 x 4/9-1-32) <sub>3/IV</sub> x <i>B. n.</i> „Loras“ [1 Rree, 1 rree]	25	25	25	25	1:1 [0,002]
BC <sub>1</sub> (8/10-28 x 4/9-1-32) <sub>7/IV</sub> x <i>B. n.</i> „Loras“ [1 Rree, 1 rree]	14	15	0	0	1:1 [0]
<i>B. napus</i> - <i>B. juncea</i> -Linie 98 MDB self 23 [RRee?]	28	5	9	0	(alle $R_A$ ?)
<i>B. napus</i> „Liropa“ [rree]	1	58	1	20	alle $S_A$
<i>B. napus</i> „Loras“ [rree]	1	78	0	21	alle $S_A$
<i>B. juncea</i> [RREE]	14	93	4	16	alle $S_A$

### 3.1.4.5 Kreuzungsexperiment zur Verifizierung der Epistasie-Hypothese

Zur Verifizierung der im vorangegangenen Kapitel dargelegten Epistasie-Hypothese, die bereits durch die in Tabelle 3.13 aufgeführten Ergebnisse erhärtet wird, wurde ein weiteres Experiment durchgeführt. In dessen Mittelpunkt standen interspezifische Kreuzungen zwischen *B. juncea* und F<sub>1</sub>-Pflanzen aus Kreuzungen resistenter und anfälliger DH-Genotypen (DH-F<sub>1</sub>). Der Hintergrund der aufwendigen Erstellung und Analyse dieser Nachkommen aus interspezifischen Kreuzungen (siehe Kap. 2.2.1.2) war die Annahme, daß diese Pflanzen - sollte die Hypothese zutreffen - ausnahmslos adultresistent (R<sub>A</sub>) sein müßten. Ihre für die Resistenz verantwortlichen Gene hätten dann die allelische Konstitution RREe oder RrEe. Die theoretische Basis der Untersuchungen zur Bestätigung der Epistasie-Hypothese ist in Abbildung 3.10 zusammengefaßt.



**Abb. 3.10** Interaktion der *B. napus*-*B. juncea*-Linien mit dem Isolat M1 - Versuche zur Verifizierung der Epistasie-Hypothese (Erklärung im Text: Kap. 3.1.4.4 & 3.1.4.5).

Tabelle 3.14 zeigt Anlage und Kreuzungserfolg eines Experiments zur Verifizierung der Epistasie-Hypothese. Deutlich wird, daß sowohl bei Anwendung der *in ovulo*-Embryokultur als auch bei Abreife der Schoten an der Pflanze ein wesentlich größerer Erfolg erzielt wurde, wenn *B. juncea* als Mutter diente. Bei vergleichbarem Einsatz konnten auf diese Weise insgesamt 275 Pflanzen regeneriert werden (Abb. 3.11f-l, o, p & s), während aus Kreuzungen mit *B. juncea* als Pollenspender lediglich drei Individuen (Abb. 3.11m, n, q & r) entstanden.

**Tab. 3.14** Anlage und Kreuzungserfolg eines Experiments zur Verifizierung der Epistasie-Hypothese (Interaktion der *B. napus*-*B. juncea*-Linien mit dem Isolat M1). Reziproke Kreuzungen zwischen DH-F<sub>1</sub> (F<sub>1</sub> aus Kreuzung einer resistenten und einer anfälligen DH-Pflanze, siehe Tab. 3.12) und *B. juncea* (*B. jun.*, Pflanzen 2, 3, 5 und 8). DH-F<sub>1</sub>-I = (7/10-6 x 4/9-1-32)<sub>8/IV</sub>, DH-F<sub>1</sub>-II = (7/10-6 x 4/9-1-32)<sub>4/IV</sub>, DH-F<sub>1</sub>-III = (8/10-28 x 4/9-1-32)<sub>7</sub>. Nachkommenschaften aus DH-F<sub>1</sub>-II x *B. jun*-8 und *B. jun*-5 x DH-F<sub>1</sub>-III waren auch an einem vorgeschalteten, zusätzlichen Keimversuch beteiligt (je 20 Samen).

Kreuzungseltern		Anzahl bestäubter Knospen	Anzahl erhaltener Schoten	in ovulo-Embryokultur			Abreife		
♀	♂			Anzahl Schoten	Anzahl Samen bzw. Samenanlagen (s <sub>o</sub> )	Anzahl regenerierter Pflanzen (r <sub>o</sub> ) / [r <sub>o</sub> /s <sub>o</sub> ]	Anzahl Schoten	Anzahl erhaltener Samen / in Keimversuchen [s <sub>k</sub> ]	Anzahl regenerierter Pflanzen [r <sub>k</sub> ] / [r <sub>k</sub> /s <sub>k</sub> ]
DH-F <sub>1</sub> -I	<i>B. jun</i> -2	10	7	4	30	1 / [0,03]	3	19 / 19	0 / [0]
DH-F <sub>1</sub> -I	<i>B. jun</i> -3	8	7	-	-	-	7	36 / 36	1 / [0,03]
DH-F <sub>1</sub> -II	<i>B. jun</i> -8	12	10	-	-	-	10	67 / 67	1 / [0,01]
DH-F <sub>1</sub> -III	<i>B. jun</i> -2	7	7	-	-	-	7	16 / 16	0 / [0]
<i>B. jun</i> -2	DH-F <sub>1</sub> -II	9	9	6	32	26 / [0,81]	3	66 / 40	40 / [1,00]
<i>B. jun</i> -3	DH-F <sub>1</sub> -I	9	9	-	-	-	9	16 / 16	15 / [0,94]
<i>B. jun</i> -5	DH-F <sub>1</sub> -III	17	17	6	75	66 / [0,88]	11	137 / 73	73 / [1,00]
<i>B. jun</i> -8	DH-F <sub>1</sub> -III	8	8	5	33	27 / [0,82]	3	53 / 28	28 / [1,00]

Da der Kreuzungserfolg bei freier Abreife nicht schlechter als bei Anwendung der *in ovulo*-Embryokultur war (Tab. 3.14), wurden die einem abschließenden Test mit Doppelinokulation unterzogenen Kreuzungsnachkommen aus an der Pflanze abgereiften Schoten gewonnen. Dieser Test (Epistasie-Versuch) ist in Tabelle 3.15 zusammengefaßt. Für die Kreuzungsrichtung DH-F<sub>1</sub> x *B. juncea* konnte nur ein Nachkomme getestet werden. Dieser (Abb. 3.11n) zeichnete sich, wie auch alle Pflanzen aus *B. juncea* x DH-F<sub>1</sub> (Abb. 3.11j), durch Adultresistenz gegenüber dem Isolat M1 aus. Diese Resultate bestätigen die in Kapitel 3.1.4.4 beschriebene und in Abbildung 3.10 zusammengefaßte Epistasie-Hypothese. Alle untersuchten Kreuzungsnachkommen waren auch kotyledonen- (Abb. 3.11f) und adultresistent gegenüber dem Isolat W4. Die in Tabelle 3.15 dokumentierten Ergebnisse weisen für die Inokulation mit M1 sowohl kotyledonenanfällige Individuen (meist moderate Läsionen wie in Abb. 3.11g-i) als auch solche ohne Läsionen auf.

Zur Bestätigung ihres Hybridcharakters und damit zur Untermauerung der Epistasie-Hypothese wurden die Nachkommen (postulierte Genomzusammensetzung: AA'BC') aus den interspezifischen Kreuzungen DH-F<sub>1</sub> (putativ rekombinantes Genom A'A'C'C') x *B. juncea* (AABB) cytologisch, morphologisch und hinsichtlich ihres Blühverhaltens charakterisiert.

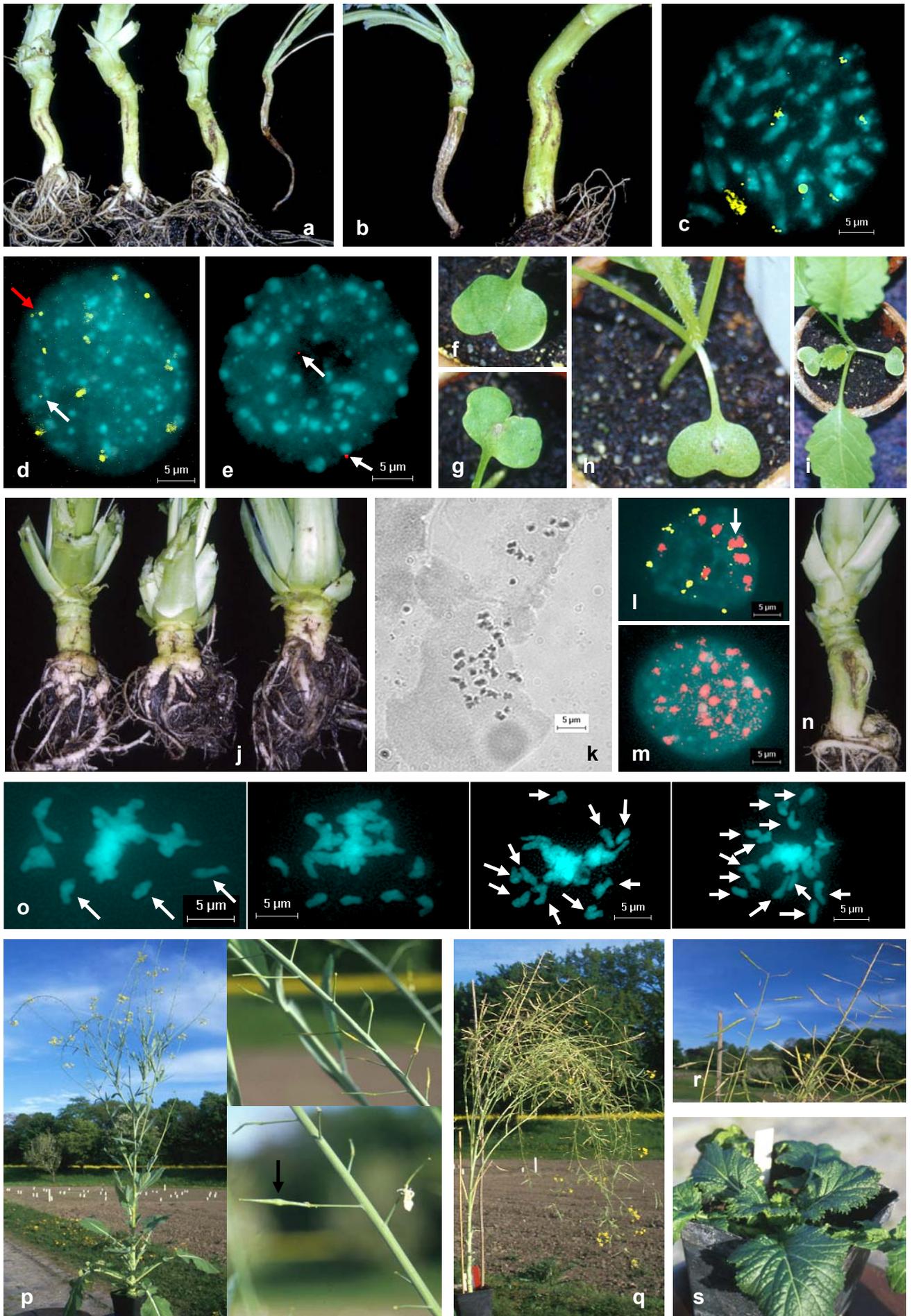
In klassischen (Abb. 3.11k) und molekular-cytogenetischen (Abb. 3.11l & m) Analysen konnte bei sieben Pflanzen eine Chromosomenzahl von 2n=37 (bzw. 2n=37/38, Tab. 3.15) und zumindest bei drei näher untersuchten Individuen das Vorhandensein von acht B-Genom-Chromosomen (Abb. 3.11l) bzw. ca. 29 AACC-Chromosomen (Abb. 3.11m) ermittelt werden.

**Tab. 3.15** Resistenzverhalten von F<sub>1</sub>-Nachkommen aus reziproken Kreuzungen zwischen DH-F<sub>1</sub> (F<sub>1</sub> aus Kreuzung einer resistenten und einer anfälligen DH-Pflanze, siehe Tab. 3.12) und *B. juncea* (*B. jun.*, Pflanzen 2, 3, 5 und 8). DH-F<sub>1</sub>-I = (7/10-6 x 4/9-1-32)<sub>8/IV</sub>, DH-F<sub>1</sub>-II = (7/10-6 x 4/9-1-32)<sub>4/IV</sub>, DH-F<sub>1</sub>-III = (8/10-28 x 4/9-1-32)<sub>7</sub> in Tests mit Doppelinokulation gegenüber den Isolaten **W4** (blau) bzw. **M1** (rot) von *L. maculans*. R = resistent, S = anfällig, C = Kotyledonen- (in Zus.), A = Adult- (in Zus.), C/A = kombinierte Kotyledonen- und Adultresistenz bzw. -anfälligkeit (siehe auch Kap. 2.2.3.1 & 2.2.3.2 sowie Tab. 2.4 & 2.6). n.b. = nicht bestimmt/bestimmbar, \* bei drei Pflanzen nur Kotyledoneninokulation.

Kreuzungsnachkommenschaft	Pfl.-anzahl	Häufigkeiten des jeweiligen Resistenzverhaltens								Chromosomenzahl (2n) [Pfl.-anzahl]
		R <sub>C</sub>	S <sub>C</sub>	R <sub>A</sub>	S <sub>A</sub>	R <sub>C/A</sub>	S <sub>C/R<sub>A</sub></sub>	R <sub>C/S<sub>A</sub></sub>	S <sub>C/A</sub>	
<i>B. jun</i> -2 x DH-F <sub>1</sub> -II	15	15	0	15	0	15	0	0	0	37 [2]
	15	8	7	15	0	8	7	0	0	37/38 [2]
<i>B. jun</i> -3 x DH-F <sub>1</sub> -I	14	9	5	14	0	9	5	0	0	37 [1], 37/38 [1]
<i>B. jun</i> -5 x DH-F <sub>1</sub> -III	12	12	0	12	0	12	0	0	0	n.b.
	11*	7	4	11*	0*	7*	4*	0*	0*	
<i>B. jun</i> -8 x DH-F <sub>1</sub> -III	7	3	4	7	0	3	4	0	0	n.b.
DH-F <sub>1</sub> -I x <i>B. jun</i> -3	1	1	0	1	0	1	0	0	0	37 [1]
				<b>Σ</b>	<b>48*</b>	<b>0*</b>				

Die Kotyledonen dieser Kreuzungsnachkommen waren oft durch einen weißen Randbereich gekennzeichnet (Abb. 3.11i). Die in einem Vorversuch (Sommer 2002) kultivierten Pflanzen aus der Embryokultur zeigten eine erhebliche Verzögerung des Eintritts in die generative Phase. Nach Vernalisation blühten sie jedoch bald und reichhaltig. Deshalb wurden viele der zur Weiterverwendung bestimmten Kreuzungsnachkommen aus dem Epistasie-Versuch (Winter 2002/03) nach der Adultbonitur vernalisiert (Zustand nach Vernalisation in Abb. 3.11s). Die nicht vernalisierten Schwesterpflanzen aus diesem Versuch blühten jetzt jedoch ähnlich schnell und gleichmäßig.

Die Pflanzen aus den interspezifischen Kreuzungen zeichneten sich darüber hinaus durch erhebliche Störungen der Meiose aus. So konnten in stichprobenartigen Analysen von ca. 25 auswertbaren Pollenmutterzellen zwischen drei und zwölf Univalente (Abb. 3.11o) festgestellt werden. Die unterschiedlichen Fälle traten in ähnlicher Häufigkeit auf; auf eine statistische Auswertung wurde wegen des unzureichenden Stichprobenumfangs verzichtet. Analysen von 100 Tetraden einer Pflanze aus der Kreuzung *B. juncea*-2 x DH-F<sub>1</sub>-II zeigten neben 36 regulären Tetraden auch 46 mit einem und 18 mit zwei Mikrokernen. Diese Paarungsstörungen führten im Falle der Nachkommen aus der Kreuzungsrichtung *B. juncea* x DH-F<sub>1</sub> zu großer Sterilität (Abb. 3.11p). Die wenigen fertilen Schoten dieser Pflanzen mit an *B. juncea* erinnernden Blättern (Abb. 3.11s) enthielten oft nur einen Samen. Hingegen erwies sich der einzige Vertreter im Epistasie-Versuch, der aus der Kreuzung DH-F<sub>1</sub> x *B. juncea* hervorging, als weitgehend fertil; große Schoten mit 15-20 Samen waren die Regel (Abb. 3.11q & r). Die Blattmorphologie



**Abb. 3.11** (S. 95) Charakterisierung der *B. napus*-*B. juncea*-Linien (II). **(a)** Aufspaltung der DH-F<sub>2</sub> (7-10-6 x 4/9-1-32)<sub>2</sub> in resistente (die drei Pflanzen links) und anfällige (rechts) Individuen im Verhältnis 3:1 (Isolat M1). **(b)** Aufspaltung der DH-BC<sub>1</sub> (4/-9-1-32 x 7-10-6)<sub>4</sub> x *B. napus* „Loras“ in anfällige (links) und resistente (rechts) Individuen im Verhältnis 1:1 (Isolat M1). **(c-e, l, m)** Ergebnisse der Genomischen und Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierung (Details wie in Abb. 3.1), mitotische Zellen aus Wurzelspitzenmeristem. **(c, d)** Adultanfällige Pflanze der DH-BC<sub>1</sub> (4/9-1-32 x 7/10-6)<sub>4</sub> mit 2n=38 zeigt bei mindestens sechs Metaphasechromosomen **(c)** 45S rDNA-Loci (Cy3-markiert, gelb; großes Signal unten links: Artefakt); in einer Interphase der gleichen Pflanze **(d)** finden sich ca. zwölf derartige Signale (weißer Pfeil: fragliches Signal, roter Pfeil: ein oder zwei Signale). **(e)** Zwei kleine BB-Cy3-Signale (Pfeile) in einer Interphase einer adultresistenten Pflanze der DH-BC<sub>1</sub> (4/9-1-32 x 7/10-6)<sub>4</sub> mit 2n=38. **(f)** Kotyledonenresistenz der Nachkommen aus der interspezifischen Kreuzung *B. juncea*-5 x F<sub>1</sub>-III gegenüber dem Isolat W4 (Boniturnote 1). Moderate Kotyledonenanfälligkeit in der gleichen Nachkommenschaft **(g)** und der aus *B. juncea*-2 x F<sub>1</sub>-II **(h)** gegenüber dem Isolat M1 (jeweils Boniturnote 3). **(i)** Weiße Ränder der Kotyledonen bei Kreuzungsnachkommen aus *B. juncea*-8 x F<sub>1</sub>-III, Kotyledonen-Boniturnote 3 nach M1-Inokulation. **(j, n)** Adultresistenz der Nachkommen aus Kreuzungen *B. juncea*-5 x F<sub>1</sub>-III **(j)** und F<sub>1</sub>-I x *B. juncea*-3 - einzige zur Verfügung stehende Pflanze dieser reziproken, sehr sterilen Kombination - **(n)** in Tests mit Doppelinokulation (Isolat M1). **(k)** 2n=37 in Metaphase eines Nachkommens der Kreuzung *B. juncea*-3 x F<sub>1</sub>-I. **(l)** Acht BB-DIG-Signale (rot, Pfeil: zwei Signale) und zwölf bis vierzehn 45S rDNA-Cy3-Signale (gelb) in Interphase eines Nachkommens aus *B. juncea*-3 x F<sub>1</sub>-I. **(m)** 26-29 AACC-Signale unterschiedlicher Größe in Interphase der oben erwähnten Pflanze aus F<sub>1</sub>-I x *B. juncea*-3. **(o)** Unterschiedliche Anzahl an Univalenten (meiotische Metaphase I) einer Pflanze aus *B. juncea*-2 x F<sub>1</sub>-II (DAPI-Färbung von Pollenmutterzellen): drei (Bild links, Pfeile), mindestens sechs (zweites Bild von links, untere Bildhälfte), ca. neun (zweites Bild von rechts, Pfeile) und ca. zwölf (Bild rechts, Pfeile). **(p)** Hochgradige Sterilität in der Nachkommenschaft aus *B. juncea*-5 x F<sub>1</sub>-III; in den wenigen vorhandenen Schoten befindet sich oft nur ein Same (Pfeil). Habitus im vegetativen Zustand und Blattform - ebenfalls bei **(s)**: Pflanze aus Kreuzung *B. juncea*-2 x F<sub>1</sub>-II, Zustand nach sechswöchiger Vernalisation, die zehn Tage nach der Adult-Außenbonitur begann - sind intermediär zwischen *B. napus* und *B. juncea*, mit Tendenz zu *B. juncea*. **(q, r)** Die oben erwähnte Pflanze aus F<sub>1</sub>-I x *B. juncea*-3 ist hingegen weitestgehend fertil. Habitus im vegetativen Zustand und Blattform sind ebenfalls intermediär zwischen *B. napus* und *B. juncea*, jedoch - im Vergleich zu **(p & s)** - mit deutlicher Tendenz zu *B. napus*.

war hier zwar ebenfalls intermediär, jedoch deutlich hin zu *B. napus* verschoben. Gegenüber der vorherigen Generation (siehe S. 92 unten) kam es somit hinsichtlich des Zusammenhangs von Kreuzungsrichtung und Fertilität zu einer Umkehrung der Verhältnisse.

### 3.1.4.6 Zusätzliche Bemerkungen

Bei den hier bearbeiteten *B. napus*-*B. juncea*-DH-Linien konnten ebenso wie bei der von französischen Partnern zur Verfügung gestellten *B. napus*-*B. juncea*-Rekombinationslinie (98 MDB self 23) in der Regel keine GISH-Signale festgestellt werden (Abb. 3.9l). Ausnahmen fanden sich bei DH-BC<sub>1</sub>-Individuen. Einige wiesen, nicht immer reproduzierbar, ein bis zwei kleine Signale nach Hybridisierung mit BB-Cy3-DNA auf (Abb. 3.11e). FISH-Analysen mit 45S rDNA zeigten zwischen ca. sechs (Metaphase in Abb. 3.11c) und zwölf (Interphase in Abb. 3.11d) Signale verschiedener Größe, auch wurden Hinweise auf 14 Signale gefunden.

Frühe, kleine Stichproben umfassende RAPD-PCR-Untersuchungen erbrachten mit einigen Primern Unterschiede im Bandenmuster innerhalb der DH-Linien, z. B. innerhalb der Selbstungsnachkommenschaften der adultresistenten BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>2</sub> 7/10-11 und der adultanfälligen BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>2</sub> 4/9-1 (Daten nicht gezeigt, siehe auch Kap. 4.1.4).

### 3.1.5 Untersuchungen weiterer Kontrollgenotypen

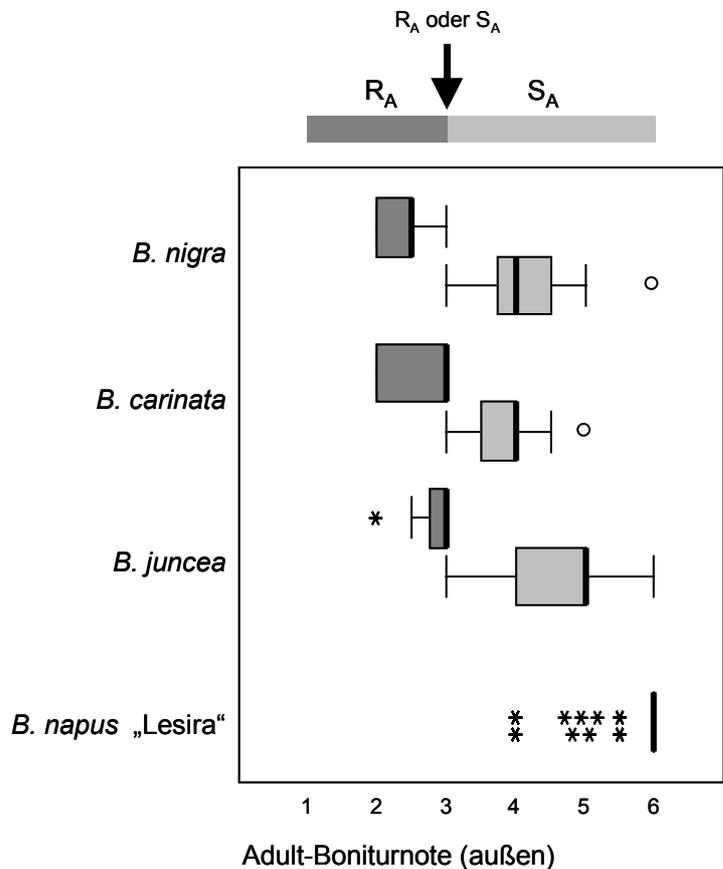
In einen Teil der Versuche wurden neben dem in den Kapiteln 3.1.1 bis 3.1.4 erwähnten Referenzmaterial auch andere Genotypen als Kontrollen miteinbezogen. Das Resistenzverhalten dieser Genotypen ist in Tabelle 3.16 zusammenfassend dargestellt.

**Tab. 3.16** Verhalten von Kontrollgenotypen in Tests mit Doppelinokulation (Isolat W4, Isolat M1/ein Versuch nur mit Adultbonitur), Adulttests an kotyledoneninokulierten Pflanzen (W4, M1/nur Adultbonitur) Stengelbasistests (W4, M1) bzw. Kotyledonentests (M1). Resistenzklassen: R = resistent, S = anfällig, C = Kotyledonen- (in Zus.), A = Adult- (in Zus.), C/A = kombinierte Kotyledonen- und Adultresistenz bzw. -anfälligkeit (siehe auch Kap. 2.2.3.1 & 2.2.3.2 sowie Tab. 2.4 & 2.5).

Genotyp	Pfl.- anzahl	Häufigkeiten des jeweiligen Resistenzverhaltens							
		R <sub>C</sub>	S <sub>C</sub>	R <sub>A</sub>	S <sub>A</sub>	R <sub>C/A</sub>	S <sub>C/R<sub>A</sub></sub>	R <sub>C/S<sub>A</sub></sub>	S <sub>C/A</sub>
<i>B. napus</i> „Lesira“	73	0	73	0	73	0	0	0	73
	19	0	19	5	14	0	5	0	14
	49	10	39	0	49	0	0	10	39
	3			0	3				
	2			1	1				
<i>B. napus</i> „Jet Neuf“	49	4	45	37	12	3	34	1	11
	20	0	20	20	0	0	20	0	0
	7			5	2				
	29	3	26	24	5	3	21	0	5
	2			2	0				
	3			3	0				
5			5	0					
<i>B. nigra</i>	19	19	0	19	0	19	0	0	0
	16	16	0	5	11	5	0	11	0
	9			9	0				
	26	24	2						
<i>B. carinata</i> Gat. I	13	12	1	12	1	11	1	1	0
	14	4	10	3	11	1	2	3	8
<i>B. carinata</i> Gat. II	13	13	0	12	1	12	0	1	0
	16	3	13	0	16	0	0	3	13
<i>B. carinata</i> Gött.	13	13	0	13	0	13	0	0	0
	5			5	0				
	16	4	12	1	15	1	0	3	12
	10			10	0				
	6			0	6				
<i>Sinapis arvensis</i> var. orientalis	7	7	0	7	0	7	0	0	0
	8	7	1	8	0	7	1	0	0
<i>B. cretica</i>	14	0	14	0	14	0	0	0	14
	16	0	16	0	16	0	0	0	16
	10			2	8				
<i>Ricotia cretica</i>	4	4	0						

*B. napus* „Lesira“ ist eine gegenüber *L. maculans* stark anfällige Rapssorte und diente daher in vielen Resistenztests als positive Kontrolle für den Infektionserfolg. Tabelle 3.16 verdeutlicht für diesen Genotyp wie auch für die moderat resistente Rapssorte „Jet Neuf“ (Abb. 3.13f) die Überlegenheit des Tests mit Doppelinokulation gegenüber Adulttests an kotyledoneninokulierten Pflanzen bei der Ausprägung des genotypspezifischen Normalverhaltens (siehe auch Kap. 3.3). Von besonderer Bedeutung hinsichtlich des Vergleichs verschiedener Resistenzen sind die *Brassica*-Arten mit dem B-Genom (Abb. 3.12). Gegenüber dem Isolat W4 reagieren sowohl *B. nigra* (Abb. 3.13d) und die drei getesteten Genotypen von *B. carinata* (Abb. 3.13a & b, Tab. 3.16; zu GISH-Ergebnissen siehe Abb. 3.9g) als auch, wie in Kapitel 3.1.4 beschrieben, *B. juncea* (Abb. 3.9b) adultresistent. Demgegenüber zeichnen sich die drei Arten durch eine kompatible Interaktion mit dem Isolat M1 aus (Tab. 3.16). Es zeigen sich jedoch Unterschiede im Grad der Adultanfälligkeit gegenüber diesem australischen Isolat, die Abbildung 3.12 verdeutlicht.

**Abb. 3.12** Box-Whisker-Plot (erstellt mit SPSS Version 11.0) zeigt die Verteilung der Boniturnoten (Außenbonitur) der *Brassica*-Arten mit dem B-Genom sowie der stark anfälligen, positiven Kontrolle *B. napus* „Lesira“ in Tests mit Doppelinokulation gegenüber dem Isolat M1. Die *boxes* geben den Interquartilbereich an, während die darin enthaltenen dicken vertikalen Linien den Median kennzeichnen. Die *whiskers* überspannen die verbleibende Variation mit Ausnahme von Extremwerten (\*) und Ausreißern (○).  $R_A$  = Adultresistenz,  $S_A$  = Adultanfälligkeit. Zur Bewertung an der Resistenzgrenze (Pfeil) ist die Innenbonitur, wie für die *B. napus*-*B. juncea*-Linien in Tab. 2.6 beschrieben, entscheidend.



*B. juncea* reagierte nach M1-Inokulation stets stark adultanfällig (Abb. 3.9c), wengleich die Individuen ihr maximales Anfälligkeitsniveau oftmals erst drei bis vier Wochen nach der Adultbonitur zeigten. Dann unterschieden sie sich kaum noch von der in Abbildung 3.12 als anfällige Kontrolle gezeigten Rapssorte „Lesira“ (schwerste Schädigungen bzw. Pflanze tot, Abb. 3.4e). Hingegen wiesen *B. carinata* und *B. nigra* eine moderatere Anfälligkeit auf; viele Individuen hatten geringere Läsionen als in Abbildung 3.13c bzw. 3.13e gezeigt, einige Pflanzen wurden auch als adultresistent klassifiziert (Tab. 3.16). Eine Differenzierung zwischen diesen beiden *Brassica*-Arten im Grad der Adultanfälligkeit gegenüber M1 fällt schwer. *B. nigra* hat den größeren Anteil als adultresistent eingestufte Individuen an der Gesamtzahl und weist eine

größere Streuung auf; die Mehrzahl der getesteten Pflanzen von *B. carinata* lag relativ geringfügig über der Resistenzgrenze, die Außenboniturnote 4 dominierte (Tab. 3.16 und Abb. 3.12).

Die drei getesteten Genotypen von *B. carinata* unterschieden sich nur unwesentlich voneinander, sowohl in ihrem Resistenzverhalten gegenüber W4 als auch gegenüber M1. Gleiches gilt für *Sinapis arvensis* var. *orientalis* im Vergleich zum ansonsten verwendeten *S. arvensis*-Genotyp (Kap. 2.1.1.3 & 3.1.3). Aufgrund von Habitus-Besonderheiten und Kultivierungsproblemen konnte *Ricotia cretica* nur auf Kotyledonenebene getestet werden; die Pflanzen waren alle resistent (Tab. 3.16).

*B. cretica* wurde als gegenüber beiden Isolaten und auf beiden Entwicklungsstufen stark anfälliger Kontrollgenotyp (Abb. 3.13g) identifiziert. In GISH-Experimenten diente genomische DNA von *B. cretica* als Sonde zur Hybridisierung von *B. napus*-Chromosomen. Hintergrund war die Hoffnung, mit dem dem *Brassica*-C-Genom ähnlichen *B. cretica*-Genom die C-Genom-Chromosomen des Rapses und damit auch die entsprechenden Chromosomen in Rückkreuzungsnachkommen markieren zu können. Jedoch wurden in *B. napus*-„Loras“-Interphasen lediglich ca. drei Signale, vermutlich an C-Genom-Chromosomen, detektiert (Abb. 3.13h).

## 3.2 Feldversuche

Zur Prüfung ihres Resistenzverhaltens unter praxisnahen Bedingungen wurden verschiedene Genotypen der drei Rückkreuzungsprogramme, die sich in Gewächshaustests als aufspaltend-resistent bzw. deutlich anfällig erwiesen hatten, in drei Feldversuchen getestet (Abschnitt 2.2.3.2.4). Bei der Beurteilung ist jedoch das Fortschreiten der Rückkreuzungsprogramme zu berücksichtigen. So konnten viele relevante Genotypen, insbesondere die putativ rekombinanten Linien ( $2n=38$ ), erst spät entwickelt werden (z. B. *B. napus*-*C. monensis*-Linien), so daß sie bestenfalls im Feldversuch 2000/01 getestet werden konnten. Darüber hinaus mußte eine hinreichende Menge an Selbstungssaatgut vorhanden sein. Auch wurden in den ersten beiden Feldversuchen Genotypen getestet, die sich später aufgrund der Vielzahl an interessanten Linien als für weitere Untersuchungen wenig geeignet erwiesen. Letzteres betraf in hohem Maße, insbesondere im ersten Feldversuch (1997/98), solche Genotypen der *B. napus*-*B. juncea*-Linien, auf die in Kapitel 3.1.4 nicht eingegangen wurde. Deshalb wurde auch hier auf diese Daten verzichtet. Desweiteren wurde deutlich, daß die Streuinokulation (Feldversuch 1998/99 und 2000/01, Abb. 3.13l & großes Bild in m) der im Feldversuch 1997/98 praktizierten Sprüheinokulation überlegen ist (Daten nicht im einzelnen gezeigt, kurze Zusammenfassung für einige Genotypen in Tab. 3.17). Sie bewirkte eine Erhöhung der Trennschärfe zwischen (aufspaltend-)resistenten - z. B. Mischparzelle aus  $BC_3S_2$  9.10-18-... (Abb. 3.13x) und  $BC_3S_2$  9.10-9-...,  $BC_3S_1$  13.4-... und  $BC_3S_1DHS_4$  8/10-28-... - und anfälligen Linien - z. B.  $BC_3S_1$  31.2-... (die beiden Bilder links in Abb. 3.13z), *B. napus* „Madora“ und *B. napus* „Liropa“ - hinsichtlich des Verhaltens der adulten Pflanze (Tab. 3.17 & 3.18). Lediglich die Pflanzen der außerordentlich anfälligen Rapssorte „Lesira“ waren bei beiden Inokulationsmethoden nahezu vollständig abgestorben (Abb. 3.13n/rechts, r & w). Auch zeigten die Versuche mit Streuinokulation eine deutlichere und konstantere Symptomatik an Kotyledonen (Abb. 3.13m) und Blättern (Abb. 3.13p). Die drei Feldversuche verdeutlichten die Vielzahl der einwirkenden

biotischen (natürliche Infektionen mit Pathogenen der Gattungen *Sclerotinia*, *Verticillium* und *Xanthomonas*; Befall durch Schädlinge: u.a. *Ceuthorrhynchus* spp., *Meligethes aeneus*; Abb. 3.13z) und abiotischen Faktoren (u. a. Witterung zum Zeitpunkt der Freisetzung der Pycnidiosporen, Härte des Winters - Abb. 3.13o -, Düngung). Ihr Einfluß auf die Erfassung des Resistenzverhaltens der Pflanze gegenüber *L. maculans* wird im Abschnitt 4.1.1.2 diskutiert.

Die im Tabellenanhang III dokumentierten Ergebnisse des Feldversuchs 2000/2001 zeigen die mehrfache Datenaufnahme während der Vegetationsperiode und die Erfassung des Adult-Resistenzverhaltens auf Einzelpflanzenebene durch eine äußere und eine innere Bonitur (Tab. 2.6, Kap. 2.2.3.2.4, Abb. 3.13s). In Tabelle 3.17 sind die Ergebnisse auszugsweise dargestellt. Sie zeigen signifikante Unterschiede zwischen den getesteten Genotypen. Dies wurde mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests unter ausschließlicher Berücksichtigung der Verteilung der Außenboniturnoten der Einzelpflanzen ermittelt. Nicht aufgegangene Samen und Pflanzen, die zum Boniturzeitpunkt nicht mehr vorhanden waren, blieben unberücksichtigt. Zur Feststellung signifikanter Abweichungen im Resistenzverhalten zwischen zwei Linien wurden alle Genotypkombinationen im Mann-Whitney-Test (U-Test) geprüft (Tab. 3.18).

Die Sommergenotypen (Aussaat und Inokulation im Frühjahr 2001) - die *B. napus*-*C. monensis*-Linien, die drei Resistenzdonorarten, *B. napus* „Loras“ und die Kontrollgenotypen NPZ I und II - wiesen nur geringe Schädigungen auf. Aufgrund des relativ hohen „Resistenzgrads“ und des weitgehenden Fehlens abgestorbener Pflanzen bei *B. napus* „Loras“ (Tab. 3.17; Abb. 3.13t, oben) sowie NPZ I und II (Daten nicht gezeigt) - drei in Gewächshaustests stark anfällige Genotypen - wurde der „Sommerversuch“ als nur bedingt auswertbar eingeschätzt. Deshalb wurde auf eine Darstellung der Ergebnisse der *B. napus*-*C. monensis*-Linien (Parzelle in Abb. 3.13u) in Tabelle 3.17 verzichtet. Letztere unterschieden sich zwar deutlich, jedoch - aus der Sicht des Auswerters - nicht hinreichend von den eigentlich anfälligen Kontrollen. Auffällig waren aber Parallelen zu den Gewächshaustests hinsichtlich der Spaltungsverhältnisse in adultresistente und -anfällige Pflanzen, so bei *C. monensis* (Abb. 3.13t, unten) und bei den Selbstungsnachkommen der BC<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\* 16/1-3-27.18 (Abb. 3.13v). Letztere zeichneten sich durch eine hohe Fertilität, aber Heterogenität, die Größe betreffend, aus; auch blühten die Pflanzen deutlich uneinheitlich (Abb. 3.13u).

Anders ist die Situation beim Wintermaterial zu bewerten. In der *B. napus*-*B. juncea*-Gruppe zeigte sich das hohe Resistenzniveau im Feld bei DH-Linien wie BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>4</sub> 8/10-28-... (Tab. 3.17), die gegenüber dem Isolat W4 im Gewächshaus lediglich als moderat beschrieben wurden (Kap. 3.1.4). Von besonderem Interesse ist das Verhalten der Selbstungsnachkommen der dihaploiden Pflanze BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>2</sub> 7/10-6. Diese Nachkommenschaft (bzw. Vorgänger- und Schwesternachkommenschaften) zeigte in den aufeinanderfolgenden Feldversuchen stets das gleiche Verhalten (Tab. 3.17). Von den zunächst gut aufgehenden Keimpflanzen (Feldversuch 2000/01: 254 von 280 ausgelegten Samen) starben schon vor Wintereintritt die meisten ab. Die geringe Zahl (13) der im Frühjahr noch vorhandenen Pflanzen ist daher zu weiten Teilen nicht auf Auswinterung zurückzuführen. Zudem war der Winter 2000/01 durch relativ wenige Kahlfröste und oft geschlossene Schneedecken gekennzeichnet (Abb. 3.13o, im Vordergrund markieren Stöcke die wenigen überlebenden Pflanzen der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>3</sub> 7/10-6-...). Diese 13 Pflanzen waren dann auch noch zum Zeitpunkt der Adultbonitur vorhanden. Unter Berücksichtigung des bereits

**Tab. 3.17** Ergebnisse des Feldversuchs 2000/2001 (Auswahl) und Vergleich mit den Feldversuchen 1997/1998 und 1998/1999. Neben einer Parzellenbonitur (optischer Eindruck der Gesamtparzelle: 1 = gut, 2 = mittel, 3 = schlecht) sind die Außen-Boniturnoten der Einzelpflanzen aufgeführt, die zum Boniturzeitpunkt noch existierten (Boniturskala wie in Tab. 2.6). Darüber hinaus ist die Gesamtzahl der noch existierenden Pflanzen ( $\Sigma$ ), die Differenz (fehl.) dieser zu den aufgegangenen Pflanzen ( $\Sigma_{\text{aufg.}}$ ) sowie die Gesamtzahl der ausgelegten Samen ( $\Sigma_{\text{Soll}}$ ) vermerkt. Die dargelegte Rangfolge der 19 Linien ergibt sich aus den vergebenen mittleren Rängen im Kruskal-Wallis-Test. Waren die gleichen Genotypen an den vorangegangenen Feldversuchen beteiligt, so wurde ihr dortiges Resistenzverhalten kurz mit dem im Feldversuch 2000/2001 verglichen: j = ähnliches Resistenzverhalten, n = Resistenzverhalten dort nicht bestätigt, n.t. = nicht teilgenommen. \* = anfälliger, \*\* = bestätigt an Vorgänger- und Schwestergenotypen.

	Linie bzw. Kontrollgenotyp	Parzellenbonitur (1-3)	Pflanzenanzahl Feldversuch 2000/01						$\Sigma$	fehl.	$\Sigma_{\text{aufg.}}$	$\Sigma_{\text{Soll}}$	Rangfolge Feld- versuch 2000/01 (mittl. Rang)	bestätigt durch vorherige Feldver- suche	
			Adult-Boniturnote (Einzelpflanze, außen)											1997/98	1998/99
			$\leq 2$	3	4	5	6								
<i>B. napus</i> - <i>S. arvensis</i> -Gruppe	1. BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 9.10-...	2	0	8	50	39	26	123	53	176	336	13 (1758,68)	n.t.	j	
	2. BC <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 9.10-18-/9-...	1	0	55	41	6	25	127	60	187	280	3 (1213,91)	n.t.	n.t.	
	3. BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 13.6-...	1	0	47	51	26	38	162	82	244	280	9 (1476,06)	n.t.	j	
	4. BC <sub>3</sub> S <sub>2</sub> 13.6-5-/7-/11-...	1	0	27	71	31	33	162	46	208	280	10 (1557,69)	n.t.	n.t.	
	5. BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 18.10-...	1	0	6	64	43	44	157	43	200	280	16 (1838,18)	n.t.	j	
	6. BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 13.4-...	1	0	46	58	21	33	158	88	246	280	7 (1416,20)	n.t.	n.t.	
	7. BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> 31.2-...	1	0	9	55	52	62	178	38	216	280	17 (1939,76)	n.t.	j	
	8. <i>B. napus</i> „Ceres“ I	1	0	10	73	31	3	117	2	119	280	8 (1430,70)	n.t.	n*	
	9. <i>B. napus</i> „Ceres“ II	1	0	5	39	44	17	105	20	125	280	14 (1780,82)	n.t.	j	
	10. <i>B. napus</i> „Madora“	1	0	2	52	74	63	191	28	219	280	18 (2023,85)	n.t.	n.t.	
	11. <i>Sinapis arvensis</i>	1	22	72	53	10	0	157	13	170	280	2 (760,18)	n.t.	(j)	
<i>B. n.-B. juncea</i> -Gruppe	12. BC <sub>2</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 4/9-1-...	1	0	12	97	77	26	212	16	228	280	12 (1672,16)	j**	j	
	13. BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>4</sub> 8/10-28-...	1	0	72	78	20	30	200	17	217	280	4 (1245,70)	j**	(j)**	
	14. BC <sub>3</sub> S <sub>1</sub> DHS <sub>3</sub> 7/10-6-...	2	1	4	3	3	2	13	241	254	280	5 (1312,92)	j**	j**	
	15. <i>B. napus</i> „Liropa“	1	0	3	37	43	19	102	9	111	280	15 (1832,30)	j	j	
	16. <i>B. juncea</i>	1	88	197	35	5	7	332	7	339	280	1 (492,34)	n.t.	(j)	
Kontrollen	17. <i>B. napus</i> „Lesira“	3	0	3	9	11	114	137	82	219	280	19 (2477,66)	j	j	
	18. <i>B. napus</i> „Jet Neuf“	1	0	13	42	37	16	108	12	120	280	11 (1639,77)	j	j	
	19. <i>B. napus</i> „Loras“	2	4	47	78	74	5	208	3	211	280	6 (1365,50)	n.t.	j	

dargelegten starken Einflusses verschiedener biotischer und abiotischer Faktoren kann von

Adultresistenz bei Wintergenotypen in Feldversuchen mindestens bis zur Außenboniturnote 4 (im Gegensatz zu Tab. 2.6) ausgegangen werden. Folglich reagierte die Mehrzahl der wenigen, noch verbliebenen Pflanzen der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>3</sub> 7/10-6-... adultresistent. Diese resistenten Pflanzen waren zumeist klein (30-40 cm) oder sehr klein (10-15 cm); hingegen prägten die normal großen Pflanzen (≥ 1,50 m) dieses Genotyps tendenziell eher den adultanfälligen Phänotyp aus (Abb. 3.13y). Dieser Größenpolymorphismus und das nicht pathogenbedingte Absterben großer Teile der Keimpflanzen, unter kontrollierten Bedingungen nie beobachtet, sind auffallende Charakteristika dieses Genotyps in den Feldversuchen.

Erwähnenswert ist auch die lediglich moderate Anfälligkeit der Selbstungsnachkommen der DH-Pflanze BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>2</sub> 4/9-1 (Tab. 3.17, Abb. 3.13l). Dieser Genotyp, im Feld durch auffällig gezackte Blätter gekennzeichnet, wies in Tests mit Doppelinokulation im Gewächshaus stets eine ähnlich hohe Adultanfälligkeit wie *B. napus* „Lesira“ auf.

**Tab. 3.18** Ergebnisse des Feldversuchs 2000/2001 (Auswahl). Vergleich von jeweils zwei Genotypen mittels des Mann-Whitney-Tests (U-Test). Die Bezeichnung der Linien entspricht Tabelle 3.17. s = signifikante Unterschiede im Resistenzverhalten, n = Unterschiede nicht signifikant. α = 0,05.

Linie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1		s	s	s	n	s	s	s	n	s	s	n	s	n	n	s	s	n	s
2	s		s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	n	s	s	s	s	n	n
3	s	s		n	s	n	s	n	s	s	s	s	s	n	s	s	s	n	n
4	s	s	n		s	n	s	n	s	s	s	n	s	n	s	s	s	n	s
5	n	s	s	s		s	n	s	n	s	s	s	s	s	n	s	s	s	s
6	s	s	n	n	s		s	n	s	s	s	s	s	n	s	s	s	s	s
7	s	s	s	s	n	s		s	s	n	s	s	s	s	n	s	s	s	s
8	s	s	n	n	s	n	s		s	s	s	s	s	n	s	s	s	s	n
9	n	s	s	s	n	s	s	s		s	s	n	s	n	n	s	s	n	s
10	s	s	s	s	s	s	n	s	s		s	s	s	s	s	s	s	s	s
11	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s		s	s	s	s	s	s	s	s
12	n	s	s	n	s	s	s	s	n	s	s		s	n	s	s	s	n	s
13	s	n	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s		n	s	s	s	s	s
14	n	n	n	n	s	n	s	n	n	s	s	n	n		s	s	s	n	n
15	n	s	s	s	n	s	n	s	n	s	s	s	s	s		s	s	s	s
16	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s		s	s	s
17	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s		s	s
18	n	s	n	n	s	s	s	s	n	s	s	n	s	n	s	s	s		s
19	s	s	n	s	s	s	s	n	s	s	s	s	s	n	s	s	s	s	

Bei den *B. napus*-*S. arvensis*-Linien läßt sich zusammenfassend feststellen: Genotypen, die im Gewächshaus aufspaltende Resistenzen zeigten bzw. deren Eltern genotypen über Adultresistenz verfügten, zeichneten sich auch unter Feldbedingungen durch ein hohes (BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub> 9.10-18-/9-...) bzw. mindestens moderates (u. a. BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 13.6-..., BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub> 13.6-5-/7-/11-..., BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 13.4-...)

Resistenzniveau aus. Dieses war signifikant erhöht gegenüber stark anfälligen Genotypen (*B. napus* „Lesira“, *B. napus* „Madora“, BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 31.2-...). Gegenüber den lediglich moderat anfälligen Rapsorten „Ceres“ (zwei Parzellen im Feldversuch 2000/01, signifikante Unterschiede zwischen diesen) und „Jet Neuf“ war diese Signifikanz jedoch nur bei der BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub> 9.10-18-/9-... feststellbar.

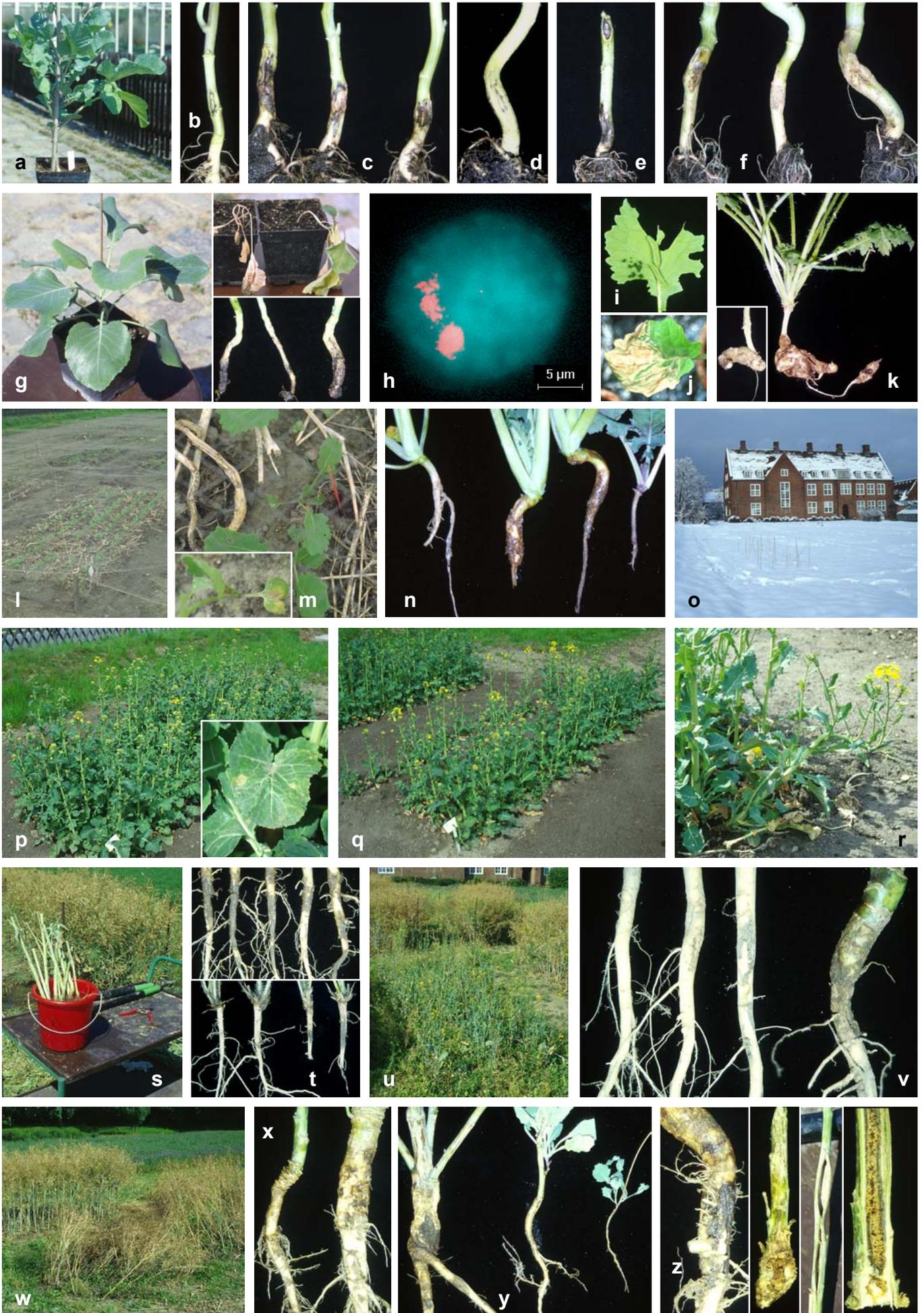
Die BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 18.10-... schnitt deutlich schlechter als unter Gewächshausbedingungen ab. Auffällig ist auch das signifikant schlechtere Abschneiden der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 9.10-... gegenüber den Tochtergenerationen BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub> 9.10-18-/9-... Im Falle der unmittelbaren Selbstungsgeneration der BC<sub>3</sub> 9.10 bildete sich aufgrund des schlechten Aufgehens der Saat trotz einer zuviel ausgelegten Reihe ein lückenhafter Bestand. Diese Situation wurde durch Verluste während der Vegetationsperiode (normales Absterben anfälliger Genotypen, Auswinterung) noch verstärkt (Abb. 3.13q). Diese Verluste zwischen dem Aufgehen der Saat im Frühherbst und dem Boniturzeitpunkt im darauffolgenden Sommer waren bei den *B. napus*-*S. arvensis*-Linien größer als bei den *B. napus*-*B. juncea*-Linien (Tab. 3.17). Bei letzteren muß man jedoch vom oben erwähnten Sonderfall der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>3</sub> 7/10-6-... absehen.

Ein Zusammenhang zwischen Kotyledonen- bzw. Blattresistenz auf der einen und Adultresistenz auf der anderen Seite konnte auch in den Feldversuchen nicht festgestellt werden. So zeigten z. B. die Selbstungsnachkommen der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 9.10-18 (Elternpflanze: S<sub>C</sub>/R<sub>A</sub>) in der Mischparzelle BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub> 9.10-18-/9-... (Nachkommenschaften im Gewächshaus nicht getestet) z. T. schon vor (!) der Inokulation deutliche Kotyledonensymptome (Abb. 3.13m) an vielen Pflanzen. Diese Genotypen trugen dann trotz des spaltenden Anteils anfälliger Pflanzen zum höchsten Niveau an Adultresistenz aller Rückkreuzungslinien bei (Abb. 3.13x).

### 3.3 Schlußbemerkungen zu den Resistenztests

Im Promotionszeitraum wurden mehr als 10000 Pflanzen auf ihre Resistenzeigenschaften hin getestet. Hierbei sind die in Feldversuchen untersuchten Pflanzen nicht mitgezählt. Die meisten Prüfungen fanden in Tests mit Doppelinokulation statt. Die phytopathologischen Untersuchungen umfaßten neben den Rückkreuzungsnachkommenschaften die jeweiligen Resistenzdonoren und Rapseltern sowie weitere Kontrollgenotypen (u. a. *B. napus* cvs. „Lesira“, „Jet Neuf“, „Lirabon“, „Quinta“, „Glacier“, *B. nigra*, *B. carinata*).

In der Frühphase der Arbeiten wurde der Test mit Doppelinokulation im Gewächshaus als Methode der Wahl zur genauen und vergleichenden Einschätzung des Resistenzniveaus im Kotyledonen- und im Adultstadium der Pflanze entwickelt und optimiert (siehe Kap. 3.1.4.1). Mehrfach zeigte sich die Relevanz der jeweiligen Inokulationszeitpunkte und die Bedeutung einer konstant hohen Luftfeuchtigkeit im Zeitraum kurz vor und kurz nach der Kotyledoneninokulation; letzteres betraf insbesondere die Inokulation mit dem Isolat M1 (siehe auch Kap. 4.1.1.1 & 4.1.3).



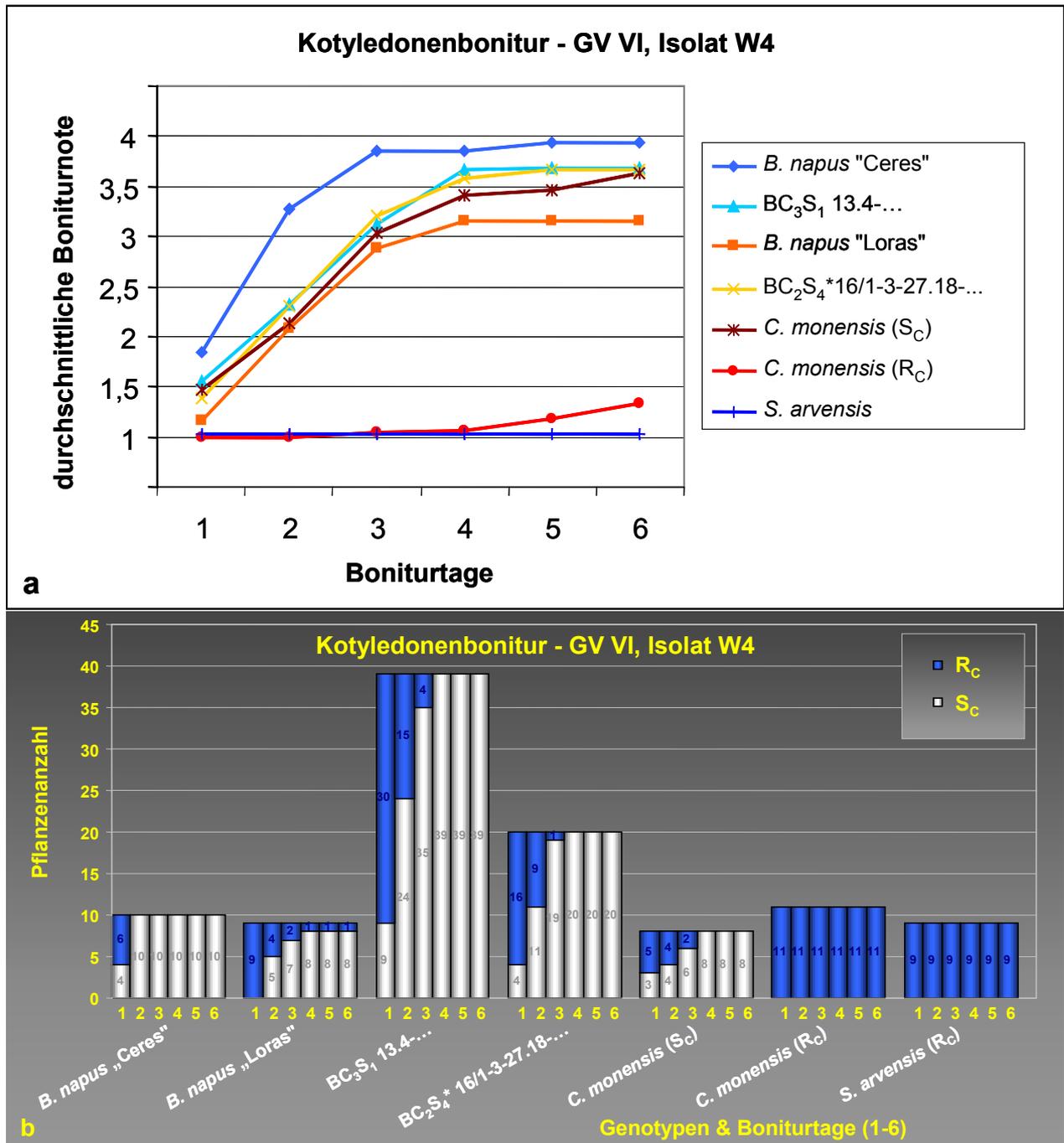
**Abb. 3.13** (S. 104) Verhalten weiterer Genotypen in Tests mit Doppelinokulation (**a-g**) und als Sonde in Genomischer *in situ*-Hybridisierung (**h**), Präsenz sonstiger Schädlinge und Krankheitserreger in Resistenztests (**i-k**) sowie Charakterisierung ausgewählter Genotypen in Feldversuchen (**l-z**). (**a**) Habitus von *B. carinata* (Gött.). (**b**) Adultresistenz von *B. carinata* (Gat. II) nach Inokulation mit dem Isolat W4 (Außenboniturnote: 1,5). (**c**) Adultanfälligkeit von *B. carinata* (Gat. I) gegenüber dem Isolat M1; Außenboniturnoten: 4,5 (links) und 4 (Mitte und rechts). (**d**) Adultresistenz von *B. nigra* nach Inokulation mit W4 (Außenboniturnote: 1,5). (**e**) Adultanfälligkeit von *B. nigra* nach Inokulation mit M1; Boniturnoten außen/innen: 4,5/5. (**f**) Moderate Adultanfälligkeit bei *B. napus* „Jet Neuf“ (Isolat W4), die mittlere Pflanze wurde als resistent klassifiziert. (**g**) *B. cretica*: Habitus im vegetativen Zustand (links) sowie starke Adultanfälligkeit gegenüber den Isolaten M1 (oben rechts) und W4 (unten rechts). (**h**) Interphase von *B. napus* „Loras“ zeigt nach GISH (siehe auch Abb. 3.1) mit *B. cretica*-Sonde (*blocking*-DNA: *B. juncea*) lediglich ca. drei Signale (vermutlich an C-Genom-Chromosomen). (**i**) Fraßschäden durch Raupen des Großen Kohlweißlings (*Pieris brassicae* L.) in GV IX. (**j**) Symptome an jungen Primärblättern der Selbstungsnachkommenschaft der BC<sub>3</sub> 9.10 aus der Kreuzung *B. napus* x *S. arvensis*, die auf Befall mit *Xanthomonas* spp. hindeuten (Adulttest an kotyledoneninokulierten Pflanzen, Klimakammer). (**k**) Befall von Pflanzen eines Tisches im Gewächshaus (GV IX) durch *Plasmodiophora brassicae*, hier an *C. monensis* „95“ (großes Bild) und einem Selbstungsnachkommen der BC<sub>3</sub> 9.10. (**l-x, z**) Feldversuch 2000/01. (**l**) Zustand nach Streuinokulation (Isolat W4) der Jungpflanzen der Wintergenotypen im 3-5-Blatt-Stadium, im Vordergrund Selbstungsnachkommenschaft der BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>2</sub> 4/9-1 (Ende September 2000, ca. vier Wochen nach Aussaat). Die Parzellen wurden unmittelbar nach der Aussaat mit Netzen überspannt, die als Schutz vor Vogelfraß dienten. (**m**) Mit einem roten Schild (großes Bild) markierte Pflanze der Selbstungsnachkommenschaft der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 9.10-18 mit Kotyledonensymptomen nach Streuinokulation (Anfang Oktober 2000). Andere Pflanze des gleichen Genotyps mit Symptomen bereits vor der Streuinokulation (kleines Bild, September 2000). (**n**) Resistenzverhalten (Stengelbasis) vor dem Winter (Ende Oktober 2000): keine Symptome an Selbstungsnachkommen der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>3</sub> 8/1-7 (links), während zwei Pflanzen der BC<sub>3</sub>S<sub>2</sub> 13.4-2-... (die beiden Pflanzen in der Mitte) und ein Individuum von *B. napus* „Lesira“ (rechts) bereits fast abgestorben sind. (**o**) Zustand des Feldversuchs im Februar 2001. Die Stöcke im Vordergrund markieren die wenigen, zu diesem Zeitpunkt noch verbliebenen Pflanzen der Selbstungsnachkommenschaft der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>2</sub> 7/10-6. (**p**) Blattsymptome (kleines Bild) an den frühblühenden Selbstungsnachkommen der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 13.4-2 (April 2001). (**q**) Ausgedünnter Bestand der ebenfalls frühblühenden BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 9.10-... (April 2001), später *Xanthomonas*-Symptome an Blättern. (**r**) Aufgrund *L. maculans*-Befalls bereits Ende April 2001 umgeknickte Pflanze des frühestblühenden Wintergenotyps *B. napus* „Lesira“. (**s-x, z**) Adultbonitur Mitte Juli 2001. (**s**) Boniturwerkzeuge. (**t-v**) Sommergenotypen. (**t**) Zumeist Adultanfälligkeit, jedoch kaum tote Pflanzen bei *B. napus* „Loras“ (oberes Bild), Adultresistenz (die beiden Pflanzen links) und -anfälligkeit (die beiden Pflanzen rechts) beim Resistenzdonor *C. monensis* (unteres Bild). (**u**) Parzelle der *B. napus*-*C. monensis*-Linien. Jede der fünf Reihen (nicht einzeln erkennbar) repräsentiert eine andere Selbstungsnachkommenschaft. Man beachte die gegenüber den Vergleichsparzellen (Hintergrund und rechts) deutlich geringere Größe, die noch dazu innerhalb der jeweiligen Genotypen erheblich schwankt. Darüber hinaus treten auch deutliche Differenzen zwischen den einzelnen Individuen hinsichtlich Blühzeitpunkt und Fertilität auf. (**v**) Adultresistenz (die drei Pflanzen links) und -anfälligkeit (die Pflanze rechts) in der Selbstungsnachkommenschaft der BC<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\* 16/1-3-27.18, die sich durch gute Fertilität, aber Heterogenität, die Größe betreffend, auszeichnet. (**w**) Starke Adultanfälligkeit bei *B. napus* „Lesira“. Die Parzelle im Vordergrund besteht nahezu vollständig aus toten Pflanzen. Im Hintergrund ist die Parzelle der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 13.4-... zu sehen, die im Gegensatz zu *B. napus* „Lesira“ auch viele resistente Pflanzen umfaßt. (**x**) Adultresistenz zweier Selbstungsnachkommen der BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 9.10-18 (beste Resistenz der *B. napus*-*S. arvensis*-Linien im Feldversuch 2000/01). (**y**) Größen- und Resistenzpolymorphismus in der Selbstungsnachkommenschaft der dihaploiden Pflanze BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>1</sub> 7/10 (*B. napus*-*B. juncea*-Linie) im Feldversuch 1998/99. Die Pflanze links ist vier- bis fünfmal größer als die mittlere, resistente Pflanze und zeigt deutliche Adultsymptome nach Befall durch *L. maculans*. Die resistente Pflanze rechts im Bild verdeutlicht die dritte Größenstufe der kleinsten Pflanzen. (**z**) Typische Symptome adultanfälliger Pflanzen im Wurzelhalsbereich (Bild links) und an der Stengelbasis (zweites Bild von links; jeweils BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 31.2-...), oft einhergehend mit Insektenschäden: aufgetriebene Stengelpartien (zweites Bild von rechts) und Fraßgänge im Stengel (Bild rechts; jeweils *B. napus* „Ceres“).

Daneben wurden weitere Tests zur Einschätzung des Resistenzniveaus der adulten Pflanze (Adulttest an kotyledoneninokulierten Pflanzen, Stengelbasistest) und Versuche in verschiedenen Umwelten (Klimakammer, Gewächshaus, Feld) in die Studien einbezogen. Gegenüber den anderen Adulttests konnte bei Tests mit Doppelinokulation eine verstärkte Symptomausprägung sowohl bei anfälligen (siehe *B. napus* „Liropa“ in Tab. 3.11 und *B. napus* „Lesira“ in Tab. 3.16) als auch bei Genotypen mit moderater Anfälligkeit (*B. napus* „Ceres“ in Tab. 3.7 und *B. napus* „Jet Neuf“ in Tab. 3.16) beobachtet werden. Ähnliches war auch bei den meisten Rückkreuzungslinien der Fall. So zeigten z. B. die BC<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\* 16/1-3-27-... (Tab. 3.2), die BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub> 9.10-... (Tab. 3.7) und die BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub>DHS<sub>3</sub> 4/9-1-... (Tab. 3.11) nach Inokulation mit dem Isolat W4 in Tests mit Doppelinokulation ein engeres R<sub>A</sub>:S<sub>A</sub>-Verhältnis als in anderen Adulttests.

Kotyledonentests dienten, zumeist als Bestandteil der Tests mit Doppelinokulation, der Ermittlung des Resistenzniveaus im Keimlingsstadium. Die Bedeutung einer mehrfachen Kotyledonenbonitur (Kap. 2.2.3.1) zur Erfassung der maximalen Symptomatik verdeutlicht Abbildung 3.14. In der Regel waren zur optimalen Einschätzung des Resistenzniveaus mindestens vier Bonituren, möglichst im Abstand von zwei Tagen, erforderlich. Auf die frühen Bonituren konnte aufgrund der unterschiedlich einsetzenden Seneszenz der Kotyledonen der verschiedenen Genotypen nicht verzichtet werden; abgefallene Keimblätter waren zumeist nicht mehr auswertbar. Eine gute Symptomausprägung an den Kotyledonen war stets unabdingbar für den Erfolg des Tests mit Doppelinokulation. Blieben die erwarteten Läsionen an den Kotyledonen anfälliger Kontrollgenotypen aus, wie es im Zusammenhang mit der unerwünschten Applikation von Pflanzenschutzmitteln (oftmals von Insektiziden!) in der Phase kurz nach der Kotyledoneninokulation zweimal passierte, so waren die jeweiligen Adultbonituren auch deutlich geringer (Daten nicht gezeigt). Die Ergebnisse dieser Versuche konnten nicht weiter verwendet werden. Von diesen Fällen muß jedoch das im Kapitel 3.1.3.4 beschriebene Phänomen der Temperaturabhängigkeit der Kotyledonenresistenz unterschieden werden. Dieses konnte im Rahmen der vorliegenden Arbeit für die Gruppe mit *S. arvensis* als Resistenzdonor gezeigt werden. Zudem beeinflusste gelegentlicher Befall durch tierische Schädlinge, wie z. B. durch Raupen des Großen Kohlweißlings (*Pieris brassicae* L., Abb. 3.13i), die Ausprägung der *L. maculans*-Adultsymptome negativ. Auch konnten - unfreiwillig - Anfälligkeiten bestimmter Genotypen gegenüber anderen Pathogenen festgestellt werden. So zeigten insbesondere Nachkommenschaften der BC<sub>3</sub> 9.10 (*B. napus*-*S. arvensis*-Linie) in Gewächshaus, Klimakammer (Abb. 3.13j) und Feld starke Blattsymptome, die auf Befall mit *Xanthomonas* spp. hindeuten. Die gleichen Nachkommenschaften umfaßten Pflanzen mit Anfälligkeit gegenüber dem Erreger der Kohlhernie, *Plasmodiophora brassicae* (Abb. 3.13k, kleines Bild). Auch an Vertretern von *C. monensis* wurden beachtliche Kohlhernie-Symptome (Pflanze aus *C. monensis* „95“ in Abb. 3.13k, großes Bild) gefunden.

Die Ergebnisse zeigen bei allen drei Resistenzgruppen, daß eine Kotyledonenanfälligkeit keine Rückschlüsse auf eine etwaige Adultanfälligkeit zuläßt (siehe z. B. jeweilige Ergebnisse von Linien mit 2n=38 und Adultresistenz). Im umgekehrten Falle erlaubt eine Kotyledonenresistenz ebenfalls keinen Schluß auf Adultresistenz (siehe Ausführungen zu *B. napus*-*C. monensis*- und *B. napus*-*S. arvensis*-Linien in den Kapiteln 3.1.2 & 3.1.3; Abb. 3.2 & 3.5). Ein gutes Beispiel dafür, daß die stets unterrepräsentierte Klasse mit der Kombination Kotyledonenresistenz/Adultanfälligkeit dennoch präsent ist, ist das Auftreten von Kotyledonenresistenz in der vollständig

adultanfälligen Selbstungsnachkommenschaft der BC<sub>3</sub> 16/1/2 (*B. napus*-*C. monensis*-Linie).



**Abb. 3.14** Einfluß aufeinanderfolgender Bonituren auf die Erfassung des Resistenzverhaltens auf Kotyledonenebene bei heterogenem Pflanzenmaterial in einem ausgewählten Versuch (GV VI; Aussaat: 23.11.00, Kotyledoneninokulation: 04.12.00). Im Mittelpunkt stehen fünf Genotypen, die keine Gene für Kotyledonenresistenz besitzen: *B. napus* „Ceres“, die Selbstungsnachkommenschaft der BC<sub>3</sub> 13.4 (siehe jeweils *B. napus*-*S. arvensis*-Linien), *B. napus* „Loras“, die Selbstungsnachkommenschaft der BC<sub>2</sub>S<sub>3</sub>\* 16/1-3-27.18 und der kotyledonenanfällige - S<sub>C</sub> - Teil der *C. monensis*-Population (siehe jeweils *B. napus*-*C. monensis*-Linien). Vergleichend werden zwei kotyledonenresistente Genotypen (*S. arvensis* und der kotyledonenresistente - R<sub>C</sub> - Teil der *C. monensis*-Population) betrachtet. Das genotypspezifische Normalverhalten wurde in mehreren anderen Versuchen ermittelt. Entwicklung der durchschnittlichen Boniturnote (a) und Klassifizierung in kotyledonenresistente und -anfällige Pflanzen aufgrund der Boniturnoten der Einzelpflanzen (b) in Abhängigkeit vom Abstand der Bonitur zum Inokulationszeitpunkt. Boniturstag 1: 14 Tage nach der Inokulation (14 dpi), 2: 16 dpi, 3: 18 dpi, 4: 21 dpi, 5: 23 dpi, 6: 25 dpi.