

## 5 Zusammenfassung

Zur Erschließung neuer Resistenzquellen für den Raps (*Brassica napus*) gegen seinen bedeutendsten pilzlichen Schaderreger, *Leptosphaeria maculans* (*Phoma lingam*), wurden Rückkreuzungsnachkommenschaften aus den Hybriden *B. napus* x *Coincya monensis* und *B. napus* x *Sinapis arvensis* sowie dihaploide (DH) *B. napus*-*B. juncea*-Linien (putative Rekombinationslinien) untersucht. Im Laufe des Projektes wurden aus aneuploiden, z. T. sterilen Individuen früher Rückkreuzungsgenerationen mit einem hohen Anteil an Fremdchromatin eine Vielzahl euploider, resistenter, fertiler Pflanzen mit Raps-Karyotyp ( $2n=38$ ) und Raps-Habitus entwickelt. Dieser Fortschritt wird bei den *B. napus*-*C. monensis*-Linien besonders anschaulich.

Das Resistenzverhalten des Pflanzenmaterials wurde in verschiedenen Umwelten (Gewächshaus, Klimakammer, Feld) und Entwicklungsstadien sowie gegenüber zwei aggressiven ( $Tox^+$ ) Isolaten des Pilzes, W4 aus Deutschland und M1 aus Australien, geprüft. Vom Isolat M1 war bekannt, daß es die Resistenz der *Brassica*-Arten mit dem B-Genom durchbricht. Beide hier verwendeten Isolate konnten aufgrund ihrer kompatiblen Interaktion mit Differentialrapsorten in Kotyledonentests der Pathogenitätsgruppe (PG) der aggressivsten Isolate, PG 4, zugeordnet werden.

Als Methode der Wahl zur genauen und vergleichenden Einschätzung des Resistenzniveaus im Kotyledonen- und im Adultstadium der Pflanze wurde der Test mit Doppelinokulation für das Gewächshaus entwickelt und optimiert. Hierbei erfolgt zunächst eine Inokulation an den Keimblättern, später zusätzlich an der Stengelbasis. Dieser ist allen anderen Untersuchungen an der adulten Pflanze (Adulttest an kotyledoneninokulierten Pflanzen, Stengelbasistest, Feldversuch) hinsichtlich seiner Trennschärfe zwischen resistenten und anfälligen Individuen überlegen und bewirkte eine verstärkte Symptomausprägung bei anfälligen oder nur moderat-resistenten Genotypen. Durch diesen Test werden umweltabhängige Schwankungen in der Symptomausprägung weitgehend nivelliert. Er ist daher für Studien zur Genetik der Resistenz besonders geeignet.

Die Genomische *in situ*-Hybridisierung (GISH) ist eine geeignete Methode zur Detektion von Fremdchromatin in interspezifischen Hybriden und davon abgeleiteten Rückkreuzungsnachkommen, obwohl mögliche Einschränkungen bei der Gattung *Brassica* und bei verwandten Gattungen - bei geringer Größe der Introgressionen und/oder Lokalisierung in den distalen Bereichen der Chromosomenarme - beachtet werden müssen. Mit Hilfe von GISH konnten in den *B. napus*-*S. arvensis*- und *B. napus*-*C. monensis*-Linien monosome und doppelt monosome Additionslinien identifiziert werden. Die Präsenz eines acrocentrischen Additionschromosoms von *S. arvensis* war stets mit Adultresistenz der Pflanze verbunden. GISH-Untersuchungen an meiotischen Zellen gaben Hinweise auf eine Paarung dieses Chromosoms mit Rapschromosomen (allosyndetische Paarung). Dieses wahrscheinlich resistenzrelevante Additionschromosom zeichnete sich ferner durch eine hohe Transmissionsrate aus. Darüber hinaus wurden in beiden Gruppen resistente Individuen mit Raps-Karyotyp ( $2n=38$ ) aber ohne GISH-Signale gefunden (putative Rekombinationslinien). Die in einigen Pflanzen detektierten kleinen Signale dürften eher auf Artefakten als auf Introgressionen beruhen. Gleiches gilt für die *B. napus*-*B. juncea*-Linien, bei denen adultresistente DH-Pflanzen mit  $2n=38$  bereits am Anfang der Untersuchungen standen. Die zunehmende cytologische Stabilität in sukzessiven Generationen der *B. napus*-*C. monensis*- und *B. napus*-*S. arvensis*-Linien konnte anhand der Abnahme von Mixoploidien und irregulären Meiosen

demonstriert werden. Diese Abnahmen korrespondieren mit der Extrachromatinreduktion.

Adultresistenz in den *B. napus*-*C. monensis*- und *B. napus*-*S. arvensis*-Linien wird in größerem Maße vererbt als Kotyledonenresistenz, beide beruhen auf unterschiedlichen Genen. Kotyledonenresistenz/-anfälligkeit ist somit kein geeigneter Indikator für Adultresistenz/-anfälligkeit.

Erbanganalysen am Resistenzdonor *C. monensis* (Kotyledonenresistenz) bzw. den *B. napus*-*C. monensis*-Rückkreuzungsnachkommen (Adultresistenz) zeigten, daß jeweils zwei Gene an der Ausprägung der Resistenzen beteiligt sind. Am Ende der Untersuchungen konnten *B. napus*-*C. monensis*-Linien mit monogen-dominanter Adultresistenz identifiziert werden.

In der Gruppe mit Resistenzen aus *S. arvensis* wird Adultresistenz wahrscheinlich ebenfalls oligogen vererbt. Studien zur Resistenzgenetik dieser Gruppe wurden jedoch durch die lediglich moderate Adultanfälligkeit des Rückkreuzungselters, *B. napus* „Ceres“, erschwert. Diese Rapsorte leitet sich von der Sorte „Jet Neuf“ ab, die sich durch eine moderate, partielle und polygen bedingte Adultresistenz auszeichnet. Die *B. napus*-*S. arvensis*-Linien dürften andererseits von besonderem praktischen Wert sein. Sie vereinen in sich die mono- bzw. oligogene, vertikale Resistenz der Wildart mit der polygenen, horizontalen Resistenz des Rapses gemäß dem modernen Züchtungskonzept der Pyramidisierung von Resistenzgenen. Inwieweit die Kotyledonenresistenz in den *B. napus*-*S. arvensis*-Linien auf dem erwarteten mono- oder oligogenen Erbgang beruht, konnte nicht geklärt werden. Hierzu trug die festgestellte Temperaturabhängigkeit dieser Resistenz bei. Während die Kotyledonenresistenz einiger Linien gegenüber dem Isolat W4 mit steigenden Temperaturen verloren ging, war die Situation im Falle von M1 umgekehrt.

Die vergleichende Analyse der Virulenz der Isolate W4 und M1 erbrachte für die *B. napus*-*C. monensis*- bzw. *B. napus*-*S. arvensis*-Nachkommenschaften keine wesentlichen Unterschiede in der Resistenz der adulten Pflanze. Anders war die Situation bei den *B. napus*-*B. juncea*-Linien. Diese gegenüber beiden Isolaten kotyledonenanfälligen Linien zeigten nach W4-Inokulation den erwarteten monogen-dominanten Erbgang für Adultresistenz. Zu den überraschendsten Ergebnissen zählte demgegenüber die Adultresistenz verschiedener *B. napus*-*B. juncea*-DH-Linien gegenüber dem Isolat M1 trotz zweier anfälliger Eltern der Originalkreuzung (*B. napus* „Liropa“, *B. juncea*). Zur Klärung der zugrundeliegenden Resistenzgenetik erfolgten Untersuchungen an Nachkommenschaften aus Kreuzungen zwischen resistenten und anfälligen DH-Pflanzen (DH-F<sub>1</sub>) sowie aus interspezifischen Kreuzungen aus DH-F<sub>1</sub>-Pflanzen und *B. juncea*. Die Ergebnisse zeigten, daß die monogene Vererbung durch ein epistatisches Gen modifiziert wird.

An Selbstungsnachkommen aneuploider (eine *B. napus*-*C. monensis*-Linie) und putativ rekombinanter Pflanzen mit  $2n=38$  (eine *B. napus*-*C. monensis*- und eine *B. napus*-*S. arvensis*-Linie) wurde mittels *bulk segregant analysis* versucht, RAPD-PCR-Marker für Adultresistenz zu finden. Diese Suche blieb erfolglos. Dafür dürften die mangelnde Reproduzierbarkeit dieser Technik, die weiträumige Verteilung der RAPD-Marker in den Genomen, ein zu geringer Stichprobenumfang getesteter Primer und genetische Gründe (z. T. mehr als ein Resistenzgen) verantwortlich sein.

Die Adultresistenzen aus *S. arvensis* und *C. monensis* sind als wertvolle Alternativen zu bisherigen kommerziellen und wissenschaftlichen Resistenzquellen (*B. napus* „Jet Neuf“, *Brassica*-B-Genom) anzusehen, wie das Interesse von Pflanzenzüchtungsunternehmen zeigt. Aufgrund der politisch bedingten Limitierung des Anbaus transgener Pflanzen in weiten Teilen der Welt dürfte die Bedeutung interspezifischer Hybridisierungen für die Pflanzenzüchtung zunehmen.