

UNIVERSITÄT HOHENHEIM

Institut für Kulturpflanzenwissenschaften

Fachgebiet Nachwachsende Rohstoffe und Bioenergiepflanzen (340b)

Prof. Dr. agr. Martin Elsässer



Genetische Variabilität in frühen Generationen bei Artbastarden zwischen Deutschem Weidelgras und Wiesenschwingel

Master Thesis
eingereicht von

Tatjana Lunenberg

Hallbergmoos, Februar 2012

Betreuer:

Prof. Dr. agr. Martin Elsässer

Institut für Kulturpflanzenwissenschaften
Fachgebiet Nachwachsende Rohstoffe und Bioenergiepflanzen (340b)

2. Betreuer:

Dr. Ulrich Thumm

Institut für Kulturpflanzenwissenschaften
Fachgebiet Nachwachsende Rohstoffe und Bioenergiepflanzen (340b)

Abgabedatum: 28.02.2012

Inhalt

I	Abbildungsverzeichnis	
II	Tabellenverzeichnis	
III	Abkürzungsverzeichnis	
1.	Einleitung	1
2.	Literaturübersicht	3
2.1.	Allgemeine Informationen	3
2.2.	Intergenerische Hybridisierung mit <i>Lolium perenne</i>	6
2.2.1.	<i>Festuca pratensis</i>	6
2.2.2.	<i>Festuca arundinacea</i>	13
2.2.3.	<i>Festuca ovina</i>	14
2.2.4.	<i>Festuca rubra</i>	15
2.3.	Intergenerische Hybridisierung mit <i>Lolium multiflorum</i>	15
2.3.1.	<i>Festuca pratensis</i>	15
2.3.2.	<i>Festuca arundinacea</i>	18
2.4.	Weitere intergenerische Hybridisierungen	21
2.4.1.	<i>Lolium ssp. x Festuca glaucescens</i>	21
2.4.2.	<i>Festuca pratensis x Lolium rigidum sens. ampl.</i>	23
2.4.3.	<i>Festuca pratensis x Lolium temulentum</i>	23
2.4.4.	<i>Festuca pratensis x Lolium remotum</i>	23
2.4.5.	<i>Lolium loliaceum x Festuca pratensis</i>	23
2.4.6.	<i>Lolium loliaceum x Festuca arundinacea</i>	24
2.4.7.	<i>Lolium ssp. x F. capillata</i>	24
2.5.	Triploide Hybriden	24
2.6.	Zusammenfassung der Literaturrecherche	26
3.	Material und Methoden	28
3.1.	Versuchsstandorte	28
3.2.	Methodik der Kreuzungen	29
3.3.	Methodik der Bestimmung erfolgreicher Kreuzung	32
3.4.	Erhebung der Boniturnoten	34
3.5.	Statistische Auswertung	36
4.	Ergebnisse	38
4.1.	Genetische Untersuchungen	38
4.2.	Fertilität	38
4.2.1.	Kreuzung von Hand	38
4.2.2.	Männliche Fertilität	40
4.2.3.	Samenertrag	41
4.3.	Wuchsform	43
4.4.	Massenbildung	43
4.5.	Dichtigkeit	45
4.6.	Zeitpunkt Ährenschieben	46
4.7.	Krankheiten	47

5. Diskussion.....	48
5.1. Genetische Untersuchungen	48
5.2. Fertilität.....	49
5.2.1. Kreuzung von Hand.....	49
5.2.2. Männliche Fertilität.....	50
5.2.3. Samenertrag.....	51
5.3. Wuchsform.....	51
5.4. Massenbildung und Dichtigkeit	52
5.5. Zeitpunkt Ährenschieben	53
5.6. Krankheiten.....	54
6. Zusammenfassung und Schlussfolgerung	56
7. Literaturverzeichnis.....	61
8. Anhang.....	67
Eidesstattliche Erklärung.....	89
Danksagung.....	90

I Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Boniturskala Wuchsform (verändert nach BUNDESSORTENAMT, 2009)..	35
Abb. 2: Männliche Fertilität ausgewählter Kreuzungsprodukte aufgeteilt nach Pflanzungen (Kreuzungsjahren).....	41
Abb. 3: Samenertrag in g pro ausgewähltem Kreuzungsprodukte aufgeteilt nach Pflanzungen (Kreuzungsjahren).....	42
Abb. 4: Massenbildung. Rechts: Vergleich der Elternsorten. Links: Vergleich der Nachkommenschaften.	44
Abb. 5: Mittelwerte aller Bonituren "Massenbildung" (MB). Vergleich der Nachkommenschaften innerhalb eines Kreuzungsjahres.	45
Abb. 6: Dichtigkeit. Rechts: Vergleich der Elternsorten. Links: Vergleich der Nachkommenschaften.	46
Abb. 7: Schematische Darstellung der Backcross-Anlagen. Fp-Pflanzen stellen einen einzigen Genotyp dar, die vier unterschiedliche FEL-Genotypen bestäuben sollen (FEL1-FEL4).	58
Abb. 8: Übersicht der Pflanzungen am Standort "Labor"	74
Abb. 9: Übersicht der Pflanzungen am Standort "Pulling", Schlag Pulling 6	75
Abb. 10: Übersicht der Pflanzungen am Standort "Pulling", Schlag Schlüter 13/3	75
Abb. 11: Wuchsform am „Labor“ der Elternsorten und Nachkommenschaften	82
Abb. 12: Samenertrag (g/Pflanze) des Kreuzungserfolgs 2005 (Pflanzung Nr. 145a) am Standort „Labor“ als Oberflächendiagramm mit umgebenden Pflanzungen.	83
Abb. 13: Samenertrag (g/Pflanze) des Kreuzungserfolgs 2008 (Pflanzung 188a) am Standort „Labor“ als Oberflächendiagramm mit umgebenden Pflanzungen.	83
Abb. 14: Samenertrag (g/Pflanze) der F2-Pflanzungen 163 und 164 mit umgebenden Pflanzungen.	84
Abb. 15: Samenertrag (g/Pflanze) des Kreuzungserfolgs 2007 (links, Pflanzung Nr. 165) und des Kreuzungserfolgs 2009 (rechts, Pflanzung Nr. 187) am Standort "Pulling" als Oberflächendiagramm mit umgebenden Pflanzungen.	84
Abb. 16: Zeitpunkt Ährenschieben 2011. Vergleich der Elternsorten mit den Nachkommenschaften. Nur Werte des Standorts "Labor".	87
Abb. 17: Bonitur Rost: Vergleich der Nachkommenschaften an beiden Standorten. Pfeile stellen die jeweiligen Mutterpflanzen dar.	88
Abb. 18: Bonitur Blattflecken: Vergleich der Nachkommenschaften. Rote Kreuze markieren die wahren Mutterpflanzen.	88

Bild 1: Von rechts nach links: Körner in Desinfektionslösung, Überprüfung der Körner auf Embryonen, Embryonen auf Nährmedium nach 6 Tagen, Pflänzchen seit einem Tag in Licht (LUNENBERG, 2011)	31
Bild 2: Von links nach rechts: Blütenstand Deutsches Weidelgras, <i>Festulolium</i> , Wiesenschwingel (LFL, 2006; LUNENBERG, 2011; LFL, 2005).....	35
Bild 3: Pollen mit 20facher Vergrößerung. Vollständig dunkel gefärbter Pollen ist fertil. Links FEL45 aus Kreuzungsjahr 2005 (F1) steril, rechts Genotyp aus Sorte Preval (Fp) fertil.	40

II Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Bodendaten der Versuchsflächen in Freising und Pulling (UNTERSUCHUNGEN BAYERISCHE LANDESANSTALT FÜR WEINBAU UND GARTENBAU, 2005 und 2007; AMT FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND FORSTEN ERDING, 2011; FREISING, 2011; LFL, 2010).	28
Tab. 2: Boniturmerkmale mit Abkürzungen	34
Tab. 3: Bedeutung der Boniturnoten (verändert nach BUNDESSORTENAMT, 2000)	36
Tab. 4: Zusammenfassung aller bisher zugelassener <i>Festulolium</i> -Sorten zusammengestellt nach CERNOCH <i>et al.</i> , 2004 und ZWIERZYKOWSKI <i>et al.</i> , 2006.....	67
Tab. 5: Saatgutertrag verschiedener <i>Festulolium</i> -Sorten mit Vergleichssorten (Mittelwerte mit gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden (P $=0,05$)) nach GHESQUIÈRE & BOURGOIN, 2010	68
Tab. 6: Beschreibende Sortenliste der verwendeten Deutschen Weidelgräser, ohne Iduna (verändert nach BUNDESSORTENAMT, 2003; BUNDESSORTENAMT, 2009).....	69
Tab. 7: Beschreibenden Sortenliste der verwendeten Wiesenschwingel (verändert nach BUNDESSORTENAMT, 2009).....	70
Tab. 8: Induktionsmedium. Embryonenkultur bei Weizen x Mais (persönl. Kommunikation BAUMANN).....	71
Tab. 9: Regenerationsmedium. Embryonenkultur bei Weizen x Mais (persönl. Komm. BAUMANN).....	72
Tab. 10: Verwendete Lösungen Embryonenkultur und Test der männlichen Fertilität	73
Tab. 11: Zusammensetzung der Hydropony - Lösung für GISH Analyse (pers. Kommunikation mit Dr. David Kopecký).....	76
Tab. 12: Verwendete Programmcodes SAS 9.2.....	77
Tab. 13: Ergebnisse der GISH Analyse. L= <i>Lolium</i> , F= <i>Festuca</i> , T=Translokation	78

III Abkürzungsverzeichnis

AFLP	<i>Amplified Fragment Length Polymorphism</i>
BC	Backcross, Rückkreuzung
cM	Centimorgan
Dg	<i>Dactylis glomerata</i> , Knaulgras
DNA	Desoxyribonucleic acid
Epflb	Einzelpflanzenbeobachtung
F	<i>Festuca</i>
F1 - Fn	1. bis n. Filialgeneration
Fa	<i>Festuca arundinacea</i> , Rohrschwengel
FeEDTA	Ferric Ethylenediaminetetraacetic Acid
FEL	<i>Festulolium</i>
Fg	<i>Festuca glaucescens</i> , <i>Festuca arundinacea</i> var. <i>glaucescens</i>
Fp	<i>Festuca pratensis</i> , Wiesenschwengel
GCA	General combining ability, Allgemeine Kombinationsfähigkeit
GISH	Genomic in situ hybridization
Komb.	Kombinationsklon
Kr.	Kreuzungsjahr
L	<i>Lolium</i>
LfL	Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
Lm	<i>Lolium multiflorum</i> , Welsches Weidelgras
Lp	<i>Lolium perenne</i> , Deutsches Weidelgras
LUZ	<i>Medicago sativa</i> , Luzerne
NDF	Neutral Detergent Fiber
NK	Nachkomme, Nachkommen, Nachkommenschaften
Php	<i>Phleum pratense</i> , Wiesenlieschgras
Pp	<i>Poa pratensis</i> , Wiesenrispe
PX	Polycross
QTL	Quantitative Trait Locus
ssp.	<i>Subspecies</i>
Tp	<i>Trifolium pratense</i> , Rotklee
WSC	<i>Festuca pratensis</i> , Wiesenschwengel

1. Einleitung

Die Tier- und Pflanzenwelt unterlag von Beginn an dem Zwang sich den verändernden Umweltbedingungen anzupassen. Die moderne Landwirtschaft ist jedoch auf eine schnellere Adaption angewiesen, um die Nahrungsmittelproduktion weltweit nachhaltig sichern zu können. Die Herausforderungen des Klimawandels erhöhen den Druck zu rascheren Anpassungen zusätzlich. Hier liegt die Verantwortung im Bereich der Tier- und Pflanzenzüchtung. Sie hat seit den Anfängen der Landwirtschaft versucht, die Qualität und den Ertrag landwirtschaftlicher Produkte auch unter veränderten Rahmenbedingungen zu erhalten und noch zu verbessern.

Das bedeutet für den Bereich der Pflanzenzüchtung unter anderem die Übertragung von Resistenzen oder Toleranzen gegen etablierte wie auch neue biotische und abiotische Stressoren in leistungsfähige Zuchtsorten. So können Kulturpflanzen auch in Gebieten angebaut werden, die nicht den klimatischen Bedingungen des Ursprungslandes entsprechen oder sich an Veränderung klimatischer Bedingungen anpassen. Voraussetzung ist hierzu das notwendige Maß an genetischer Variabilität im Ausgangsmaterial eines Zuchtprogrammes. Mit Hilfe des Einkreuzens von Merkmalen aus Landsorten, Wildpflanzen, der Auslösung von Mutationen oder dem Einsatz von Gentechnik kann die Variation im etablierten Material geschaffen werden.

Mit der hier vorgestellten Studie wurde versucht, die genetische Variabilität bei Futtergräsern zu erhöhen. Als „Werkzeug“ diente dazu die Gattungsbastardisierung, im Speziellen die Kreuzung von Wiesenschwingel (*Festuca pratensis* Huds.) (Fp) mit Deutschem Weidelgras (*Lolium perenne* L.) (Lp). Letzteres ist das am stärksten züchterisch bearbeitete Futtergras und durch seine hervorragende Schmackhaftigkeit, Vielschnittverträglichkeit und hohen Ertrag sehr wertvoll. Der Wiesenschwingel hat einen etwas geringeren Futterwert, wird im Grünland durch Vielschnitt aus dem Pflanzenbestand verdrängt, besticht jedoch durch seine Toleranzen gegenüber abiotischem Stress. Die Hybriden der Gattungen *Festuca* und *Lolium* werden als *Festulolium* bezeichnet.

An der bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) in Freising wird *Festulolium* als Transferorganismus für die Eigenschaften des Deutschen Weidelgrases Vielschnittverträglichkeit und erhöhten Ertrag auf Wiesenschwingel genutzt. Durch die geänderten Produktionsbedingungen verlor Wiesenschwingel in großen Teilen des bayerischen Grünlandes gegenüber anderen Arten stark an Konkurrenzkraft (HEINZ & KUHN, 2008). Damit einher ging der Verlust seiner oft bestandsprägenden hohen Anteile in den Aufwüchsen. In der Folge der Bestandsveränderung im Grünland nimmt

auch seine Tonnage bei den eingesetzten Ansaat- und Nachsaatmischungen ab. Dies wiederum führt zu einer Verarmung des genetischen Pools nicht nur bayerischer Grünlandbestände.

Ziel ist vor allem, durch die Verbesserung der Vielschnittverträglichkeit die Konkurrenzkraft des Wiesenschwingsels durch rekurrente Rückkreuzungen zu erhöhen. Winterhärte und Wuchstyp von *F. pratensis* sollen dabei erhalten bleiben. Der erste Schritt für diesen Züchtungsgang ist die Schaffung einer Ausgangspopulation, die sich durch Kreuzungsbarrieren jedoch als diffizil erweist. Vor allem die geringe männliche und weibliche Fertilität der F1-Pflanzen stellt ein Problem für die weitere Züchtung dar. Es müssen also Methoden etabliert werden, um diese Kreuzungsbarrieren zu überwinden und die gewünschte phänotypische und genetische Variabilität zu erzielen, damit diese dann für weitere Züchtungsschritte genutzt werden kann. Nach Etablierung der unter den Rahmenbedingungen der Arbeitsgruppe erfolgversprechendsten Methode sind folgende Fragen zu erörtern:

- In welchem Umfang ist die Kombinationsfähigkeit von Wiesenschwingel und Deutschem Weidelgras von der Kombinationseignung einzelner Individuen oder Sorten abhängig?
- Gibt es Eigenschaften, die vorwiegend von bestimmten Einzelpflanzen oder Sorten vererbt werden?
- Treten bei der Kreuzung der Arten *Festuca pratensis* Huds. und *Lolium perenne* L. reziproke Effekte auf?
- Kann die Fertilität der F1-Pflanzen wieder hergestellt werden?

Die vorliegende Master-Thesis sollte die genetische Variation der bereits vorhandenen *Festulolium*-Population erfassen und Verbesserungsvorschläge bei den Kreuzungsvorgängen erarbeiten. Dieser praktischen Arbeit ging eine Literaturrecherche voraus, um mögliche Probleme vorhersehbar zu machen und effektiver lösen zu können.

2. Literaturübersicht

2.1. Allgemeine Informationen

Bereits vor mehreren Jahrhunderten wurde ein Gras beschrieben, das weder für die Gattung *Festuca* noch für die Gattung *Lolium* typisch war. Man fand die Pflanzen sowohl in Schweden, Großbritannien als auch den Niederlanden. Diese Pflanzen zeigten vielfältige Variationen des Phänotyps, unter anderem bezüglich der Begrannung der Spelzen (JENKIN, 1933). WIT (1959) deklarierte in den Niederlanden gefundene Gräser als triploid und teilweise männlich fertil, während die Sterilität dieser außergewöhnlichen Gräser allgemein bekannt war. Über die Phylogenie dieser Pflanzen wurden lange Zeit Vermutungen angestellt und die Theorie, dass es sich um Gattungshybriden handeln könnte, wurde vernachlässigt. Betitelt wurden die Pflanzen damals als *Festuca loliacea*. Erst Anfang des 20. Jahrhunderts ging die Hybridentheorie in den allgemeinen Konsens über. Neben *F. pratensis* wurden mehrere mögliche Elternpflanzen in Betracht gezogen, unter anderem *Glyceria fluitans* (Fluten der Schwaden). Durch Kreuzungsversuche konnten *L. perenne* (Lp) und *F. pratensis* (Fp) als Elternpflanzen für die Hybriden in England verifiziert werden. Die Kreuzungsversuche zwischen Lp und *G. fluitans* lösten keine Reaktion der Fruchtknoten aus (JENKIN, 1933). Durch seine Versuche konnte JENKIN (1933) zeigen, dass sich auch andere Vertreter der Gattungen *Festuca* und *Lolium* kreuzen lassen. Generell konnte durch jede Kreuzung eines diploiden *Lolium ssp.* mit einem poly- oder diploiden *Festuca ssp.* eine F1 erzeugt werden (GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b).

Die Züchtung von *Festulolium* hatte ihren Anfang in den siebziger und achtziger Jahren. Dabei wurden unterschiedliche Strategien verfolgt, die auch heute noch praktiziert werden. In den USA wurde mittels Introgression von *Lolium ssp.* in *Festuca arundinacea* Schreb. (Rohrschwengel) gezüchtet (BUCKNER *et al.*, 1977; BUCKNER *et al.*, 1983 aus GHESQUIÈRE *et al.*, 2010a), während die europäische Züchtung sich mit Amphiploidie, der Kombination der vollständigen Chromosomensätze von *Lolium ssp.* und *F. pratensis*, beschäftigte (LEWIS *et al.*, 1973 aus GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b). Das Bundessortenamt hat den Gattungsbastard *Festulolium* im August 1992 in das Artenverzeichnis des Saatgutverkehrsgesetzes aufgenommen. Bis 2004 war *Festulolium* in der Europäischen Union definiert als Hybride zwischen den Arten *F. pratensis* und *Lolium multiflorum* Lam. (Welsches Weidelgras), die als *x Festulolium braunii* (K. Richter) A. Camus bezeichnet wurden (Direktiven 66/401/EEC & 92/19/EEC) (BUNDESMINISTERIUM DER JUSTIZ, 2010; BUNDESSORTENAMT, 2009; GHESQUIÈRE *et al.*, 2010a). Züchtungen, die vom Ursprungselter *Festuca arundinacea*

(Rohrschwengel) ($2n=6x=42$) abstammten, wurden als Rohrschwengelzüchtungen gelistet (GHESQUIÈRE *et al.*, 2010a, GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b). Seit dem 16. Oktober 2004 galt die Neufassung des Artenverzeichnisses zum Saatgutverkehrsgesetz. Ab diesem Zeitpunkt wurden auf europäischer Ebene alle Hybriden, die aus der Kreuzung eines Vertreters der Gattung *Lolium* mit einem Vertreter der Gattung *Festuca* (*Festuca ssp. x Lolium ssp.*) entstanden, als *Festulolium* definiert (BUNDESMINISTERIUM DER JUSTIZ, 2010; BUNDESSORTENAMT, 2009; GHESQUIÈRE *et al.*, 2010a). Das allgemeine Problem der F1-Hybriden war die geringe weibliche Fertilität und fast vollständige männliche Sterilität. Durch Behandlung mit Colchicin, also Erstellung von Amphiploidie, ließ sich die Fertilität für weitere Züchtungsschritte in ausreichendem Maße rekonstruieren (GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b).

Die Strategie der Introgression wurde aus allen Ploidie-Graden in alle Elternspezies mit Ausnahme von *F. arundinacea var. glaucescens* versucht. Auf diese Weise entstanden insgesamt 18 Sorten. Bei sechs (Evergreen, Duo, Tandem, Barfest, Kemal und Matrix) dieser Sorten war unklar, ob sie wirklich aus wiederholter Rückkreuzung entstanden waren. Da es keine Publikation über den Zuchtgang gab, wurden sie aufgrund ihres Weidelgras Phänotyps zur Introgressionszüchtung gezählt (GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b). KOPECKÝ *et al.* (2006) detektierte bei Kemal, Duo und Matrix kein *Festuca* Chromatin. Barfest, Evergreen und Tandem wurden nicht untersucht.

41 Sorten wurden bisher in der Literatur als *Festulolium* angegeben, wovon 25 in der OECD Liste von 2009 aufgeführt waren. Teilweise wurde der Zuchtgang ungenügend dokumentiert. Durch die deutsche Wiedervereinigung und Ausweitung der EU erhöhte sich die Zahl der in der EU zugelassenen Sorten (GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b). Das Bundessortenamt hatte in der beschreibenden Sortenliste 2009 drei *Festulolium*-Sorten gelistet. Bereits 1986 wurde Paulita in Deutschland zugelassen. Im Jahr 2007 folgten Felopa und Lifema (BUNDESSORTENAMT, 2009). Zwischenzeitlich wurden drei weitere Sorten, Perseus, Achilles und Mahulena, zugelassen. Außer letzterer waren alle Sorten tetraploid, Mahulena dagegen hexaploid (BUNDESSORTENAMT, 2010). Bei Felopa, Paulita, Perseus und Achilles handelte es sich um Fp x Lm Kreuzungen (CERNOCH *et al.*, 2004; DLF TRIFOLIUM, 2011; TOUNO *et al.*, 2011). Lifema entstammte einem Zuchtgang der sich auf Bastardisierungen von Bastardweidelgras und Wiesenschwengel zurückführen ließ (DSV DEUTSCHE SAATVEREDELUNG, 2011), während bei der Entwicklung der Sorte Mahulena Rohrschwengel mit verwendet wurde (DLF TRIFOLIUM, 2010). Ein Auszug aller weltweit zugelassenen Sorten findet sich im Anhang (Tab. 4).

Aktuelle Züchtungen hatten zum Ziel, die Defizite der Weidelgräser gegenüber abiotischem Stress im Sommer und Winter durch die Einkreuzung von *Festuca*-Genen

zu erhöhen. Die Wasser- und Stickstoffnutzungseffizienz wurde vor allem bei der Rasenzüchtung forciert. In Westeuropa konzentrierte sich die *Festulolium*-Züchtung auf das Potenzieren der Stresstoleranz von Weidelgräsern, während in Zentraleuropa an der qualitativen Verbesserung des Wiesenschwingsels gearbeitet wurde (CERNOCH *et al.*, 2004; GHESQUIÈRE *et al.*, 2010a). Entscheidend für das Erreichen des Zuchtziels war die Wahl des *Festuca*-Ausgangselter. Bei amphiploiden *Festulolium* wurde ein progressiver Verlust der *Festuca*-Chromosomen beobachtet, was eine zytologische Instabilität der Sorten zur Folge hatte. Als Ursache wurde ein „Meiotic Drive“, die Favorisierung von *Lolium* Chromosomen während der Meiose, postuliert (GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b). Trotz des Potenzials der *Festulolium*-Sorten fand noch keine breite Etablierung auf dem Markt statt. FEUERSTEIN (2010) führte einige Gründe für die geringe Saatgut-Nachfrage auf. Dazu gehörte die preisliche Diskrepanz des Saatgutes gegenüber Weidelgras- oder Schwingel-Saatgut. Im Vergleich zu den üblicherweise in der Landwirtschaft verwendeten Weidelgräsern und Schwingelarten lieferten *Festulolium*-Sorten deutlich geringere Samenerträge bei der Vermehrung. Dadurch waren die Saatgutkosten bei *Festulolium* entsprechend höher. Hinzu kam die deutlich geringere Verfügbarkeit regionaler Sortenergebnisse. Daher konnte der Landwirt im Regelfall nur sehr schwer Vor- und Nachteile der *Festulolium*-Sorten im Vergleich zu den bekannten Alternativen abwägen. Die Situation in der Beratung bei *Festulolium* war in Deutschland regional deutlich differenziert. Während *Festulolium* in den „5 neuen Bundesländern“ traditionell in den Mischungsempfehlungen sowohl im Feldfutterbau als auch im Grünland seinen Platz hatte, fand man ihn in den Empfehlungen für die alten Bundesländer nicht. CERNOCH präsentierte auf der EUCARPIA-Konferenz (EUCARPIA 29th Fodder Crops and Amenity Grasses Section Meeting, Satellite-Meeting *Festulolium*) in Dublin im September 2011 seine langjährigen Erfahrungen mit tschechischen *Festulolium*-Sorten. Zu diesen Sorten gehörten sowohl Rohrschwingel-Typen, als auch Sorten vom Typ *F. braunii*. Er konnte Forschungsergebnisse aus 20 Jahren *Festulolium* Anbau vorweisen, die sowohl die Persistenz und Ertrag, als auch die Verdaulichkeit positiv hervorhoben.

Am intensivsten bearbeitet wurden Kreuzungen von Welschem oder Deutschem Weidelgras mit *F. pratensis*, *F. arundinacea* und *F. glaucescens*. Diese konnten bezüglich ihrer Trockenheitstoleranz folgendermaßen geordnet werden: *F. arundinacea* > *F. glaucescens* > *F. pratensis* ≥ *L. perenne* > *L. multiflorum*. Bei der Kältetoleranz änderte sich die Reihenfolge: *F. pratensis* > *F. arundinacea* > *L. perenne* ≥ *F. glaucescens?* > *L. multiflorum* (HUMPHREYS *et al.*, 1998). Diese drei wichtigen *Festuca* Spezies verteilten sich laut BORRILL *et al.* (1976 aus HUMPHREYS *et al.*, 1998) individuell auf dem Erdball und waren alle in Europa beheimatet. *F. glaucescens* war in

den montanen Regionen Süd- und Osteuropas anzutreffen, während *F. arundinacea*, bedingt durch seine Hitze- und Trockenheitstoleranz, auf dem afrikanischen Kontinent auffindbar war. *F. pratensis*, als winterhartes Gras, konnte sein Verbreitungsgebiet am weitesten in den Norden, bis hinein in den nördlichen Polarkreis, erweitern.

Aber auch für die Züchtungsforschung waren und sind *Festulolii* wertvolle Gräser, da gezielt erstellte Kartierungspopulationen bei diesen Bastarden zur Identifikation von QTL's (Quantitative Trait Locus) z.B. unter Verwendung von Genomic in situ hybridization (GISH) dienen können.

2.2. Intergenerische Hybridisierung mit *Lolium perenne*

2.2.1. *Festuca pratensis*

Durch Kreuzungsversuche gelang es JENKIN (1933) die Elternpflanzen der Hybriden zu verifizieren, die in natürlichen Ökosystemen in England gefunden wurden.

Der Hybride von *L. perenne* und *F. pratensis* trug die Bezeichnung *x Festulolium loliaceum* (Hudson) Fourm. (DIETL *et al.*, 1998). KLAPP (1965) bezeichnete ihn noch als *Festulolium ascendens* und verwies auf den alten Namen *Festuca loliacea*. Bei TERRELL (1968) fanden sich noch weitere Namen. *L. perenne x F. pratensis* wurde *Lolium festucaceum* (Link) genannt und die reziproke Kreuzung *Lolium festucoides* (Rasp.). Diese Namen beriefen sich auf Studien in den Jahren zwischen 1827 und 1829.

Morphologisch lagen diploide F1-Nachkommen dieser Kreuzung zwischen denen der Eltern. Die Infloreszenz des *Festulolium* war eine Mischung aus der Ähre der Mutter und der Rispe des Vaters. Bei triploiden Hybriden war der Einfluss von *Lolium perenne* am Aussehen geringer. Selbst wenn die Ähren nicht verzweigten, war eine Unterscheidung möglich, weil die Ähren eine lockere Struktur hatten und die Ährchen schwingelartig aussahen. Sie waren nicht so gestaucht wie bei *Lolium*, sondern zylindrisch, etwas länger, lockerer und mehrblütig, wie es für Wiesenschwingel typisch ist. Normalerweise sitzen zwei Spelzen am obersten Ährchen, bei *Lolium* ist es nur eine Spelze (WIT, 1959). JENKIN (1955a) konnte di- und triploide Hybriden rein visuell nicht unterscheiden. JENKIN (1933) ließ die entstandenen Samen keimen, ohne die Embryonen zu extrahieren. Das hieß auch ohne „Embryo Rescue“ erhielt er diploide *Festulolium*-Pflanzen, trotz des geringen oder nicht vorhandenen Endosperms. Die F1-Pflanzen dieser Kreuzung aus diploidem Wiesenschwingel und diploidem Deutschem Weidelgras waren männlich steril, was dem allgemeinen Konsens der heutigen Zeit entsprach. Die Durchführung der reziproken Kreuzung hatte keinen Effekt auf die

Fertilität (GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b; JENKIN, 1933). JENKIN (1933) beobachtete jedoch, dass *Fp* als maternaler Elternteil zwar weniger Samenanlagen produzierte, die Keimungsrate aber höher war. Insgesamt erhielt er mehr Nachkommen wenn *F. pratensis* als Mutter genutzt wurde, als bei der reziproken Kreuzung (JENKIN, 1955a).

JENKIN (1955a) untersuchte die erzeugten F1 Hybriden auf ihre Fertilität. Durch die nicht vorhandene Antherendehiszenz waren die meisten Pflanzen männlich steril. Der Samenansatz war sehr gering und Selbstbefruchtung konnte ebenso wenig festgestellt werden. Die Kreuzung der entstandenen F1-Generation war mit anderen Hybriden und *L. perenne* erfolgreicher als mit *F. pratensis*. JENKIN (1955a) verwendete jedoch nur zwei *F. pratensis*-Pflanzen bzw. deren Nachkommen als Bestäuber, was die Möglichkeit nicht ausschloss, dass deren allgemeine Kombinationsfähigkeit einfach zu gering war. Er deutete auch Sortenunterschiede beim Befruchtungserfolg an.

Durch seine Versuche stellte er fest, dass die Chromosomenzahl beider Eltern zwar gleich war, dass aber die Entwicklung der Karyopse sich abhängig von der Mutter unterschied. Wurde *Lolium* als Mutterpflanze genutzt, wurde die Karyopse nur halb so groß wie die Länge der Vorspelze. Es gab mehrere Varianten, aber in allen Fällen war die Karyopse eher dick im Vergleich zu ihrer Länge. Zusätzlich wurden die nicht gekeimten Samen untersucht. Die nicht gekeimten *Lolium* Samen hatten eine dicke und gleichmäßige Karyopse. Der Grund, dass die Keimung misslang, war das Fehlen des Embryos. JENKIN (1933) räumte jedoch ein, dass seine Untersuchungsmethode zur Auffindung des Embryos inadäquat sein könnte.

Bereits rein visuell konnten reziproke Effekte festgestellt werden. Bei der Verwendung von *Festuca* als maternaler Elternteil wurden die Karyopsen teilweise länger als die Vorspelze, sehr dünn und eingeschrumpelt sowie deformiert. Bei näherer Untersuchung konnte kein Endosperm, das Nährgewebe für den Embryo, und der Embryo selbst festgestellt werden. Die Karyopsen waren praktisch leer. Überraschend waren die Ergebnisse in dem Sinne, dass Bastarde der beiden Gattungen im Freiland häufiger anzutreffen waren, als die Versuche annehmen ließen. Mögliche Gründe für den schlechten Kreuzungserfolg könnten die künstlichen Bedingungen und die andersartigen klimatischen Bedingungen am Versuchsort im Vergleich zu denen, die bei natürlichen *Festulolium*-Populationen auftraten, gewesen sein. Eine weitere Theorie war, dass durch die Dominanz männlich steriler *L. perenne* auf einer Fläche, ein Mangel an *Lolium* Pollen vorherrschte und somit die Bestäubung durch *Festuca* Pollen wahrscheinlicher wurde. In der Gegend um Oxford konnten solche männlich sterilen *Lolium* Populationen gefunden werden (JENKIN, 1933). Die F1-Generation hatte wie die Eltern die Chromosomenzahl 14 ($2n = 2x = 14$) und war somit diploid. JENKIN (1933) erzeugte bei der Rückkreuzung eines Hybriden eine triploide Pflanze mit 21

Chromosomen. Bei der Rückkreuzung einer natürlichen *F. loliacea* mit deutschem Weidelgras entstand eine Pflanze, die 20 Chromosomen hatte. PETO (1933) schloss daraus, dass der *Festulolium* Elter polyploid gewesen sein musste. Dieses polyploide *F. loliacea* entstand vermutlich durch eine unreduzierte Gamete. Eine andere Möglichkeit wäre, dass die gefundene Pflanze keine Kreuzung aus *L. perenne* x *F. pratensis* war, sondern aus *L. perenne* x *F. arundinacea*. Es wurden einige von JENKIN gesammelten *Festulolii* auf ihre Chromosomenzahl geprüft und der Wert $2n=14$ verifiziert. PETO (1933) führte mit den Kreuzungen von JENKIN (1933) zytologische Untersuchungen durch. Die Chromosomenzahl beider Eltern, sowie die Rückkreuzung mit Deutschen Weidelgras betrug $2n=14$. Die Mitose beider Eltern und der Nachkommen (Backcross der 1. Generation (BC1) und 1. Filialgeneration (F1)) verlief ohne Fehler und war nicht zu unterscheiden.

Bei den Untersuchungen von JAUHAR (1975) dominierten bivalente Formationen, aber auch univalente und trivalente Formationen wurden festgestellt. Dadurch konnte der Genaustausch zwischen den Chromosomen der verschiedenen Gattungen verifiziert werden (NITZSCHE *et al.*, 1985).

Spätere Untersuchungen zeigten, dass Rekombination und somit der Austausch jeder möglichen Genkombination entlang des gesamten Bivalents homologer Chromosomen von Lp und Fp stattfand. Es konnte nachgewiesen werden, dass vorteilhafte Fp Gene in Lp transferiert wurden. Die GISH Analyse ermöglichte die Charakterisierung und Identifizierung transferierter Chromosomabschnitte (KING *et al.*, 2007).

GYMER & WHITTINGTON (1973) kreuzten in ihren Experimenten tetraploides Deutsches Weidelgras mit diploidem Wiesenschwingel und tetraploiden Wiesenschwingel mit diploidem Deutschem Weidelgras sowie die jeweils reziproken Kreuzungen. Mit ungefähr einem überlebenden Hybriden pro Ähren war die Kreuzung *L. perenne* (2x) x *F. pratensis* (4x) am erfolgreichsten. Bei der Untersuchung der Chromosomenzahl wurden triploide Nachkommen erwartet. Bei den Nachkommen letzterer wurden auch $2n=22$ und $2n=21$ plus ein Fragment gefunden. Es wurde vermutet, dass das 22. Chromosom aus dem tetraploiden *Festuca* Elter kam und eine ungleichmäßige Teilung während der ersten Anaphase bei der Bildung der Mikrosporen der Grund für die Entstehung der Aneuploidie war. Die Herkunft des dritten Chromosomensatzes war immer von dem tetraploiden Elter. Es entstanden mehr Nachkommen wenn jeweils ein Elter tetraploid war, als bei rein diploiden Eltern (GYMER & WHITTINGTON, 1973; WIT, 1959). Die triploiden Nachkommen, dessen tetraploider Elternteil Lp war, wiesen eine gesteigerte Fertilität auf (JAUHAR, 1975). WIT (1959) erhielt auch Kreuzungen aus triploiden *L. perenne* und tetraploiden *F. pratensis*. Es war unerheblich, ob die

Mutterpflanzen vor der Bestäubung mit Wiesenschwingel kastriert worden waren oder nicht. Die Anzahl der erzeugten Hybriden blieb relativ konstant. Die Authentifizierung der erfolgreichen Kreuzung erfolgte durch morphologische Merkmale, wie jüngstes Blatt gerollt, kürzeres Blatthütchen und breitere Blattscheide (WIT, 1959). Die Verzweigung der Infloreszenzen war wahrscheinlich, musste aber nicht immer auftreten (JENKIN, 1955a).

Weitere Experimente waren Rückkreuzungen der Hybriden mit den Eltern. Da alle Hybriden männlich steril waren, war eine Rückkreuzung nur als Mutter möglich. Die Rückkreuzungen von diploiden Hybriden mit Deutschem Weidelgras waren wesentlich erfolgreicher als die Rückkreuzungen mit Wiesenschwingel. Die Chromosomenzahlen variierten, wobei 14 (2x) am häufigsten waren. Aneuploidie aufgrund fehlender, als auch additiver Chromosomen, wurde beobachtet. Es zeigte sich, dass vor allem die Kombination der Eltern große Unterschiede beim Erfolg der Produktion von lebensfähigen Nachkommen war. Die diploiden BC1Fp-Pflanzen waren Deutschem Weidelgras im vegetativen Stadium ähnlich. Die Infloreszenzen waren wiesenschwingelartig. Diese Rückkreuzungen waren alle männlich steril (weniger als 4% fertiler Pollen). Die BC1Lp Nachkommen waren kaum noch von *L. perenne* zu unterscheiden, weder im generativen noch im vegetativen Stadium. Die Pollenfertilität variierte stark, es war jedoch mehr fertiler Pollen vorhanden. Einige Pflanzen kamen gar nicht ins generative Stadium. Bei der Kreuzung triploider Hybriden mit diploiden *L. perenne* oder *F. pratensis* war nur *L. perenne* erfolgreicher Polleneltern. Die erfolgreichsten Mütter waren festucoid, also mit einem höheren Anteil an *Festuca* Genen. Den fertilsten Pollen produzierten diejenigen Nachkommen mit euploiden Chromosomensätzen, da es in diesem Fall zu keiner ungleichmäßigen Verteilung der Chromosomensätze während der Meiose gekommen war (GYMER & WHITTINGTON, 1973). WIT (1959) ließ seine Pflanzen offen abblühen und konnte bei den F2-Pflanzen (*Lolium* (2n=2x) x *Festuca* (2n=4x)) ein Maximum von 99,3% fertilen Pollen erreichen. Im Mittel waren es 20,6%. Es ließ sich somit eine hohe Variabilität erkennen. Bei den von ihm natürlich gesammelten Hybriden war die männliche Fertilität der F2-Pflanzen im Mittel höher.

Wie schon JENKIN (1933) wurde auch von GYMER & WHITTINGTON (1973) nach den Gründen für die fehlende Keimung gesucht und kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Teilweise fehlten die Embryonen, das Endosperm war deformiert und eingefallen oder überhaupt nicht vorhanden. Gutes Endosperm wurde hauptsächlich bei den FEL(3x) x Lp Nachkommen gefunden. Kleines Endosperm wurden nur von den Nachkommen der FEL (2x) x Lp Kreuzungen produziert.

Schon REUSCH (1959 aus GYMER & WHITTINGTON, 1973) führte die schlechte Kreuzbarkeit der beiden Gattungen *Lolium* und *Festuca* auf die Keiminkompatibilität zurück. Polleninkompatibilität war nicht der Grund, da sich alle Eizellen zu entwickeln begannen. Eine erfolgreiche Befruchtung war somit über die Gattungsgrenze hinweg möglich. Die korrekte Entwicklung der Nachkommen scheiterte vielmehr an unnormalem Endosperm. Je nach Mutterpflanze entwickelte es sich unterschiedlich.

L. perenne als Mutter produzierte kleine Samen mit festem Endosperm, während bei der reziproken Kreuzung große Samen mit wässrigem Endosperm entstanden. Mit tetraploiden Wiesenschwingel ließen sich zwar mehr F1-Hybriden erzeugen, aber die Rückkreuzung dieser Pflanzen mit Wiesenschwingel funktionierte nicht.

JENKIN (1955a) schaffte es einen Hybriden zu erzeugen, der normales Endosperm bildete und sich von Anfang an gut entwickelte. Dazu wurde Wiesenschwingel mit einer Mischung aus Weidelgras- und Wiesenschwingelpollen bestäubt. Zunächst wurde davon ausgegangen, dass es sich um eine reine *F. pratensis* Kreuzung handelte. Aufgrund der Sterilität und des Phänotyps der Pflanze, konnte sie allerdings eindeutig als Hybride klassifiziert werden. Er vermutete deshalb, dass beide Gattungen einen Beitrag zur Befruchtung geleistet hatten und sich so ein Embryo und normales Endosperm entwickeln konnte. Die Weidelgrasgameten befruchteten vermutlich in diesem Fall die Eizelle, während die Wiesenschwingelgameten mit dem Fusionskern der Wiesenschwingelmutter normales Endosperm produzierten. Der erst nach dem Weidelgras auftreffende Wiesenschwingelpollen konnte nicht mehr mit dem Zellkern der Mutterpflanze verschmelzen, da diese Befruchtung schon erfolgt war.

Allgemein ließ sich sagen, dass die triploiden F1 Hybriden im Vergleich zu beiden Eltern kräftiger wuchsen. Der Blattansatz im Frühjahr war im Vergleich zu Weidelgras und tetraploiden Wiesenschwingel am höchsten. Untersuchte Hybriden aus der Wildnis waren ähnlich winterhart wie ihr *Festuca*-Elternteil und winterhärter als alle zum Vergleich stehenden Deutschen Weidelgräser. Um in größerem Ausmaß diploide Hybride zu produzieren, schlug WIT (1959) die Möglichkeit vor, diploides Weidelgras mit haploiden und diploiden Pollen von Wiesenschwingel zu bestäuben. Der haploide Pollen sollte die Eizelle befruchten und der diploide Pollen die Endospermbildung anregen. Der Vorteil von tetraploiden Hybriden wäre gewesen, dass sowohl der *Lolium* als auch der *Festuca* Chromosomensatz vollständig in den Pflanzen vorhanden wäre, was einen völlig neuen Pflanzentyp dargestellt hätte (WIT, 1959). Die Amphiploidie war in heutiger Zeit eine der Hauptstrategien zur Erzeugung von *Festulolium* (GHESQUIÈRE *et al.*, 2010a).

Phänotypisch konnte JENKIN (1955a) Pflanzen erzeugen, deren Infloreszenzen gar nicht verzweigt waren, typisch für *Festulolium* verzweigt waren oder so stark wie

Festuca verzweigt waren, dass er an deren Zugehörigkeit zur *Festulolium*-Spezies zweifelte. Bei *Festulolium* war die Verzweigung des untersten Knotens am längsten. Umwelteffekte konnten in Bezug auf die Neigung zur Verzweigung der Ähren nicht außer Acht gelassen werden. Unter bestimmten Bedingungen, meist abiotischen Stress, konnte auch Deutsches Weidelgras leicht verzweigte Blütenstände anlegen.

JENKIN (1955a) kreuzte seine F1-Hybriden mit verschiedenen *Festuca*-Arten, *L. perenne* und anderen Hybriden. Die Rückkreuzung mit Deutschem Weidelgras führte zum größten Erfolg insbesondere bei selbstfertilen Linien. Er ging davon aus, dass der Misserfolg der Kreuzungen mehr von der general combining ability (GCA) der individuellen Pflanzen abhing, als von der Zugehörigkeit zu einer anderen Gattung. Als Wiesenschwingel-Vater für die Rückkreuzung verwendete er zwei ähnliche Pflanzen, so dass ein möglicher Grund für die größere Ausbeute bei Deutschen Weidelgras-Vätern einzig und allein an der minderwertigen GCA der Wiesenschwingel lag. Als allgemein gültig betrachtet wurde, dass F1 Hybriden nicht nur männlich steril waren, sondern auch deren weibliche Fertilität stark eingeschränkt war (zusammengefasst bei GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b). Die Pollenfertilität stieg in der F2-Nachkommenschaft an. Obwohl der Samenansatz der F1-Pflanzen gering war, wurden die überlebenden Nachkommen (F2) konkurrenzstarke Pflanzen (JENKIN, 1955a).

Die BC1 mit Fp wurde von JENKIN (1955a) als männlich steril und schwach weiblich fertil klassifiziert. Weitere Rückkreuzungen, sowohl mit Lp als Pollenspender, als auch Fp konnte er nicht erzeugen. Rückkreuzungshybriden der Art (Lp x Fp) x Lp ähnelten wie zu erwarten war, stark den Lp Eltern. Die Hybriden dieser Art waren, aufgrund der oben genannten Gründe, teilweise pollensteril. Es wurden aber auch Pflanzen produziert, deren Antheren mehr oder weniger dehiszent waren, die Qualität, das heißt die Fertilität, der Pollen lag jedoch nur bei 41%. Einige waren vollkommen pollenfertil. Eine Kreuzung dieser BC Hybriden mit Lp war am erfolgreichsten. Der Körneransatz bei einer Kreuzung mit Fp-Mutter lag überraschend hoch. Die Keimlinge waren jedoch sehr schwach und es konnte sich keine Pflanze etablieren. Bei der Bestäubung der BC-Hybriden mit Lp konnte das Niveau intraspezifischer Kreuzungen noch nicht erreicht werden. Der Samenansatz und die Keimungsrate hatten sich aber verbessert. Die Sämlinge hatten gute physiologische Eigenschaften, weshalb eine große Anzahl überlebte. Bei der reziproken Kreuzung konnte eine Erfolgssteigerung beobachtet werden. In diesem Fall wurde ein Samenansatz von 43% dokumentiert, sowie perfekte Keimung und Etablierung der Nachkommen. JENKIN (1955a) führte das auf die speziellen physiologischen Eigenschaften einer Pflanze zurück, die er für jede Kreuzung nahm. Der Fp Anteil verlor sich bereits in der BC2 und die Pflanzen waren nicht mehr von Lp zu unterscheiden.

Eine triploide BC-Hybride konnte erfolgreich als Pollenelter und als maternaler Elternteil verwendet werden. Sie war hochgradig selbststeril, was sich auch über die folgenden Generationen, unabhängig der Zytologie, hielt. Die Hybride wurde sowohl mit anderen Hybriden, als auch Lp gekreuzt.

Wie schon JENKIN (1955a) feststellte wird der Lp Anteil nicht nur bei Rückkreuzungen mit Lp sondern auch bei Kreuzungen zwischen den *Festulolium*-Pflanzen immer größer.

Von JAUHAR (1975) wurden auto-allohexaploide Kreuzungen zwischen *L. multiflorum* (Lm) und Lp mit Fp untersucht (LpLp FpFpFpFp, LmLm FpFpFpFp). Die Pflanzen entstanden durch Chromosomverdopplung von auto-allotriploiden Pflanzen der Art Lp FpFp und Lm FpFp. Gefunden wurde eine beachtliche Menge an Hexavalenten. Das bedeutete, dass sich die Chromosomen von *Lolium* und *Festuca* nicht bevorzugt innerhalb ihrer Spezies aneinander anlagerten. Wäre dies der Fall, hätten sich hauptsächlich Quadrivalente und Bivalente bilden müssen. Es fanden sich mehr Chiasmata als bei diploiden intergenerischen Kreuzungen. Die Meiose selbst war unregelmäßig, was dazu führte, dass die Pollensterilität sehr hoch war. Die Entwicklung der Chromosomen war nicht synchron, das heißt einige gepaarte Chromosomen zeigten nicht die Entwicklung, die sie zu bestimmten Zeitpunkten der Meiose haben sollten, sondern lagen in ihrer Phase zurück. Die Spindeln waren teilweise tri- und quadripolar.

KOPECKÝ *et al.* (2006) untersuchte mit der GISH-Methode die tetraploiden Sorten Duo und Kemal. *Festuca* Chromatin war nicht auffindbar. Diese Methode benötigt zum Nachweis jedoch relativ große Chromosomenstücke. Die Grenzen von GISH mit fluoreszierenden Proben lagen, wie sie von KOPECKÝ *et al.* (2006) durchgeführt wurde, beispielsweise im Roggen-Weizen Komplex, bei ca. 3,5cM (LUKASZEWSKI *et al.*, 2005). Einzelne Gene konnten damit nicht detektiert werden.

Forschungsergebnisse aus Norwegen zeigten, dass amphiploide LpFp Sorten bessere Winterhärte aufwiesen, als Hybriden, die aus Introgression entstanden (ØSTREM & LARSEN, 2010).

Neben dem landwirtschaftlichen Nutzen der Hybriden, dienten sie auch dazu Genkarten zu erstellen. Durch Rückkreuzung konnte eine „mapping population“ erzeugt werden. Besondere Aufmerksamkeit schenkte man Fp Chromosom 3, das homöolog zum Chromosom 3 der *Triticeae* Gruppe und Reis Chromosom 1 war. Außerdem konnte Syntenie zum Reisgenom festgestellt werden. Damit sind grundsätzlich bereits entwickelte Reismarker für die Kartierung der Futtergräser nutzbar. Auf diese Weise wurden Informationen verfügbar, die sowohl von

Wissenschaft als auch Züchtung genutzt werden könnten, um wichtige Gene schneller zu detektieren und gezielt in Züchtungsprogramme einzubringen (KING *et al.*, 2007).

Die meisten in Deutschland zugelassenen *Festulolium*-Sorten waren tetraploid (BUNDESSORTENAMT, 2009; BUNDESSORTENAMT, 2010), weltweit herrschten ebenfalls tetraploide Sorten vor (ZWIERZYKOWSKI *et al.*, 2006). ZWIERZYKOWSKI *et al.* (2006) untersuchte die Genombalance in sechs sukzessiven Generationen der Gattungskreuzung vom Typ Fp ($2n=4x=28$) x Lp ($2n=4x=28$). Es stellte sich heraus, dass mit steigender Anzahl der Generationen die Anzahl aneuploider Pflanzen zunahm. Die Ausgangspflanzen wiesen schwache Fertilität auf (45% Pollenfertilität und 15,6% Kornansatz), die sich jedoch von Generation zu Generation verbesserte. Die weibliche Fertilität der LpFp *Festulolii* war signifikant geringer als die der LmFp Hybriden.

Bei der F₂-Generation war das Verhältnis von *Lolium* zu *Festuca*-Chromosomen, also mit dem jeweiligen Zentromer, relativ ausgeglichen. Nur ein Viertel der Pflanzen zeigten keine Rekombinationsereignisse in ihrem Genom. Unterschiede bei den Chiasmata der *Lolium*- und *Festuca*-Chromosomen gab es hauptsächlich am Ort der Bruchstelle. *Lolium*-Chromosomen zeigten nur an der Peripherie Rekombination, während bei *Festuca*-Chromosomen über ein Viertel an inneren Teilen zu finden war. Im Verlaufe des Zuchtgangs, also mit Anstieg der Generationenzahl, verschob sich der Anteil von *Lolium*- zu *Festuca*-Chromosomen hin zu *Lolium*. Generell ließ sich sagen, dass Anzahl rekombinanter Chromosomen und der Bruchstellen bei *Festuca* im Vergleich zum *Lolium* Genomanteil wesentlich größer wurde. Der Grund für die Verdrängung des *Festuca*-Genoms durch das *Lolium*-Genom war unbekannt. Ebenso unerforscht war die Frage ob im Laufe der Zeit das komplette *Festuca*-Genom verdrängt werden würde, oder es nur unterhalb der Detektion für GISH-Analysen blieb. Reziproke Effekte schienen unerheblich zu sein. Das Auftreten von aneuploiden Organismen führte zu der Hypothese, dass das genetische Ungleichgewicht durch eine unterschiedliche Affinität der Zentromere, vor allem beim Vorkommen von Univalenten, mit verursacht wurde (ZWIERZYKOWSKI *et al.*, 2006).

2.2.2. *Festuca arundinacea*

Festuca loliacea wurden in den Anfangszeiten der Erforschung der Bastarde noch nicht in verschiedene Unterarten unterteilt. Deshalb wurde einige gefundene *F. loliacea* erst verspätet als eine natürliche Kreuzung von *F. arundinacea* und *L. perenne* klassifiziert (JENKIN, 1933). Sie trägt heute den Namen *x Festulolium holmbergii* (Dörf.) Fourn. (DIETL *et al.*, 1998). JENKIN (1933) stellte die Kreuzung nach und hatte trotz

unterschiedlicher Chromosomenzahl der Spezies Erfolg. *F. arundinacea* ist hexaploid und hat somit 42 Chromosomen. Er detektierte eine Keimungsrate von 39,5%, obwohl die Karyopsen nicht voll entwickelt, aber im Verhältnis zu ihrer Länge dick waren. Die Kreuzung Lp x Fa gelang überraschend leicht. Die F1 zeigten kräftigen Wuchs und waren leicht vegetativ zu vermehren jedoch männlich steril. Die reziproke Kreuzung produzierte Karyopsen, die teilweise kaum von intraspezifischen Kreuzungen zu unterscheiden waren. Eine Keimung konnte allerdings nicht beobachtet werden. Eine erfolgreiche Kreuzung war folglich nur mit *L. perenne* als Mutter möglich. JENKIN (1933) vermutet, dass dieser Bastard natürlicherweise noch viel häufiger vorkam, da er leicht mit dem echten *F. loliacea* und *F. pratensis* zu verwechseln war. PETO (1933) untersuchte zwei der Nachkommen, die 30 Chromosomen hatten. Da die überschüssigen Chromosomen relativ klein waren, konnte davon ausgegangen werden, dass sie aus Fragmenten entstanden waren. Er entdeckte bei zytologischen Untersuchungen nicht nur Paarungen von zwei homologen Chromosomen, sondern auch von drei, vier und fünf. Letztere wiesen darauf hin, dass sich nicht nur homologe und homöologe Chromosomen aneinander lagerten. Bei einer Rückkreuzung dieser F1-Pflanzen mit *F. arundinacea* wurden genetische Unregelmäßigkeiten deutlich erkennbar, da die Pflanze statt Antheren ein Übermaß an Ovarien oder Tragblatt ähnlichen Strukturen bildeten, die diese ersetzten. Dieser genetische Defekt zeigte, dass Antheren modifizierte Blätter sind.

JENKIN (1955a) kreuzte LpFp-Hybriden mit Rohrschwengel. Die Nachkommen waren während der Reife kaum von *F. arundinacea* zu unterscheiden. Bei näherer Betrachtung konnten eine höhere Anzahl der Ährchen und weniger Verzweigungen festgestellt werden. Alle fünf entstandenen Pflanzen waren pollensteril und nur eine Pflanze wurde auf weibliche Fertilität getestet. Diese war kaum vorhanden. Alle Nachkommen hatten 29 anstatt der zu erwartenden 28 Chromosomen. PETO (1933) legte sich nicht fest, von welchem Elternteil, das zusätzliche Chromosom stammte, da es aber sehr klein war, ging er von Fragmentierung während der Meiose bei einem Elter aus. Die Chromosomenpaarung unterschied sich stark zwischen den beiden Müttern, obwohl diese Geschwister waren.

2.2.3. *Festuca ovina*

Die Versuche von JENKIN (1933) bezüglich dieser Kreuzung waren sehr klein und hatten keinen Erfolg. Er beobachtete, obwohl die Nachkommen nicht keimten, dass der Pollen von *F. ovina* eine gut entwickelte Karyopse produzierte. Das Vorkommen natürlicher Bastarde dieser Spezies erschien ihm schon aus dem Grund fragwürdig, da

beide Eltern sehr unterschiedliche Standortansprüche hatten und so selten am gleichen Ort vorkamen. *L. perenne* bevorzugt fruchtbare Böden, während *F. ovina* auf trockenem, armem und steinigem Boden besonders konkurrenzstark ist. Ein Zusammentreffen der Arten ist eigentlich nur an Standorten möglich, wo sich die klimatischen Bedingungen abrupt ändern.

2.2.4. *Festuca rubra*

Als JENKIN (1933) diesen Kreuzungsversuch startete, war ihm nur ein Exemplar dieses Bastards bekannt. Der Beschreiber der Pflanze nahm aber die Behauptung, dass es sich um einen *F. rubra* x *L. perenne* Bastard handelte, wieder zurück und korrigierte sie dahingehend, dass der *Festuca* Elternteil ein Wiesenschwingel sei. Im Gegensatz zu Deutschen Weidelgras ist der Rotschwingel (*F. rubra*) triploid, besitzt also 21 Chromosomen. Die Kreuzung *L. perenne* x *F. rubra* brachte gute Karyopsen hervor. Die Keimung war im Vergleich zum relativ hohen Fruchtansatz mit ca. 18% gering. Von 14 gekeimten Hybriden überlebten nur acht. Diese waren teilweise sehr schwach und ohne kontrollierte Gewächshausbedingungen nicht überlebensfähig. Es befanden sich aber auch einige kräftige Pflanzen darunter. Die Nachkommen ähnelten mehr dem *F. rubra*, als männlichem Elternteil. Alle waren männlich steril. Bei der reziproken Kreuzung keimte kein einziger Samen, was aufgrund der schlechten Entwicklung der Karyopse und des geringen Fruchtansatzes zu erwarten war. Da die Keimung und Entwicklung der direkten Kreuzung der Spezies nicht schlechter war als bei der Kreuzung *L. perenne* x *F. pratensis*, nahm JENKIN (1933) an, dass diese Bastarde auch in der Natur vorkommen könnten, bisher nur nicht dokumentiert worden waren. Beide Arten hätten die gleichen Habitate, eine Identifizierung der Bastarde, aufgrund der starken Ähnlichkeit zum Rotschwingel, wäre jedoch schwierig.

2.3. Intergenerische Hybridisierung mit *Lolium multiflorum*

2.3.1. *Festuca pratensis*

Der heutige offizielle Name für diese Kreuzung ist *x Festulolium braunii* (Richter) Carnus (DIETL *et al.*, 1998).

Bis zum Jahr 2004 wurden, sowohl in Deutschland, als auch der EU nur Kreuzungen dieser Arten als *Festulolium* definiert (BUNDESMINISTERIUM DER JUSTIZ, 2010; BUNDESSORTENAMT, 2009 zusammengefasst bei GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b). Von den 23 *Festulolium* Sorten, die durch Amphiploidie erzeugt wurden, waren die meisten aus

reziproken Kreuzungen von Welschem Weidelgras und Wiesenschwingel entstanden (GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b).

Die Biologen zu frühen Zeiten stellten eine große Variation innerhalb *F. loliacea* fest. Da es sich dabei vor allem um die Begrannung der Ähren handelte, kamen sie zu dem Schluss, dass es auch Typen geben musste, die aus einer Kreuzung zwischen Welschen Weidelgras und Wiesenschwingel entstanden waren. Der begrannete Typ wurde als *F. braunii* beschrieben und war davor bekannt als *F. loliacea var. aristata* A. Br. Es gab auch Stimmen, die diese begranneten Typen als Kreuzungen zwischen *Lolium perenne* und einem begranneten Wiesenschwingel, betitelten. Wobei hier vermutlich auch die natürliche Variation innerhalb der einzelnen Arten zu tragen kam (JENKIN, 1933). Bei den ersten Kreuzungsversuchen von JENKIN (1933) war dies jedoch unerheblich, da auch zwei begrannete Weidelgräser als Kreuzungseltern verwendet wurden. Unter sehr schlechten Bedingungen konnte es bei Welschem Weidelgras auch zu Verzweigungen kommen (JENKIN, 1955a). JENKIN (1955b) führte diese Kreuzung zwischen definiertem Welschem Weidelgras und Wiesenschwingel gezielt durch. Diese Versuche waren nicht sehr umfangreich, weswegen die Ausbeute an Nachkommen sehr gering war. Mit Welschem Weidelgras als Vater erhielt er eine keimende Pflanze. Bis dahin konnte er keine Unterschiede zu der Kreuzung zwischen Lp und Fp feststellen. Da beide Arten die gleichen Habitate hätten, wären Kreuzungen auch im Freiland möglich. JENKIN (1955b) ging davon aus, dass die Überlebensrate höher wäre als unter Gewächshausbedingungen und auch diese Hybriden wie die LpxFp Nachkommen steril wären.

Für WIT (1959) war die Entscheidung, ob es sich um eine erfolgreiche Kreuzung handelte, bei dieser Kombination schwieriger, vor allem wenn Welsches Weidelgras als Pollenelter genutzt wurde. Beide Arten wiesen eine gerollte Blattanlage auf, was das offensichtlichste und sicherste Merkmal war. Deshalb wurde die Entscheidung hauptsächlich aufgrund der Phänologie der Blüte getroffen.

KOPECKÝ *et al.* (2006) analysierten mit Hilfe von GISH die Genomstruktur der Hybriden aus *L. multiflorum* (4x) x *F. pratensis* (4x) sowie die reziproke Kreuzung. Bei der GISH-Methode wurde die DNA von Chromosomen auf mikroskopischen Platten fixiert und mit markierter genomischer DNA der Eltern hybridisiert. Unter dem Mikroskop erschien das Chromatin der verschiedenen Gattungen in unterschiedlichen Farben (SCHWARZACHER *et al.*, 1989; KOPECKÝ *et al.*, 2006). Die Nachkommen dieser Kreuzung waren vorwiegend tetraploid mit einer großen Anzahl aneuploider Organismen (35%). Die Zahl der somatischen Chromosomen schwankte zwischen 26 und 32.

Wenn *L. multiflorum* als Mutter fungierte, war die Chromosomenzahl im Mittel etwas niedriger. Es stellte sich heraus, dass die Nachkommen aufgrund der Genomstruktur in

drei Gruppen unterteilt werden konnten. Grundlage der Aufteilung war der Anteil der elterlichen Chromosomen und die Zahl der Chromosomen mit Translokationen. Die erste Gruppe hatte einen großen Anteil an intakten *Lolium* Chromosomen (11,2 bis 16,4) (KOPECKÝ *et al.*, 2006). Der maternale Elternteil war *L. multiflorum*. Einzelne Pflanzen besaßen sogar weniger als ein vollständiges *Festuca* Chromosom. Die zweite Gruppe hatten ungefähr sieben intakte *Lolium* Chromosomen und mindestens ein intaktes *Festuca* Chromosom. Es befanden sich aus beiden reziproken Kreuzungen Sorten darunter. Ebenso wie die dritte Gruppe, bei der aber überwiegend *L. multiflorum* Chromatin gefunden wurde. Im Mittel hatten diese Sorten 22 vollständige *Lolium* Chromosomen und nur 0,2 vollständige *Festuca* Chromosomen. In der Sorte Kemal konnten kein *F. pratensis* Chromosom entdeckt werden. Bei diesen Pflanzen bestand jedoch die Möglichkeit, dass die GISH-Methode wie bereits erwähnt (siehe Seite 12) nicht sensitiv genug auf *Festuca*-Chromatin reagierte. Diese Einteilung wurde nur aufgrund der Chromosomenzahlen der Eltern erstellt. Die Anzahl der Bruchstellen pro rekombiniertem Chromosom schwankte dagegen über alle Versuchsglieder zwischen 1,45 und 1,89. Es stellte sich auch heraus, dass bestimmte *L. multiflorum* Chromosome für eine Eliminierung präferiert werden. Bei den *Festuca* Chromosomen konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Bei der Untersuchung der Rekombinationen, also die Anzahl der Bruchstellen pro rekombiniertem Chromosom, wurde entdeckt, dass Chromosomen mit einem *Lolium* Zentromer seltener rekombinieren, als diejenigen mit einem *Festuca* Zentromer. Das könnte daran liegen, dass *Festuca* Chromosomen eher aus dem Genom der Hybriden eliminiert wurden. Damit wäre es für diese Chromosomen besonders vorteilhaft gewesen sich mit homologen und unhomologen Chromosomen zu paaren und zu rekombinieren, um möglichst viel des eigenen genetischen Codes zu erhalten. Die Untersuchung bezog sich nur auf somatische Zellen. Die Rekombination während der Meiose wurde nicht untersucht. HUMPHREYS *et al.* (1998) stellte fest, dass *L. multiflorum* und *F. pratensis* Chromosome generell häufiger rekombinieren als bei Kreuzungen des Typs Lm x Fg. Das deutete darauf hin, dass die Chromosomen dieser Arten homöologer sind und Introgressionszüchtung somit besser möglich. Es wurde davon ausgegangen, dass die genomische Struktur kurz nach dem Hybridisierungsereignis relativ instabil ist und sich erst im Laufe der Züchtung stabilisiert. Die Arbeit von KOPECKÝ *et al.* (2006) bezog sich nur auf tetraploide *Festulolium*. Die Stabilität der Genome diploider Hybriden war nicht bekannt.

JAUHAR (1975) untersuchte wie bei der Kreuzung *L. perenne* x *F. pratensis* auch bei der Kreuzung mit Welschen Weidelgras die Meiose. Wie bei ersterem dominieren bivalente Formationen. Es gab wesentlich mehr univalente Chromosomen als bei der

Kreuzung mit Deutschem Weidelgras. Zusätzlich wurden quadrivalente und trivalente festgestellt. Die zytologischen Eigenschaften hexaploider Kreuzungen dieser Arten wurde bereits in Kapitel 2.2.1 erörtert.

Bei offiziellen Sortenversuchen von *xFestulolium braunii* in der Schweiz mussten die Pflanzen sehr schlecht bewertet werden und keine der fünf getesteten Sorten konnte empfohlen werden. Im Vergleich zu den Standardsorten der Arten Wiesenschwingel und Bastardweidelgras, schnitten die *Festulolii* vor allem aufgrund ihrer geringen Resistenz gegen Bakterienwelke (*Xanthomonas translucens* pv. *graminis*) unter dem erwarteten Niveau ab. Sekundäre Effekte der Bakterienwelke waren, in Folge des schwächeren Wuchses bis hin zum Ausfall der Pflanzen, beispielsweise ein erhöhter Unkrautbesatz durch lückige Bestände und ein verringerter Trockenmasseertrag. Es wurde vermutet, dass die Anfälligkeit von dem Welschen Weidelgras Elter stammte. Eines der Ziele war eigentlich, durch die Züchtung die Resistenz gegenüber dieser Krankheit aus dem Wiesenschwingel-Elter zu übernehmen (SUTER *et al.*, 2007).

2.3.2. *Festuca arundinacea*

Nach DIETL *et al.* (1998) wurde dieser Bastard als *xFestulolium krasanii* Jirásek bezeichnet. Im Vordergrund bei der Kreuzung dieser beiden Arten stand die Einkreuzung der Trockenheitstoleranz von *F. arundinacea* (Rohrschwingel, Fa) in *L. multiflorum* (Welsches Weidelgras, Lm). Dieses Merkmal konnte darauf zurückgeführt werden, dass Fa unter leichter Trockenheit die Plastizität des Zellstreckungsgewebes im jungen Blatt besser aufrechterhalten konnte. Bei starker Trockenheit wurde festgestellt, dass Fa bei der Erhaltung grüner Blatteile Vorteile hatte (HUMPHREYS *et al.*, 1997). Nachteilige Eigenschaften des Rohrschwingels, der ein sehr hartes Gras war, war der hohe Blattfasergehalt und die daraus folgende verringerte Verdaulichkeit und Schmackhaftigkeit (ZARE *et al.*, 2002). Durch Kreuzung des tetraploiden Welschen Weidelgrases mit hexaploiden Rohrschwingel entstand ein pentaploider Hybride (HUMPHREYS *et al.*, 1997). Probleme bei der Züchtung amphiploider Hybriden dieser Art waren die genetische Instabilität, langsame Keimung und langsame Jugendentwicklung (THOMAS & HUMPHREYS, 1991 zusammengefasst bei ZARE *et al.*, 2002). HUMPHREYS & GHESQUIÈRE (1994 zusammengefasst bei ZARE *et al.*, 2002) zeigten, dass es möglich war, Gene aus allen Rohrschwingel Genomen auf Welsches Weidelgras zu übertragen, indem man den Hybriden als Pollenelter nutzte. HUMPHREYS *et al.* (1997) konnte durch GISH-Analysen nachweisen, dass bei Hybriden mit gesteigerter Trockenheitstoleranz, Gene aus dem *F. pratensis* Subgenom des Rohrschwingels in den längeren Arm des Chromosoms 2 von Lm integriert worden

waren. Da bei der Kombination *F. arundinacea* und *L. perenne* auch die negativen Eigenschaften des Rohrschwingels zum Tragen kamen, bearbeitete ZARE *et al.* (2002) diese Hybriden mit Androgenese, um die Variabilität sichtbar zu machen und war sehr erfolgreich damit. Der Erfolg der Antherenkultur war stark abhängig vom Entwicklungsstadium der Pollen, Genotyp, Vorbehandlung und Medium. Die Pflanzen, die aus der Antherenkultur entstanden, hatten meist 14, 21 oder 28 Chromosomen. Am tolerantesten gegenüber Kälte waren diejenigen mit 21 Chromosomen. Es gab keine Anhaltspunkte einer spontanen Aufdopplung der Chromosomensätze. Pentaploide aus Androgenese Pflanzen entstanden aus unreduzierten Gameten. Die Variationen innerhalb der entstandenen Population, die in einem Feldversuch des Institute of Grassland and Environmental Research (IGER), Aberystwyth, UK ausgepflanzt wurden, beschränkten sich auf Pflanzenhöhe, Anzahl der Bestockungstriebe, Rollen der Blattanlage, Öffnung der Blattscheide, Blattlänge, -breite, Zeitpunkt Ährenschieben und Trockenmasseproduktion. Welsches Weidelgras bildete mehr Trockenmasse als alle androgenen Pflanzen und Rohrschwengel. Einige Hybriden übertrafen *F. arundinacea*. Sogar Welsches Weidelgras wurde von der pentaploiden Hybride übertroffen. Auch in Bezug auf Trockenheitstoleranz hatten zwar einige androgene Pflanzen guten Ertrag, aber keine konnte die pentaploide Hybride übertreffen. Eine Korrelation zwischen Variabilität der Chromosomenstruktur und phänotypischen Eigenschaften war zu vermuten. Eine andere Quelle war möglicherweise die somaklonale Variation, die bei Gewebekulturen entstehen kann. Insgesamt war die Androgenese, zumindest für diese Artbastarde, eine Möglichkeit unerwünschter Eigenschaften in diesem *Festulolium* zu eliminieren (ZARE *et al.*, 2002).

Die BC1 von *F. arundinacea* untersuchte KOPECKÝ *et al.* (2006) mit GISH. Die Chromosomenzahl schwankte zwischen 38 und 42. Alle Nachkommen wurden als hexaploid identifiziert ($2n = 6x = 42$), so dass es zu Chromosomenverlusten gekommen sein musste. Wie erwartet war der Genomanteil von *F. arundinacea* größer als der von *L. multiflorum*. Die Anzahl von Rekombinationsbruchstellen war ungefähr zwei pro rekombiniertem Chromosom. Bei der Rückkreuzung mit *L. multiflorum* war der *Lolium* Anteil am Genom höher. Teilweise konnten Pflanzen festgestellt werden, die gar keine *Festuca* Chromosomen mehr besaßen.

Die zwei zugelassenen *Festulolium*-Sorten vom Rohrschwengel-Typ waren Hykor ($2n=6x=42$) und Felina ($2n=6x=42$). Sie fanden in Tschechien sowohl in Klee-gras-Mischungen als auch in Dauergrünland zur Weidenutzung oder Heuproduktion Verwendung. Sie zeichneten sich durch guten Ertrag und Ausdauer aus. Da Rohrschwengel über ein tiefergreifendes Wurzelsystem verfügten, wiesen Felina und Hykor eine erhöhte Trockenheits- und Nässetoleranz auf (CERNOCH *et al.*, 2004). Unter

den kühlen Bedingungen in Norwegen wies Hykor die höchsten Gehalte an NDF (Neutral-Detergent-Fiber), Trockenmasseertrag und Blatt/Sproß-Verhältnis auf (ØSTREM & LARSEN, 2010). NDF wurde definiert als „organische Fraktion des Futtermittels – abgesehen von Rohasche – welche unverdaulich ist und Platz im Magen-Darm-Trakt einnimmt“ (AMPUERO KRAGTEN, 2008). Verglichen wurde Hykor mit der tetraploide LmFp Sorte Felopa und di- sowie tetraploiden LpFp Sorten, die noch nicht zugelassen worden waren, sowie einem tetraploiden Lp, Fp und Wiesenlieschgras. Bezüglich des NDF Gehalts war Hykor nur mit der Wiesenlieschgras-Sorte Grindstad vergleichbar.

Im Bereich dieser Gattungskreuzung gab es auch 8x amphiploide, die durch Aufdopplung der Chromosomensätze von tetraploiden Hybriden entstanden waren. Die Chromosomenzahl war nicht stabil, so dass sie sich über einige Generationen zu hexaploiden Pflanzen entwickelten (BUCKNER *et al.*, 1961; ZWIERZYKOWSKI, 1980; KLEIJER, 1984 aus GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b).

FOJTIK (1994 aus GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b) versuchte Introgression in beide parentalen Spezies auf Basis derer tetraploider Filialgeneration. Aus dem Rückkreuzungsprogramm in tetraploides *L. multiflorum* konnten vier Sorten Zulassung erhalten. In den Sorten Lofa und Bečva konnte mittels GISH kein *Festuca*-Chromatin festgestellt werden (GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b). Bei reziproken Züchtungsprogrammen, also Introgression in *F. arundinacea*, konnten in der Sorte Lesana bis zu 7,5 vollständige *Lolium* Chromosomen identifiziert werden bzw. über 10 translozierte Chromosomen in Hykor (KOPECKÝ *et al.*, 2006). Bei Untersuchungen bezüglich der Winterhärte wurde festgestellt, dass Hykor und Felina gegenüber Felopa und Perun, die von *F. pratensis* abstammen, besser abschnitten (ØSTREM & LARSEN, 2008). Bei japanischen Untersuchungen wurde Felina als Sorte mit der besten Toleranz bezüglich sommerlichen Stresses festgestellt (USHIYAMA *et al.*, 2004 aus GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b). Als Grund wurde aufgeführt, dass im Genom von Rohrschwengel durch den bereits amphiploiden Charakter aus *F. pratensis* und *F. arundinacea* var. *glaucescens* eine größere Variabilität vorhanden war, Gene gegen abiotischen Stress also kumuliert auftraten. KOPECKÝ *et al.* (2006 aus GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b) bestätigte eine bessere Verteilung des *Festuca* Chromatins in *F. arundinacea* Hybriden, als bei der Züchtung mit *F. pratensis*. Allerdings schien eine Kombination der Genome für die Überlegenheit der *F. arundinacea* Abkömmlinge nötig zu sein (GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b).

Ein Problem von Fa war die Schmachhaftigkeit und Verdaulichkeit. Durch die Hybridisierung mit *Lolium* ssp. konnten diese Merkmale verbessert werden. BUCKNER *et al.* (1979) stellte eine positive Korrelation zwischen Sukkulenz der Pflanze und Schmachhaftigkeit fest. Sorten, die toleranter gegenüber Sommertrockenheit waren,

wurden im Vergleich zu anderen Fa Hybriden bevorzugt verzehrt (BUCKNER *et al.*, 1979; GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b).

Die mangelhafte Fertilität von *Festulolium* Sorten schränkte die Vermarktung in den 1980er Jahren ein. Inzwischen konnten sich die Sorten am Markt etablieren. Bečva und Lofa wiesen den konstantesten und höchsten Samenertrag auf (GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b).

2.4. Weitere intergenerische Hybridisierungen

2.4.1. *Lolium ssp. x Festuca glaucescens*

KOPECKÝ *et al.* (2006) untersuchte Kreuzungen zwischen *L. multiflorum* und *F. glaucescens* ($2n=4x=28$). 2007 und 2008 wurden drei neue amphitetraploide *Festulolii* (Lueur, Lusilium und Luxane) in Frankreich zugelassen, deren Ursprungselter *F. glaucescens* (Fg) und *L. multiflorum* waren. Als positive Eigenschaften von Fg wurde seine hohe Trockenheitstoleranz bedingt durch ein tiefes Wurzelsystem aufgeführt. Zusätzlich hatte es die Fähigkeit bei zu starker Trockenheit in Quieszenz zu fallen (GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b; HUMPHREYS *et al.*, 1997). Dem Weidelgras sollte somit die Fähigkeit übertragen werden Wasser aus tiefen Bodenschichten aufzunehmen und Trockenperioden zu überdauern. Zuchtziele waren die Merkmale Ausdauer, Ertrag und Qualität. Es zeigte sich, dass bei der Meiose die Paarung homologer Chromosomen, also die Ausbildung von Bivalenten, dominierte. Daraus resultierte eine hohe phänotypische Stabilität der neuen Sorte. Ein negativer Aspekt war, dass der Verwandtschaftsgrad der beiden Eltern geringer war als beispielsweise der von *L. multiflorum* und *F. pratensis* und somit auf eine eingeschränkte Fertilität schließen ließ. Im Vergleich mit bereits registrierten *Festulolium*-Sorten mit *F. pratensis* Abstammung, zeigten sich in Bezug auf die Saatgutproduktion keine signifikanten Unterschiede. Es wurde jedoch angemerkt, dass die *Festuca*-Vergleichssorten relativ niedrige Erträge, aufgrund zu später Aussaat und mangelnder Vernalisation hatten. Die tetraploide Sorte des Welschen Weidelgrases Tonyl brachte mit 12,3dt/ha den höchsten Saatgut-Ertrag nach Feindrusch. Der Saatgutertrag der übrigen Versuchsglieder ist in Tab. 5 (siehe Anhang) aufgeführt

Die neue Sorte Lueur lieferte trotz geringer Neigung zu zweitem Ährenschieben einen sehr guten Saatgutertrag. Generell ließ sich sagen, dass die Fertilität mit jeder Generation zunahm. Eine sprunghafte Verbesserung innerhalb einer Generation wurde nicht festgestellt, woraus eine geringe Heritabilität der Fertilität abgeleitet wurde. Massenselektion war deshalb weniger geeignet als Reselektion über die

Nachkommen. Ein sichtbarer Selektionserfolg sollte sich vor allem bei Beobachtung der BC1 einstellen (GHESQUIÈRE & BOURGOIN, 2010). Bei Untersuchungen stellte sich heraus, dass das *Lolium* Genom quantitativ dominierte, ähnlich wie bei der *L. multiflorum* x *F. pratensis* Kreuzung, jedoch in geringerem Ausmaß. Die Anzahl der translozierten Chromosomen war signifikant geringer als bei Lm x Fp Kreuzungen (KOPECKÝ *et al.*, 2006). Wahre amphiploide Nachkommen aus Fg und Lm Kreuzungen entstanden nur durch Chromosomenaufdopplung der Elternpflanzen. Phänotypisch ähnelten sie tetraploiden Hybriden. Allerdings war die genomische Struktur ebenso instabil wie octoploide FaLm Kreuzungen (GHESQUIÈRE *et al.*, 1994 aus GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b). Die Sorte Lueur wies die stabilste Genombalance aller bis dahin zugelassenen und untersuchten Sorten auf. Alle anderen amphiploiden Sorten mit Ursprungselter *F. pratensis* reduzierten ihren *Festuca* Genom-Anteil über die Generationen (GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b).

Die Kreuzung zwischen *L. perenne* und *F. glaucescens* war ebenfalls erfolgreich. Aufgrund zu geringer Fertilität wurde von Zuchtprogrammen abgesehen (ZWIERZYKOWSKI & ZWIERZYKOWSKA, 1994 aus GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b). *F. arundinacea* selbst ist eine amphiploide Spezies, die sich aus den Genomen von *F. pratensis* und *F. arundinacea* var. *glaucescens* entstand. Chiasmata fanden innerhalb des *F. arundinacea* Genoms mit höherer Frequenz zwischen *Lolium* und dem *F. pratensis* Subgenom statt, als mit dem *F. arundinacea* var. *glaucescens*. Es wurde vermutet, dass sich Gene für Kälte- und Trockenheitstoleranz vermutlich auf beiden Subgenomen finden (HUMPHREYS & GHESQUIÈRE, 1994; GHESQUIÈRE *et al.*, 2000 zusammengefasst bei GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b). Im Gegensatz zu *F. arundinacea* Hybriden wiesen *F. arundinacea* var. *glaucescens* Hybriden eine geringere Winterhärte bei kontinentalen Klima auf, als Kreuzungen aus *F. pratensis* und *Lolium* ssp. Vorteile hatten die Fg Hybriden, z. B. die Sorte Lusilium, bei ozeanischen Klima und Sommertrockenheit. Die Evaluierung von Ertrag und Persistenz fiel positiver aus als bei Fp Hybriden (GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b). Wichtiges Selektionsmerkmal bei der Sorte Lusilium (Lm x Fg) war die Verdaulichkeit, die sich zwischen Lm und Fa bewegt. MISSI-BAKOUR *et al.* (2010) wählte aus einer Anfangsmenge von 47 EST-SSR und STS allgemeinen Marker 12 mit 2 Primerkombinationen, die zur Analyse von Fg x Lm *Festulolii* geeignet waren. Die Unterscheidung zwischen amphiploiden und durch Introgression entstandenen Hybriden war anhand dieser Analysemethode möglich. Die Spezifität war gegenüber der GISH-Analyse wesentlich größer.

2.4.2. *Festuca pratensis x Lolium rigidum sens. ampl.*

Bei der Bestäubung mit Wiesenschwingel wurde zwar die Bildung von Körnern angeregt, meist wurde aber weder Embryo noch Endosperm entdeckt. Drei Körner begannen zu keimen, die sich zu lebensfähigen Pflanzen entwickelten. Vermutlich fand bei diesen eine Vor-Bestäubung mit *Lolium* statt. Die reziproke Kreuzung wurde nicht versucht (JENKIN, 1955b).

2.4.3. *Festuca pratensis x Lolium temulentum*

Bei dieser Kreuzung war der Kornansatz bei der Wiesenschwingel-Mutter hoch. Die Karyopsen waren gut entwickelt, ähnlich wie bei Fp x Lp Kreuzungen. Dennoch wurde keine Keimung festgestellt, da zwar Embryonen vorhanden waren, jedoch kein Endosperm. Der Kornansatz war auch bei *L. temulentum* (Taumel-Lolch) als Mutter relativ hoch (50%). Die Karyopsen waren schlechter entwickelt als bei der reziproken Kreuzung. Es wurde lediglich ein keimende Karyopse beobachtet. Bei den Restlichen konnten meist zumindest Spuren von Endosperm gefunden werden. Im Prinzip waren diese Arten also in beide Richtungen kreuzbar (JENKIN, 1955b).

2.4.4. *Festuca pratensis x Lolium remotum*

Die Ergebnisse, die JENKIN (1955b) beschrieb, wichen nicht von denen der Kreuzung *F. pratensis x L. temulentum* ab. Allerdings waren die Versuche nicht sehr umfangreich und die Bedingungen während der Bestäubung schlecht. Der Kornansatz war mit knapp 12% gering und die Karyopsen leer. Nichtsdestotrotz konnte die Keimung einiger Früchte beobachtet werden.

2.4.5. *Lolium loliaceum x Festuca pratensis*

Die Karyopsen bei dieser Kreuzung mit *L. loliaceum* als Pollenspender entwickelten sich wie bei Fp x Lp Kreuzungen. Embryonen wurden zwar gebildet, starben aber ab bevor sie keimen konnten. Aus Kreuzungen mit *F. pratensis* auf der Vaterseite konnten hingegen Nachkommen etabliert werden. Der Einfluss von *L. loliaceum* als Mutter war deutlich erkennbar Die Bastarde waren jedoch mehrjährig. Bei der Lp x Fp Kreuzung war ganz im Gegenteil dazu das Endosperm gut entwickelt, aber keine Embryonen auffindbar. Der deutlichste Unterschied war das Verhältnis von bestäubten Blüten zu etablierten Pflanzen. Bei der Lp x Fp Kreuzung wurden 2046 Blüten bestäubt und eine Pflanze konnte sich entwickeln. Im anderen Fall waren nur 344 bestäubte

Blütchen nötig um 14 Nachkommen zu erzeugen. Die Bestäubung von Wiesenschwingel war also mit *L. loliaceum* erfolgreicher als mit *L. perenne*, obwohl Letzteres Wiesenschwingel ähnlicher war (JENKIN, 1955b).

2.4.6. *Lolium loliaceum* x *Festuca arundinacea*

Obwohl nur wenige Blütchen von *L. loliaceum* bestäubt wurden, konnte ein Kornansatz von 56,6% und eine Keimung von 82,7% beobachtet werden. Die Ergebnisse waren vergleichbar mit der Kreuzung Lp x Fa. Die Nachkommen waren nicht einjährig und etwas kleiner als die Rohrschwingel-Linie, aus der der Vater stammte. Die Ähren waren stark verzweigt und ähnelten den Lp x Fa Nachkommen. Die Ährchen waren lockerer und länger als für die Weidelgräser typisch. Die männliche Sterilität wurde rein an optischen Merkmalen festgemacht. Die weibliche Fertilität wurde nicht getestet. Ebenso wenig eine reziproke Kreuzung der Eltern (JENKIN, 1955b).

2.4.7. *Lolium ssp.* x *F. capillata*

JENKIN (1955c) versuchte verschiedene *Lolium ssp.* mit *F. capillata* (*F. amethystina*, *F. ovina tenuifolia*, Feinschwingel), beheimatet im subozeanischen Gebiet, zu kreuzen. *F. capillata* war viel kleiner, feiner und produzierte kleinere Samen als die anderen Schafschwingel-Arten, zu deren Unterart er gehörte (FISCHER & LÜTKE ENTRUP, 1978). Durch Kreuzung mit Lp konnten die Fruchtknoten stimuliert werden, bei *Lolium rigidum* entwickelten sich Karyopsen mit Embryonen. Eine Keimung konnte nicht beobachtet werden. Bei dem Versuch der Kreuzung mit *L. loliaceum* entstand eine schwache F1, die nicht weiter vermehrt werden konnte, da die Hybriden sowohl männlich als auch weiblich steril waren. All diese Kreuzungen waren in der Natur aufgrund zu unterschiedlichen Verbreitungsgebieten unwahrscheinlich. JENKIN (1955c) schloss aus seinen Kreuzungsversuchen, dass *F. pratensis* und *Lolium ssp.* sich phylogenetisch näher liegen als *F. pratensis* und feinblättrige Schwingel-Arten. Es ist nötig hier anzufügen, dass *L. loliaceum* und *L. rigidum* bei TERRELL (1968) zu einer Art zusammengefügt wurden. Die Unterschiede im Befruchtungserfolg waren deshalb hier wohl eher auf die Eigenschaften der spezifischen Pflanzen zurückzuführen.

2.5. Triploide Hybriden

PETO (1933) untersuchte ebenfalls Kreuzungen der Art *F. pratensis* x (*L. perenne* x *L. multiflorum*). Es handelt sich also um Hybriden deren Vater eine intervarietale

Kreuzung war. Als diese F1-Pflanze mit *L. perenne* rückgekreuzt wurde, hatte die entstandene BC1Lp wesentlich mehr fertilen Pollen als die BC1 der Rückkreuzung mit *F. pratensis*. Er führte die Pollensterilität nicht auf Fehler während der Tetradenbildung in der Prophase der Meiose zurück, sondern auf eine Degeneration, die zwischen der Anlagerung der Chromosomen und der Pollenreifung stattfinden musste. Die Meiose der BC1Fp hatte mehr Unregelmäßigkeiten als die BC1Lp. In einigen Mutterzellen wurden bis zu 7 Zellkerne gefunden. Grund hierfür war möglicherweise ein Defekt in der Zellwandbildung in den letzten zwei bis drei somatischen Teilungen des Sporengewebes. Ebenfalls beobachtet wurde das Fehlen einer Spindel. Diese zwei Defekte führten zu einer erhöhten Chromosomenzahl der Pollen. Es konnte auch beobachtet werden, dass Chromosomenteile während der Zellteilung isoliert und aus dem Zellkern ausgeschlossen wurden (PETO, 1933; JAUHAR, 1975). Weitere Unregelmäßigkeiten waren die Teilung von Univalenten während der Anaphase, der Mikronuklei während der Telophase und Tetraden, sowie Rückbildungen des Zellkerns, ungleichmäßige Anzahl der Chromosomen (Mosaikstruktur) und hohe Anzahl an Tetraden (JAUHAR, 1975). Durch die missgebildeten Zellwände der Sporen wurde die Anthere nicht richtig ausgebildet, was einen größeren Effekt auf die Sterilität hatte als die Degeneration der Sporen an sich. Man stellte fest, dass von allen bis dahin bekannten intergenerischen Kreuzungen, also auch Getreidearten untereinander, die diploide Kreuzung *L. perenne* x *F. pratensis*, sowie *F. pratensis* x (*L. perenne* x *L. multiflorum*) als einzige perfekte Paarung der elterlichen Chromosomen während der Meiose zeigten. Da diese Paarung möglich war, musste angenommen werden, dass die elterlichen Chromosomen zumindest teilweise genetisch homolog waren (PETO, 1933), auch weil sich alle untersuchten auto-allotriploiden Pflanzen bezüglich ihrer Meiose wie autotriploide Pflanzen verhielten. Allerdings wurde beobachtet, dass die Anzahl der Tetraden bei Lp FpFp und Lm FpFp geringer war als bei triploiden, deren Schwerpunkt auf dem *Lolium*-Genom lag. Vermutlich lag dies daran, dass die Fp Chromosomen etwas größer waren, als die von *Lolium*. Die *Festuca* und *Lolium* Chromosomen paarten sich nichts desto trotz und waren teilweise heteromorph. Die Häufigkeit von Chiasmata war sogar höher. Die Pollenfertilität war aufgrund des Fehlens der Antherendehiszenz niedrig. Bei allen auto-allotriploiden dominierte die Paarung der Chromosomen der gleichen Spezies, also Lp mit Lp, Fp mit Fp und so weiter. Das dritte fremde aber homöologe Chromosom lagerte sich meist an diese Bivalente an um Trivalente zu bilden. Es konnten kaum Unterschiede bezüglich der Affinität zu homologen Chromosomen zwischen Fp LpLp und Fp LmLm detektiert werden. Interessanterweise konnte die Pollenfertilität durch die Existenz des zweiten

Lolium-Genoms im Vergleich zu den diploiden intergenerischen Kreuzungen erhöht werden (JAUHAR, 1975).

JAUHAR (1975) beschrieb die Meiose in Hybriden, die drei verschiedene Genome haben (LpFp Lm, LmFp Lp, Lm LpFp), als analog zu den von autotriploiden Zellen. Am häufigsten waren trivalente Formationen zu erkennen. Auch Konfigurationen, die größer als trivalente waren, wurden detektiert. Die Chiasmata-Frequenz deutete darauf hin, dass die Fähigkeit der Chromosomen sich zu paaren gut war.

2.6. Zusammenfassung der Literaturrecherche

Die Literaturrecherche lässt sich folgendermaßen zusammenfassen. Aus jeder *Lolium* ssp. x *Festuca* ssp. Kreuzung ließ sich eine F1 erstellen. Durch Verwendung von „Embryo Rescue“ verbesserte sich der Kreuzungserfolg, da ein wesentliches Problem der intergenerischen Kreuzung das Fehlen von Endosperm war. Diese F1 war bei diploiden Ausgangseltern steril. Durch Chromosomenaufdopplung ließ sich die Fertilität in der ersten Generation wieder herstellen. Die Fertilität wurde auch durch Rückkreuzung mit *L. perenne* wieder hergestellt. Bei der Rückkreuzung mit *F. pratensis* wurden bisher nur wenige Erfolge erzielt (NITZSCHE *et al.*, 1985). Die genomische Struktur von *Festulolium* schwankte stark. Bei Kreuzungen innerhalb der *Festulolii* wurde das *Festuca* Genom zugunsten des *Lolium* Genoms eliminiert. Eine konstante Genomstruktur erreichte man nur durch Introgressionszüchtung. Das heißt, die Rückkreuzung der F1 mit einem der Eltern. *Festuca* und *Lolium* Chromosome wiesen Rekombinationen auf, es waren also homöologe Chromosomen vorhanden, so dass neue Genkombinationen während der Meiose entstanden. Das Problem des Saatgutertrags in bestehenden Sorten hatte sich durch Züchtung auf Saatgutertrag inzwischen relativiert. Je nach Zuchtziel wurde Welsches oder Deutsches Weidelgras mit *Festuca* ssp. gekreuzt. Für Winterhärte war dies der Wiesenschwingel, für Trockenheitsresistenz *F. arundinacea* oder *F. glaucescens*. Allen *Festuca* ssp. wurde eine erhöhte Resistenz gegenüber biotischen Stressoren zugeschrieben.

Die meisten der zur Verfügung stehenden Sorten waren amphiploid. Bisher gab es nur eine diploide Sorte (Matrix aus Neuseeland) des Typs Lp x Fp, die jedoch in Lp rückgekreuzt wurde. Eine diploide *Festulolium* Sorte, die in Fp rückgekreuzt wurde, stand noch nicht zur Verfügung. Da das *Lolium* Genom gegenüber dem *Festuca* Genom dominant war, ist es wahrscheinlich, dass sich dieses auch über mehrere Generationen der Rückkreuzung in der Population hält und ein wüchsigerer und schnittverträglicherer Wiesenschwingel daraus entstehen kann.

Intentionen aktueller Züchtungsprogramme bei der Hybridisierung von Wiesenschwingel und Deutschem Weidelgras, waren die Qualitätsverbesserung bei Wiesenschwingel oder das Potenzieren der Winterhärte bei Deutschem Weidelgras (GHESQUIÈRE *et al.*, 2010b).

3. Material und Methoden

3.1. Versuchsstandorte

Für die Klon- und Einzelpflanzenbeobachtungen standen Versuchsflächen an unterschiedlichen Standorten zur Verfügung. Ein Beet für Pflanzungen befand sich innerhalb der Gemeinde Freising in unmittelbarer Nähe zur bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft. Weitere Versuchsflächen waren südöstlich von Freising in der Nähe der Gemeinde Pulling im Landkreis Freising zu finden. Je nach Lage in Pulling wurden die Schläge als „Schlüter“ oder „Pulling“ bezeichnet. Es herrscht kontinentales Klima mit heißen Sommern und kalten Wintern vor. Weitere Bodendaten sind in Tab. 1 aufgeführt (INTERNE UNTERSUCHUNGEN BAYERISCHE LANDESANSTALT FÜR WEINBAU UND GARTENBAU, 2005 und 2007; AMT FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND FORSTEN ERDING, 2011; FREISING, 2011; LFL, 2010).

Tab. 1: Bodendaten der Versuchsflächen in Freising und Pulling (INTERNE UNTERSUCHUNGEN BAYERISCHE LANDESANSTALT FÜR WEINBAU UND GARTENBAU, 2005 und 2007; AMT FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND FORSTEN ERDING, 2011; FREISING, 2011; LFL, 2010).

	Labor	Schlüter 13/3	Pulling 6
Bodenart	Lehm	Toniger Lehm	Toniger Lehm
K ₂ O (mg/100g Boden)	18	2	7
P ₂ O ₅ (mg/100g Boden)	24	15	11
pH	6,9	7,6	7,4
Jahrestemp. Ø (°C)	7,7	7,7	7,7
Jahresniederschlag Ø (mm)	814	814	814
m ü. NN	450	450	450
Geograph. Lage	Ober-bayerisches Tertiärhügelland	Freisinger Moos der Münchener Schotterebene	Freisinger Moos der Münchener Schotterebene
Vegetationsdauer Tagesmittel über 5 °C (d)	180-200	180-200	180-200
Vegetationsdauer Tagesmittel über 10 °C (d)	140-150	140-150	140-150

3.2. Methodik der Kreuzungen

Im Jahr 2005 begann man an der LfL die Gattungsbastardisierung zur Erweiterung der genetischen Variabilität bei Gräsern zu etablieren. Aufgrund des zu bearbeitenden Genpools konzentrierte man sich zu Beginn auf Kreuzungen von diploidem Deutschen Weidelgras mit diploidem Wiesenschwingel. Eine Übersicht der verwendeten Sorten findet sich im Anhang (Tab. 6 und Tab. 7). Es wurden verschiedene Methoden auf ihre Eignung unter den Rahmenbedingungen in der Arbeitsgruppe geprüft. Zunächst griff man dazu auf Sortenmaterial des Beobachtungssortiments zurück, da noch keine Pflanzen speziell für den *Festulolium*-Zuchtgang vernalisiert und angebaut worden waren. Nach der grundsätzlichen Etablierung der Methode, die bei gegebenen Personalaufwand die höchste und sicherste Zahl an Kreuzungsprodukten ergab, wurde nur bei mangelnder Pflanzenverfügbarkeit 2007 und 2008 auf Material aus dem Beobachtungssortiment zurückgegriffen. Im Jahr 2006 wurden aufgrund eines Mitarbeiterwechsels keine Kreuzungen durchgeführt.

Aktuell wird folgende Methode verwendet:

Einzelne im Freiland vernalisierte Mutterpflanzen wurden im April, vor dem Ährenschieben, aus dem Zuchtgarten ausgegraben und ins Gewächshaus umgepflanzt. Hier konnte der Zeitpunkt der Blüte je nach Bedarf vorgezogen oder verzögert werden. Das heißt, die Blühzeitpunkte der beiden Elternpflanzen wurden synchronisiert. Das war nötig, da die verwendeten Sorten des Deutschen Weidelgrases aus allen Reifegruppen stammten und damit für das Merkmal „Zeitpunkt Ährenschieben“ einen Zeitraum von etwa 5 Wochen abdeckten, während die Variabilität bei Wiesenschwingel für dieses Merkmal deutlich geringer war. Laut Register BSA betrug diese für die Masse der Sorten lediglich 6 Tage. Erst mit der Zulassung der Sorte Kolumbus wurde diese Spanne 2004 auf 12 Tage ausgeweitet (BUNDESSORTENAMT, 2009). Der Zeitraum für das Ährenschieben bei Wiesenschwingel deckte sich somit bei den meisten Sorten mit dem Zeitraum der Weidelgrassorten mit der Einstufung „früh“ bzw. „früh bis mittel“. Auf Grund der kompakteren Ährenform, die eine leichtere und sichere Kastration versprach, wurde im Regelfall Deutsches Weidelgras als Mutterpflanze verwendet. Im Jahr 2011 wurde erstmals die Eignung von Wiesenschwingel in Bezug auf praktische Handhabbarkeit als Mutterpflanze geprüft. Von Interesse war auch die Frage, ob evtl. maternale Effekte am verwendeten Material beobachtet werden können.

Kurz vor der Blüte wurden die Ähren oder Rispen kastriert. Mit Hilfe einer Pinzette wurden pro Blütchen drei Antheren entfernt. Der optimale Zeitpunkt für die Kastration war kurz vor dem Austritt der Antheren aus den Blütchen. Kastrierte Ähren oder Rispen

wurden mit Papiertüten isoliert, fixiert und fortlaufend nummeriert. Ein bis zwei Tage nach der Kastration waren im Idealfall die Narbenfäden deutlich zu erkennen und es konnte bestäubt werden. Eine Ähre des Deutschen Weidelgrases war, durch die überschaubare Anzahl Blütchen pro Ähre, schneller zu kastrieren als die Doppeltrauben des Wiesenschwingels, so dass Lp als Mutterpflanze bevorzugt wurde. Die Pollenspender blühten an einem windstillen Ort. Kurz vor der Blüte wurden 20 Ähren oder Rispen pro Pflanzen abgeschnitten und in Wasser gefüllte Gefäße gestellt. Dadurch ging der Pollen nicht vor der Bestäubung verloren. Der Blühzeitpunkt wurde durch den Stress des Abschneidens und die starke Temperaturerhöhung stark vorgezogen.

Zur Bestäubung wurden die Isoliertütchen von den Ähren oder Rispen entfernt und der Pollen des jeweiligen Elters darüber gestäubt. Aus Gründen der Blühbiologie wurde dies an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen wiederholt. Nicht alle Blütchen einer Ähre blühten gleichzeitig. Nach Möglichkeit wurde pro Ähre bzw. Rispe immer dieselbe Vaterpflanze verwendet. War dies nicht möglich, griff man auf eine andere Pflanze der gleichen Sorte zurück. Nach der Bestäubung werden die Ähren oder Rispen wieder mit Papiertütchen isoliert. Ob der Bestäubung eine Befruchtung folgte, war durch das Einziehen der Narbenfäden zu erkennen, ungefähr zwei Tage nach der ersten Bestäubung. Zu diesem Zeitpunkt wurde eine Dicamba-Lösung (Hormon-Lösung) in den Halm gespritzt (Zusammensetzung siehe Anhang Tab. 10). Der Einstich erfolgte kurz über dem letzten Halmknoten. Eine weitere Einstichstelle wurde direkt unter dem basalen Ährchen gesetzt. So wurde die erfolgreiche Injektion der Flüssigkeit überprüft. Mit Vaseline wurden die verletzte Stellen des Halmes verschlossen, um das Absterben des Triebes zu verhindern. Die Hormonlösung förderte die Entwicklung von Embryonen. In vorbereiteten Listen wurde der Name der Mutter, die Ährennummer, das Datum der Bestäubung, die Väter, das Datum an dem die Hormonlösung verabreicht wurde, das Datum des „Embryo Rescue“ sowie Anzahl der Körner und Embryonen notiert.

In den Isoliertütchen begannen sich Körner zu bilden. Es folgte das „Embryo Rescue“. Zwei Wochen nach der Bestäubung schnitt man die Ähren oder Rispen ab und extrahierte die Körner aus den Blütchen. Die Körner wurden desinfiziert und unter dem Binokular auf Embryonen überprüft. Falls vorhanden, wurde der Embryo aus dem distalen Bereich des Kornes herausgeschnitten. Erleichtert wurde dieser Vorgang durch das wässrige Endosperm. Körner, die Mehlkörper gebildet hatten, wurden bei der Herstellung von F1-Pflanzen als Selbstung aussortiert. Durch die „seed incompatibility“ zwischen *Festuca* und *Lolium* wurde davon ausgegangen, dass es zu keiner doppelten Befruchtung kommt. Das heißt der Spermakern verschmolz nicht mit dem diploiden

Embryosackkern zum triploiden Endospermkern und es entstand kein funktionsfähiges Endosperm (BLAICH & STÖSSER, 2011; GYMER & WHITTINGTON, 1973). Bei Rückkreuzungen wurden auch diese Embryonen extrahiert. Die Embryonen wurden in Petrischalen auf Nährmedium (Zusammensetzung: siehe Anhang Tab. 8 und Tab. 9) gesetzt. Die Spross- und Wurzelbildung setzte bei Raumtemperatur und Dunkelheit ein. Nach weiteren Schritten, in denen die Pflänzchen immer wieder umgesetzt wurden, um Hygiene und Nährstoffvorrat zu erhalten und durch Lichteinwirkung Chlorophyll zu bilden, wurden sie zwei Monate nach Rettung des Embryos in Erde gesetzt (Bild 1).



Bild 1: Von rechts nach links: Körner in Desinfektionslösung, Überprüfung der Körner auf Embryonen, Embryonen auf Nährmedium nach 6 Tagen, Pflänzchen seit einem Tag in Licht (LUNENBERG, 2011)

Zum Frühjahr hin wurde jede Pflanze dreifach verklont. Bei Gräsern gestaltete sich die Verklonung einfach, da die Pflanze nur zerteilt werden musste. Diese Einzelklone wurden einzeln unterscheidbar im Zuchtbuch erfasst. Bis dahin wurden alle Nachkommen der Ähre einer Pflanze unter der Nummer der Pflanze und Ähre als Kreuzungsergebnis zusammengefasst.

Die Pflanzen wurden folgendermaßen nummeriert: FEL, Jahr der Kreuzung (z.B. 2010), Name der Mutter (z. B. Ivana 1. Die Ziffer nach der Sorte kennzeichnete die konkret als Mutter verwendete und registrierte Pflanze.), Ährennummer/ Nachkommennummer, Klonnummer (in römischen Schriftzeichen). Die Angabe der Ährennummer war deshalb von Bedeutung, weil die einzelnen Ähren einer Mutterpflanze auf Grund der zeitlich späterliegenden Reife der nachgeordneten Seitentriebe später zu blühen begannen und deshalb oft mit Vätern späterer Reifegruppen bestäubt wurden. Die Beschriftung sah dann beispielsweise folgendermaßen aus:

FEL

2010

Ivana 1

3/1 (1. Nachkomme der dritten Ähre)

II (2. Klon)

Die Klone wurden in Einzelpflanzenbeobachtungen an zwei verschiedenen Standorten in der Umgebung der bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft gepflanzt. Ein Klon verblieb im Gewächshaus, um Ausfälle auf dem Feld nachpflanzen zu können. Der Kreuzungserfolg aus dem Jahr 2005 ging 2008 in die Klonbeobachtung.

Im Jahr 2007 blühten ausgewählte Hybriden der Kreuzung 2005 in Weizenisolationen frei ab. Gleichzeitig versuchte man im Gewächshaus die Rückkreuzung mit Wiesenschwingel durch freies Abblühen zu erreichen. Durch mangelnde Blühsynchronie der Pflanzen war dieses Vorhaben nicht erfolgreich und die Pflanzen blühten ebenfalls frei ab. Aus beiden Versuchen wurde Saatgut geerntet. In den folgenden Jahren ging man zur Erzeugung der Rückkreuzungen wie bei der Herstellung der F1-Pflanzen vor.

Im Jahr 2011 wurden aus arbeitswirtschaftlichen Erwägungen (Optimierung des AK-Bedarfs pro grüner verifizierter Nachkommenpflanze) die FEL, aufgrund der gewonnenen Erfahrung mit der männlichen Sterilität der geplanten Mutterpflanzen, nicht kastriert und direkt in Papiertüten isoliert, mit Wiesenschwingelpollen bestäubt, Dicamba-Lösung gespritzt und die Embryonen extrahiert.

Jede Einzelpflanze war als Klon an zwei Standorten vorhanden und wurde an einem Standort beerntet. Durch häufigen Schnitt wurde der andere Klon zur Erhaltung im vegetativen Stadium gehalten (Vermeidung von Samenwurf in den Klon mit der Gefahr von „Mischhorsten“).

3.3. Methodik der Bestimmung erfolgreicher Kreuzung

Um die Gattungskreuzung zu verifizieren und somit Selbstungen auszuschließen, wurden die Nachkommen mit Hilfe der AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) Technik genetisch analysiert. Jede Probe musste 100mg Blattmaterial umfassen. Pro Pflanze wurden eine A- und eine B-Probe gezogen, die dann gefriergetrocknet und gemahlen wurden. Das Fingerprinting der DNA erfolgte in drei Schritten. (I) Restriktion der DNA und Ligation oligonukleotider Adapter, (II) selektive Amplifikation ausgewählter Restriktionsfragmente, (III) Gelanalyse der amplifizierten Fragmente. Restriktionsfragmente wurden durch selektive PCR mit Hilfe von vier Primerkombinationen amplifiziert (VOS *et al.*, 1995).

Für die GISH-Analyse, die von Dr. David Kopecký durchgeführt wurde, mussten saubere, frische Wurzelspitzen fixiert werden. Insgesamt wurden 60 Pflanzen in der Hydropony, einer Hydrokultur mit spezieller Nährlösung, kultiviert.

Das Substrat in der Pflanzschale war Perlit, um eine ausreichende Durchlüftung zu gewährleisten. Für die Nährlösung wurde eine Stammlösung mit FeEDTA (Ferric

Ethylenediaminetetraacetic Acid) versetzt. Die genaue Zusammensetzung findet sich im Anhang (Tab. 11). Nach einer Woche Wachstum in einer Klimakammer bei 20°C, 14h Tageslicht und 70% Luftfeuchte im Hydropony wurden die neu gebildeten Wurzelspitzen in 2ml Eppendorf Tubes mit destilliertem Wasser überführt. Die Zellaktivität war um die Mittagszeit am größten, weswegen mit der Probennahme um 11Uhr begonnen wurde. Die Tubes wurden bis zum nächsten Tag auf Eis im Kühlschrank (4°C) gelagert. Um 16Uhr wurden die Wurzelspitzen in einer Lösung aus Ethanol (konz. 100%) und Essigsäure (konz. 100%) im Verhältnis 3:1 fixiert. Anschließend verblieben sie eine Woche in einem Klimaschrank bei 37°C.

Zur Unterscheidung der Chromosomen von *Festuca* und *Lolium* wurden die Chromosomen auf einem Objektträger fixiert und mit DNA der Gattung *Lolium* und *Festuca* markiert. Unter dem Mikroskop erschienen die Chromosomen je nach Zugehörigkeit zur jeweiligen Gattung in unterschiedlichen Farben. Da diese Methode nur allgemein zwischen den Gattungen unterschied, konnten einzelne Vaterpflanzen nicht identifiziert werden (SCHWARZACHER *et al.*, 1989; KOPECKÝ *et al.*, 2006; persönliche Komm. D. Kopecký).

3.4. Erhebung der Boniturnoten

Die Bonituren wurden gemäß den „Richtlinien für die Durchführung von landwirtschaftlichen Wertprüfungen und Sortenversuchen“ sowie den „Richtlinien zur Prüfung der Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit“ durchgeführt (BUNDESSORTENAMT, 2000; UPOV, 2002). Die Pflanzen wurden entweder als Einzelpflanze oder in einer Klonbeobachtung bewertet. Das bonitierte Merkmal sowie die jeweilige Abkürzung sind in Tab. 2 aufgeführt.

Tab. 2: Boniturmerkmale mit Abkürzungen

Merkmal	Abkürzung
Ähren/Rispentyp	-
Braunrost	-
Dichtigkeit	DICHT
Gelbrost	-
Mängel nach Winter	MNNWI
Mängel vor Winter	MNVWI
Massenbildung	MB
Massenbildung im Nachwuchs	MB im Nachwuchs, MBNAWUS
Rost	-
Wuchsform	-
Wuchstyp	-
Zeitpunkt Ährenschieben	ZPAESCH

Um auch die Variabilität in F1-Nachkommen, deren Eltern nicht bekannt waren, zu veranschaulichen, wurden Boniturdaten erhoben, die sortenunabhängig waren. Zusätzlich mussten Merkmale gewählt werden, in denen sich *F. pratensis* und *L. perenne* unterschieden. Sie werden im Folgenden erklärt: Im generativen Zustand hatte der Wiesenschwingel eine Doppeltraube und das Deutsche Weidelgras eine Ähre. Bei *Festulolium* trat die komplette Bandbreite dieser Typen wie zum Beispiel Weidelgras-Ähre, eine verzweigte Ähre, gestielte Ährchen oder Wiesenschwingel-Doppeltraube (Bild 2).



Bild 2: Von links nach rechts: Blütenstand Deutsches Weidelgras, *Festulolium*, Wiesenschwingel (LFL, 2006; LUNENBERG, 2011; LFL, 2005).

Für die Unterscheidung von Blatthäutchen und Blattöhrchen waren ein geschultes Auge und viel Erfahrung im Bereich Sortenunterscheidung von Nöten. Daher wurde im Rahmen der Masterarbeit auf diese Bonitur verzichtet.

Die Wuchsform variierte stark zwischen den Sorten des Deutschen Weidelgrases, während bei Wiesenschwingel auf den ersten Blick kaum Variation auftrat. Bei dieser Bonitur wurde der Winkel zwischen den gedachten Senkrechten und den äußeren Trieben bewertet. Die aufrechte Form erhielt die Note 1, die liegende Form eine 9 (siehe Abb. 1). Da es sich um Einzelpflanzen handelte, die durch die Pflanzung etwas erhöht wuchsen, wurde nicht von den ganz äußersten Trieben ausgegangen. Wenn zwei Drittel der Ähre oder Rispe sichtbar waren, wurde der „Zeitpunkt Ährenschieben“ festgehalten.

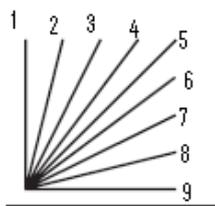


Abb. 1: Boniturskala Wuchsform (verändert nach BUNDESSORTENAMT, 2009)

Da die Ausbeute an Embryonen aus der F1-Generation aufgrund der schlechten Fertilität sehr gering war, wurden Merkmale zur Bestimmung der Fertilität erhoben. Zum einen wurde der Samenertrag von einigen Pflanzungen erfasst. Normalerweise handelte es sich dabei um die Pflanzungen in Pulling. Bei den Pflanzungen am Labor sollten die Einzelpflanzen erhalten bleiben. Zum anderen wurden die Anzahl Embryonen pro entwickelte Körner und Anzahl entwickelter Pflanzen gewertet.

Zusätzlich wurde versucht die männliche Fertilität der Nachkommen zu erfassen. Dazu wurden die Pollen mit Iodkaliumiodid-Lösung (Lugols-Lösung, Zusammensetzung siehe Anhang Tab. 10) angefärbt. Die Antheren mussten kurz vor dem Austritt aus dem Blütchen entfernt und mit einem Lanzettmesserchen in Lugols-Lösung zerquetscht werden. Die Sporen wurden so aus den Antheren herausgedrückt. Färbte sich der einzelne Pollen vollständig dunkel mit der Lösung ein, war dieser fertil. Sichtbar war diese Einfärbung unter dem Mikroskop bei 10 bis 20facher Vergrößerung. Die Lugols-Lösung wies im Prinzip nur das Vorhandensein von Stärke nach. Laut Herrn Baumann von IPZ 1a (Institut der LfL für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Fachbereich Biotechnologie der Pflanzenzüchtung, Arbeitsgruppe Gewebekulturtechnik) bestand bei dieser einfachen Methode eine hohe Korrelation zu genaueren Untersuchungen, die bei Pollenkörnern den vegetativen und zwei halbrunde, sichelförmige spermatogene Kerne unter dem Mikroskop sichtbar machten (persönliche Kommunikation mit Herrn Baumann, IPZ 1a). Bei allen Bonituren wurde die Ausprägung des Merkmals erhoben, das heißt hohe Noten waren z. B. bei der Bonitur MB als positiv, bei der Bonitur ROST als negativ zu bewerten (Tab. 3)

Tab. 3: Bedeutung der Boniturnoten (verändert nach BUNDESSORTENAMT, 2000)

Boniturnote	Ausprägung einer Eigenschaft	Krankheitsbefall
1	fehlend oder sehr gering	fehlend
2	sehr gering bis gering	sehr gering bis gering
3	gering	Gering
4	gering bis mittel	gering bis mittel
5	mittel	Mittel
6	mittel bis stark	mittel bis stark
7	stark	stark
8	stark bis sehr stark	stark bis sehr stark
9	sehr stark	sehr stark

3.5. Statistische Auswertung

Die Daten wurden je nach Struktur entweder mit einer üblichen Varianzanalyse ausgewertet oder ein mixed modell verwendet. Zu Verrechnung wurde SAS in der Version 9.2 verwendet. Für die Bonituren „Massenbildung“ und „Dichtigkeit“ kam die Prozedur „proc mixed“ zum Einsatz, die sowohl die wiederholte Bewertung der Einzelpflanzen innerhalb eines Jahres, als auch verschiedene Bonitur- und Nutzungsjahre mit einbeziehen konnte. Die übrigen Bonituren wurden mit der Prozedur „proc glm“ analysiert. Auch wenn die Standorte „Pulling“ und „Labor“ räumlich nahe lagen, wurden sie als verschiedene Orte gewertet. Bei Vergleichen zwischen Eltern und Nachkommen wurde auf den Standort „Labor“ zurückgegriffen, da sich nur dort Elternpopulationen befanden. Beim Vergleich der Nachkommenschaften untereinander

wurden beide Standorte herangezogen. Der Samenertrag wurde nur an jeweils einem Standort erfasst. Der Kreuzungserfolg 2005 und 2008 wurde am „Labor“ beerntet, während die übrigen Pflanzen am Standort „Pulling“ beerntet wurden. Die geschätzten Prozentzahlen bei der Bonitur der Pollenfertilität wurden vor der Auswertung mit $\sin\sqrt{x}$ transformiert. Da es sich bei der Auswertung der weiblichen und männlichen Fertilität und des Merkmals „Zeitpunkt Ährenschieben“, um jeweils Erhebungen an einem Ort handelte, wurde nur die Variable „Familie“ als Einflussfaktor gewertet. Bei der Auswertung der Krankheitsbonituren wurde der Faktor „Ort“ mit einbezogen. Für die Auswertung der mehrfach wiederholten Bonituren auf Massenbildung und Dichtigkeit wurde jeweils das „mixed modell“ angewendet (siehe Anhang Tab. 12).

4. Ergebnisse

4.1. Genetische Untersuchungen

Bei der AFLP-Analyse des Rückkreuzungserfolgs 2010 konnten bei jedem Nachkommen vier Markerstellen gefunden werden, die sowohl die Rückkreuzung verifizierten als auch den Vater identifizierten. Mit der GISH-Methode konnten die *Festuca* und *Lolium*-Chromosomen unterschiedlich angefärbt werden. Unter den F1-Pflanzen wurden acht Pflanzen als Weidelgräser identifiziert. In den meisten Fällen lieferte die AFLP-Analyse die gleichen Ergebnisse. Ausnahme waren die Pflanzen FEL 26 und FEL 27 (Tubes Nr. 10 und 11) aus dem Kreuzungsjahr 2007. Dabei handelte es sich um NK Niata. Nach Auswertung der AFLP's wurden diese als Kreuzungen identifiziert.

Es wurden zwei BC-Pflanzen aus dem Jahr 2010 und fünf Pflanzen aus dem Jahr 2011 untersucht. Nicht alle Wurzelspitzen wiesen eine ausreichende Qualität auf, um die Untersuchung durchzuführen. Vier der Pflanzen aus 2011 wiesen jedoch mehr *Lolium*- als *Festuca*-Chromosomen auf. Eine Pflanze aus 2010, die analysiert werden konnte, dagegen 8 *Festuca*- und 6 *Lolium*-Chromosomen. Nur bei dieser letzten Pflanze konnte man von einer erfolgreichen Rückkreuzung zu *Festuca* ausgehen. Bei den anderen handelte es sich um Rückkreuzungen zu *Lolium*. Es fand sich eine Pflanze, die nahezu triploid war (Tube Nr. 1). Bei diesen Pflanzen im Allgemeinen war der rapide Verlust an *Festuca*-Chromatin zu beobachten. In jeder der BC-Pflanzen waren Translokationen nachweisbar (siehe Anhang Tab. 13).

4.2. Fertilität

4.2.1. Kreuzung von Hand

Im Jahr 2011 wurden erstmals Wiesenschwingel als Mutterpflanzen verwendet. In den vorherigen Jahren wurde dies vermieden, da befürchtet wurde, dass die Blütchen während des Kastrierens zu schnell abbrechen, weil sie auf Stielchen sitzen. Während des Kastrierens stellte sich jedoch heraus, dass das Abbrechen der Blütchen nicht das Problem war. Vielmehr war eine Rispe des Wiesenschwingsels allein durch die erhöhte Anzahl der Blütchen viel zeitintensiver als eine Weidelgras-Ähre. Für die Kastration einer Wiesenschwingel-Rispe benötigte man mehr als die doppelte Zeit einer Weidelgras-Ähre. Der ursprüngliche Plan bestand darin, die kastrierten Wiesenschwingel mit den *Festulolium*-Pflanzen aus dem Kreuzungsjahr 2005 oder 2008 zu bestäuben. Zur Blüte des Wiesenschwingsels waren die *Festulolii* jedoch noch

nicht soweit und es hatte sich durch die Untersuchung der Pollen mit Iodkaliumiodid-Lösung herausgestellt, dass diese steril waren. Deshalb wurden die Wiesenschwingel mit Weidelgräsern bestäubt und der Kreuzungserfolg, d.h. die Ausbeute an Körnern und Embryonen pro Anzahl Körner war höher als erwartet.

Die Erzeugung der F2-Pflanzen war noch schwieriger als die der F1-Pflanzen. Sowohl der Kornansatz als auch die Anzahl der Embryonen pro Anzahl Körner war gering. 2011 wurden die Mutterpflanzen nicht mehr kastriert, da durch Anfärben des Pollens mit Lugols-Lösung bekannt war, dass sie männlich steril waren. Also wurden alle Ähren einer Pflanze eingetütet und mit mehreren Wiesenschwingel-Vätern bestäubt. Bei den Karyopsen gab es sowohl wässrige als auch deformierte. Der Großteil der Embryonen wurde in deformierten Körnern gefunden, wohingegen die wässrigen Körner seltener Embryonen enthielten. Das war insofern logisch, weil das „Embryo Rescue“ bei den F2-Mutterpflanzen im Jahr 2011 relativ spät stattfand, der Embryo also schon Nährstoffe aus dem Samen entzogen haben musste. Die verspätete Separierung der Embryonen aus diesen Ähren hatte seine Begründung darin, dass die Menge der bestäubten Ähren im Vergleich zu den Vorjahren extrem hoch war und das Arbeitspensum somit zu groß. Bei den Rückkreuzungen fanden sich auch einige Körner, die einen Mehlkörper bildeten. Da der Kornansatz bei Klonen des gleichen Genotyps sehr stark variierte, war zu vermuten, dass diese Pflanze zu spät isoliert wurde und es zu einer Fremdbestäubung durch Weidelgras-Pollen gekommen war. Zur Verifizierung dieser Vermutung wären molekular-genetische Untersuchungen nötig gewesen.

Bei der Analyse der Variable „Erhaltene Nachkommen pro kastrierter Ähre“ innerhalb der verwendeten Deutschen Weidelgräser konnte nur die Sorte Barata ein signifikant besseres Niveau, als die übrigen Lp-Sorten erreichen. Allerdings wurde von dieser Pflanze im Jahr 2011 nur eine Ähre kastriert. Dadurch war nur der Wert einer Wiederholung verfügbar. Es musste also davon ausgegangen werden, dass bei mehr als einer Wiederholung diese Signifikanz wahrscheinlich verloren gehen wird. Immerhin erhielt man aus dieser Barata-Ähre 17 Nachkommen. Absolut gesehen war die Sorte Ivana im Vergleich der Deutschen Weidelgräser mit einem Maximum von 26 Nachkommen pro kastrierter Ähre im Jahr 2010 am erfolgreichsten. Bezogen auf Lp und Fp war eine Einzelpflanze aus einem Wiesenschwingel Polycross, WSC 29/7, mit 73 Nachkommen pro kastrierter Ähre am ertragreichsten. Bei einem Vergleich der zwei verwendeten Wiesenschwingel mit allen Lp-Pflanzen stellte sich auch die bereits genannte Einzelpflanze WSC 29/7 als signifikant am besten heraus, wobei sie eine Spannweite von 6 bis 73 Nachkommen pro Ähre aufwies.

Bei einem Signifikanzniveau von $\alpha=0,1$ zeigte sich, dass die Anzahl der erhaltenen Nachkommen pro Anzahl extrahierter Körner zwischen den F1-Pflanzen und Wiesenschwingel als Mutter signifikant verschiedenen war. Deutsches Weidelgras unterschied sich weder von Wiesenschwingel noch von den F1-*Festulolii*. Damit ließ sich die Aussage treffen, dass Wiesenschwingel tendenziell mehr Embryonen pro Anzahl Körner bildete. Eines der Hauptprobleme bei der Herstellung von F1- und BC1-Nachkommen war neben dem nicht vorhandenen Endosperm auch das Fehlen von Embryonen in den Karyopsen.

4.2.2. Männliche Fertilität

Die Pollenkörner wurden in einem möglichst reifen Stadium, mit Lugols-Lösung angefärbt. Fertile und sterile Genotypen waren dadurch gut erkennbar (Bild 3).

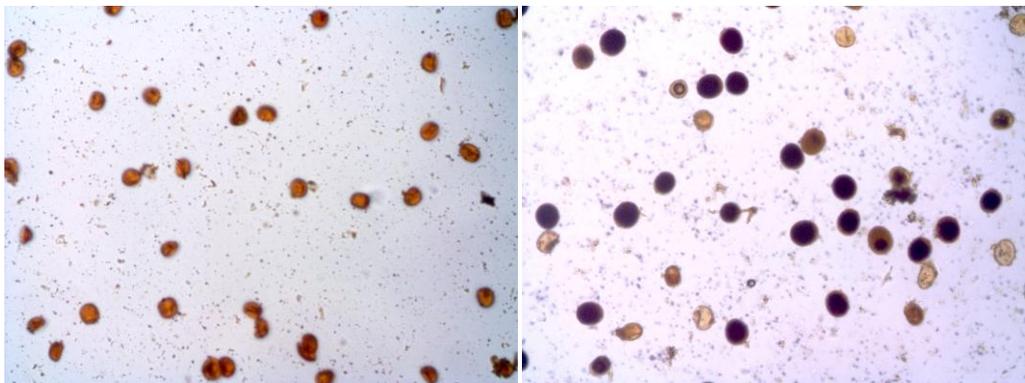


Bild 3: Pollen mit 20facher Vergrößerung. Vollständig dunkel gefärbter Pollen ist fertil. Links FEL45 aus Kreuzungsjahr 2005 (F1) steril, rechts Genotyp aus Sorte Preval (Fp) fertil.

Bezüglich der Fertilität der F1-Generation (LpxFp) gegenüber der F2-Generation (FELxFEL und FELx?) und BC1Fp-Pflanzen (FELxFp) zeigte sich, dass die männliche Fertilität durch Rückkreuzung mit Lp oder Erstellung der F2-Generation wieder restauriert werden konnte. Im Gegensatz dazu konnte bei der BC1Fp nur bei individuellen Pflanzen eine hinreichende männliche Fertilität festgestellt werden. Zu beachten war, dass bei den F2-Pflanzen ein hohes Maß an Variabilität vorhanden war und somit nicht alle Pflanzen fertil waren. Es konnte eine Pflanze gefunden werden, die keine Antheren bildete. Beim Vergleich der F1-Pflanzungen mit den F2-Pflanzungen Nr. 163 (FELx?¹) und Nr. 164 (FELxFEL) und den BC1-Pflanzen bezüglich Pollenfertilität konnten signifikante Unterschiede zwischen F1-Pflanzungen und den F2-Pflanzungen Nr. 163 und Nr. 164 festgestellt werden. Die BC1 (1871) unterschied sich nicht signifikant von der F1 (Abb. 2).

¹ Bei 163 wurde versucht F1-Pflanzen mit Fp rückzukreuzen. Aufgrund mangelnder Blühsynchronisation schlug dies jedoch fehl und die F1-Pflanzen blühten frei ab. Daher war hier unbekannt, ob es sich bei den Vaterpflanzen um Lp, Fp oder FEL handelte.

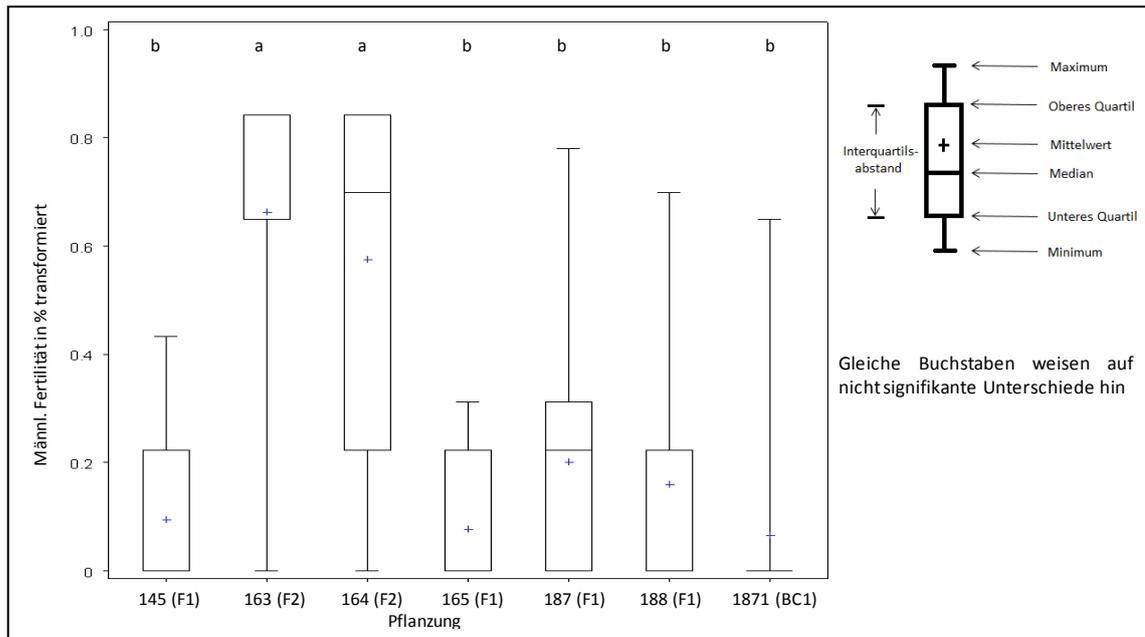


Abb. 2: Männliche Fertilität ausgewählter Kreuzungsprodukte aufgeteilt nach Pflanzungen (Kreuzungsjahren).

4.2.3. Samenertrag

Betrachtete man den Samenertrag, der die weibliche Fertilität der Pflanzen wiedergeben konnte, zeigte sich, dass dieser stark standortabhängig war. Eine Pflanzung war stark von Mutterkorn befallen, zwei Pflanzungen befanden sich an einem Standort, wo vermutlich nicht genug Pollen von Weidelgras oder Wiesenschwingel zur Verfügung stand. Die Pflanzungen am Labor lieferten einen signifikant geringeren Samenertrag als die Pflanzungen in Pulling (siehe Anhang Abb. 12 bis Abb. 15).

Der Kreuzungserfolg 2005 wurde in 3 Jahren an verschiedenen Standorten geerntet. Durch diese Wiederholungen konnte der Samenertrag des Kreuzungserfolgs 2005 nach Einzelpflanzen ausgewertet werden. Es konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Signifikant war allein der Unterschied zwischen den Erntejahren. Der Samenertrag nahm in jedem Jahr signifikant ab. Verglich man den Samenertrag des gleichen Jahres von zwei unterschiedlich alten Pflanzungen (Nr. 145 aus 2006 und Nr. 159 aus 2007) so stellte sich heraus, dass Pflanzung Nr. 145 trotz des höheren Alters einen signifikant besseren Samenertrag lieferte. Dies bedeutete, dass auch diese Werte nur innerhalb der Pflanzungen verglichen werden konnten, da offensichtlich sowohl das Alter als auch der Standort der Pflanzen den Samenertrag beeinflussten. Im Jahr 2011 wurde von der Pflanzung Nr. 145 am Labor (Nr. 145a), bei dem die einzelnen FEL-Pflanzen jeweils achtmal verklont wurden, der Samenertrag von jeweils vier Klonen erfasst. Bei der Auswertung der anderen F1-Pflanzungen stellte

sich heraus, dass innerhalb des Kreuzungserfolgs 2009 die NK Orleans einen signifikant höheren Samenertrag lieferten. Innerhalb des Kreuzungserfolgs 2007 konnte ein ebenfalls höheres Niveau der NK Gladio im Vergleich zu den NK Lipresso herausgearbeitet werden.

Bei den F2-Pflanzungen konnten aufgrund hoher Variabilität keine signifikanten Unterschiede zwischen den Nachkommenschaften gezeigt werden. Die F2-Pflanzung Nr. 163 wies einen signifikant höheren Samenertrag auf als die F1-Pflanzungen, die F2-Pflanzung Nr. 164 und die Pflanzen aus Rückkreuzung zu Wiesenschwingel (Nr. 1871). Pflanzung Nr. 164 unterschied sich signifikant von den F1-Pflanzungen, die am Standort „Labor“ beerntet wurden (Nr. 145a, Nr. 188) (Abb. 3).

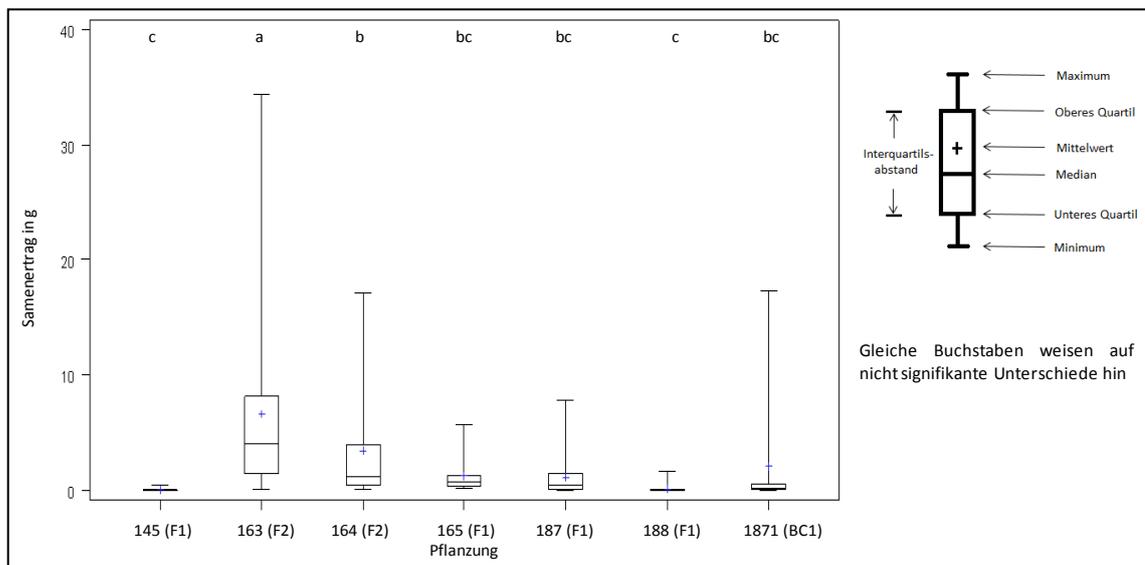


Abb. 3: Samenertrag in g pro ausgewähltem Kreuzungsprodukte aufgeteilt nach Pflanzungen (Kreuzungsjahren).

4.3. Wuchsform

Wie in Abb. 11 (siehe Anhang) ersichtlich war die Variabilität innerhalb der Nachkommenschaft der einzelnen Sorten sehr groß. Die Nachkommen von Orleans, Respect, Niata und Lipresso unterschieden sich signifikant von beiden Eltern. Im Mittel lag die Wuchsform der Nachkommen zwischen denen der Eltern. Bei den Sorten NK Respect und NK Matiz deutete diese eine zweigipflige Kurvenform an. Die vier Nachkommen von Kabota-Pflanzen und die einzelne NK Ivana verschoben sich im Merkmal „Wuchsform“ Richtung Wiesenschwingel und waren von diesen nicht mehr signifikant verschieden. Die noch lebende Mutterpflanze aus dem Kreuzungsjahr 2010 erhielt die Boniturnote 3. Dadurch erklärte sich das aufrechte Wachstum der Nachkommen. Im Gegensatz dazu verschoben sich im Merkmal „Wuchsform“ die Kurven der NK Matiz und NK Gladio eher in Richtung der Muttersorten. Bei den Pflanzen der Sorte NK Matiz war sogar eine Transgression erkennbar. Dies bedeutet, dass einzelne Nachkommen der Matiz-Mutterpflanze noch flacher wuchsen als die Elternpflanzen mit dem flachsten Wuchs. Die wahre Mutterpflanze der NK Matiz lag mit Boniturnote 5 im Maximum der Kurve der Sorte Matiz. Ebenfalls zu beachten war die Zweigipfligkeit der Kurve. Beim Vergleich der Nachkommenschaften untereinander unterschieden sich nur die Nachkommen der Sorten Matiz und Ivana signifikant. Letztere hatten wie oben bereits erwähnt eine sehr aufrechte Wuchsform, NK Matiz eine sehr flache Wuchsform. Die Sorte Orleans wies das Maximum in der relativen Häufigkeitsverteilung bei Boniturnote 7 auf, was darauf hindeutet, dass diese Sorte durch ihre flache Wuchsform gekennzeichnet war. Ihre Nachkommen waren nicht mehr signifikant von NK Ivana verschieden. Die Wuchsformen der Deutschen Weidelgräser und des Wiesenschwingels unterschieden sich immer signifikant.

4.4. Massenbildung

Mit der SAS Prozedur „proc mixed“, wurden die Boniturnoten für Massenbildung über die Jahre, Nutzungsjahre und Standorte verrechnet, Abb. 4 zeigt die daraus resultierende Reihenfolge für die Nachkommen. Die gleiche Prozedur wurde zum Vergleich der Elternsorten verwendet. Signifikante Unterschiede wurden nicht erkennbar. Im Ranking der Elternsorten wies die Sorte Ivana den höchsten Mittelwert bezüglich der Bonitur Massenbildung auf.

Die Nachkommen der Sorten Respect, Ivana, Niata und Orleans wiesen die geringsten Werte auf. Beim Vergleich innerhalb von Pflanzungen, bei dem das Alter der Pflanzen als Einflussfaktor vernachlässigt werden konnte, hielt sich die Rangfolge im

Kreuzungserfolg der Jahre 2007 und 2009 (Abb. 5). Nachkommen von Niata die auch im Kreuzungsjahr 2010 entstanden, waren ebenfalls leistungsschwächer als die Vergleichsnachkommenschaften. In den Jahren 2009 und 2010 wurden identische Mutterpflanzen verwendet.

Aufgrund der hohen Variabilität und einer zu kleinen Datenmenge konnten Signifikanzen weder beim Vergleich der Nachkommenschaften untereinander noch der Eltern nachgewiesen werden. Durch die aufsteigende Sortierung der Mittelwerte lassen sich aber zumindest Tendenzen erkennen.

Die Nachkommen der Sorten Ivana, Niata und Respect mussten geringer bewertet werden als die Elternsorte. Bei den Nachkommen der Sorten Kabota und Gladio konnte eine Leistungssteigerung verzeichnet werden. Die restlichen Nachkommenschaften blieben gegenüber ihren Elternpopulationen konstant. Bei der Betrachtung der verschiedenen Kreuzungsjahre (Abb. 5) wurden aus dem Kreuzungsjahr 2007 die NK Kabota, aus dem Kreuzungsjahr 2008, die NK Gladio, aus dem Kreuzungsjahr 2009 die NK Lipresso und aus dem Kreuzungsjahr 2010 die NK Matiz mit den höchsten Bonituren für Massenbildung bewertet.

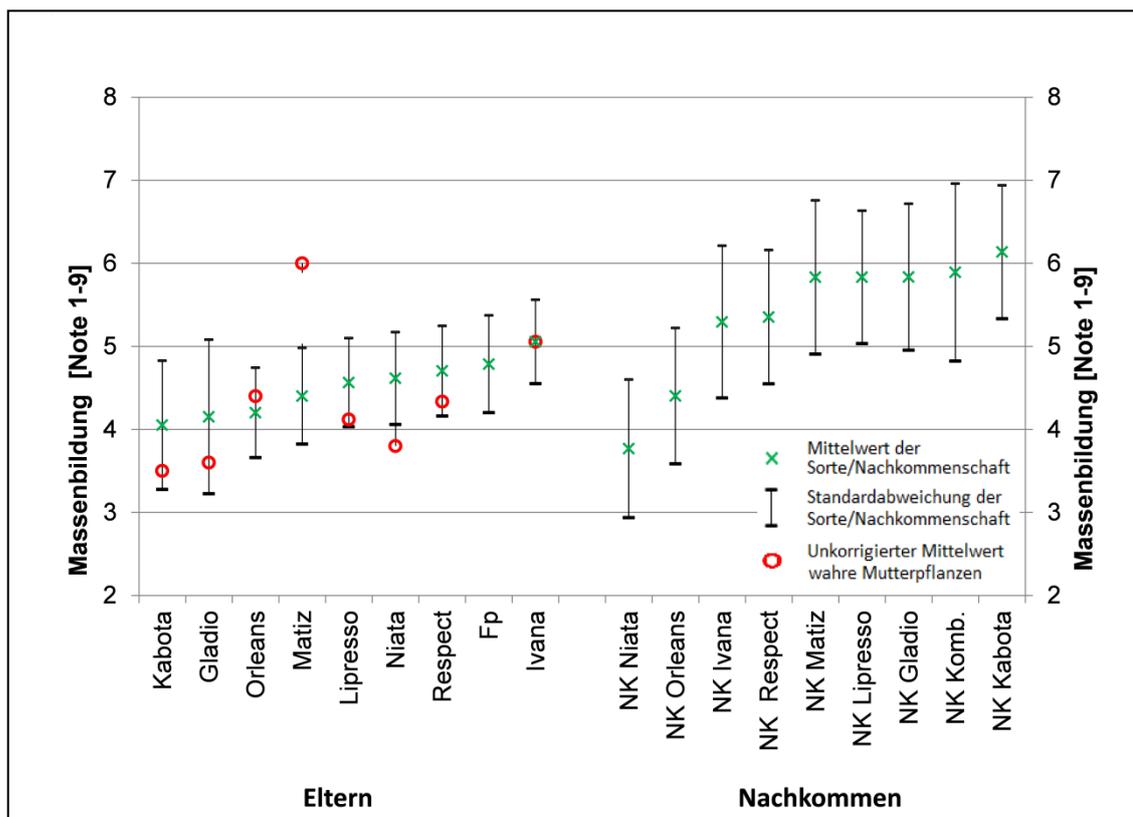


Abb. 4: Massenbildung. Rechts: Vergleich der Elternsorten. Links: Vergleich der Nachkommenschaften.

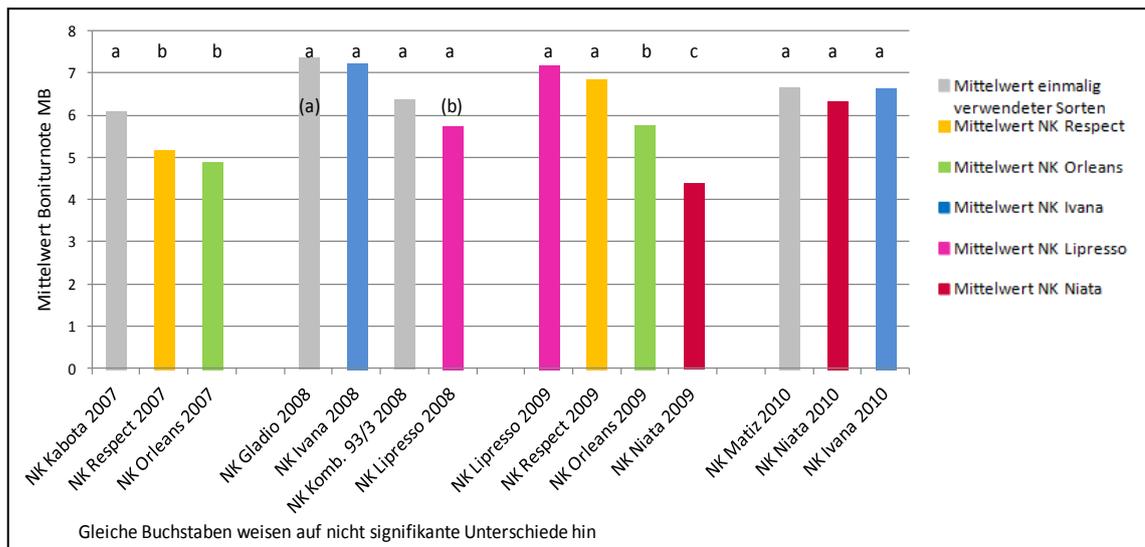


Abb. 5: Mittelwerte aller Bonituren "Massenbildung" (MB). Vergleich der Nachkommenschaften innerhalb eines Kreuzungsjahres.

4.5. Dichtigkeit

Bei diesem Merkmal wurde bei der Auswertung vorgegangen wie beim Merkmal „Massenbildung“. Die Nachkommenschaften und die Elternsorten bzw. -populationen wurden jeweils untereinander verglichen (Abb. 6). Bei beiden Verrechnungen konnten keine Signifikanzen ermittelt werden. Die Wiesenschwingelpopulation wies einen höheren Mittelwert der Bonitur „Dichtigkeit“ auf als die Sorte Gladio. Es existierte jedoch nur eine einzige Gladiopflanze auf der Beobachtungsfläche. Der nicht korrigierte Mittelwert der wahren Mutterpflanzen war relativ konstant mit den korrigierten Mittelwerten der Sorten.

Bei den Nachkommenschaften der Sorten Gladio, Matiz, Lipresso und Kabota konnte eine Leistungssteigerung verzeichnet werden. Der Nachkomme des Kombinationsklons war nicht mit seiner Mutterpflanze vergleichbar, da letztere ausgefallen war. Die Nachkommen von Orleans, Respect und Niata konnten die Dichtigkeit ihrer maternalen Elternpopulationen nicht erreichen. Bei der Kreuzung mit Wiesenschwingel wäre im Grunde eine Abnahme der Dichtigkeit bei allen Nachkommen zu erwarten gewesen. Die Dichtigkeit des Weidelgrases konnte sich aber bis auf in den bereits erwähnten Populationen halten.

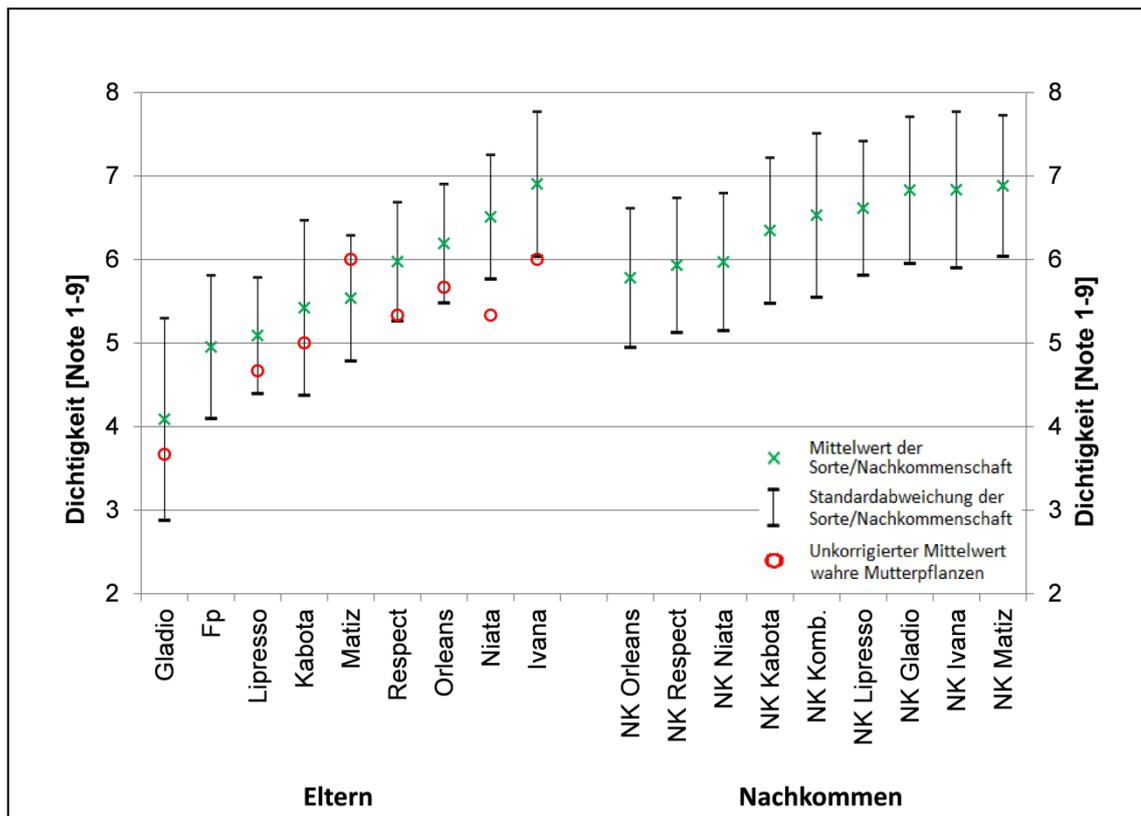


Abb. 6: Dichtigkeit. Rechts: Vergleich der Elternsorten. Links: Vergleich der Nachkommenschaften.

4.6. Zeitpunkt Ährenschieben

Um die Elternpopulationen mit den Nachkommenschaften zu vergleichen wurden nur die Bonituren des Jahres 2011 und von diesen nur die Bonituren vom Standort „Labor“ herangezogen.

Insgesamt begann die Wiesenschwingelpopulation früher mit dem Rispenschieben als die Weidelgräser. Ausnahme waren die Sorten Ivana, Lipresso und Gladio, deren Ährenschieben noch früher war. Der Kombinationsklon, der 2008 für Kreuzungen verwendet wurde, war vermutlich auch ein früherer Typ als Wiesenschwingel.

Die Häufigkeitsverteilung der NK Orleans und NK Lipresso lagen zwischen den Elternpopulationen und waren von beiden signifikant verschieden. Die NK Respect begannen das Ährenschieben später als die Sorte Respect. Die Nachkommen unterschieden sich signifikant von beiden Elternpopulationen. Die NK Niata lagen ebenfalls zwischen Wiesenschwingel und der Sorte Niata, unterschieden sich aber von letzterer nicht signifikant. Gleiches galt für die NK Kabota. Die NK Ivana unterschieden sich dagegen nicht von der Wiesenschwingelpopulation. Die Sorte Ivana begann signifikant früher mit dem Ährenschieben. Fp, die Gladio-Mutterpflanze und NK Gladio

waren signifikant verschieden. NK des Kombinationsklons begann signifikant früher mit dem Ährenschieben als die Wiesenschwingel (siehe Anhang Abb. 16).

4.7. Krankheiten

Es wurden Bonituren bezüglich Rost und Blattflecken durchgeführt. Die NK Respect wiesen einen signifikant höheren Rostbefall auf als alle anderen NK (siehe Anhang Abb. 17).

Im Sommer wurde vor allem der Pflanzenbestand am Labor von einer Krankheit befallen, deren Symptome sich in Blattflecken äußerten. Vermutlich handelte es sich dabei *Drechslera*-Blattflecken. Die Nachkommenschaften wurden mit Hilfe einer Varianzanalyse miteinander verglichen. Die NK Kabota und NK Orleans zeigten einen signifikant höheren Befall als die NK Ivana und NK Matiz. Die NK Gladio waren von den NK Orleans nicht verschieden, jedoch von den NK Kabota (siehe Anhang Abb. 18).

5. Diskussion

5.1. Genetische Untersuchungen

Sicherlich war es für spätere genetische Analysen eine Erschwernis, dass zur Sicherung einer möglichst hohen Ausbeute, also einer möglichst hohen Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen Befruchtung, im Zweifelsfall die Ähre einer Lp-Mutter mit mehreren Fp-Vätern bestäubt wurde. Bei rein diploiden Kreuzungen war dies, wie bereits in der Literaturübersicht erwähnt, ein schwieriges Unterfangen. Um diese Unklarheit zu beseitigen, wurden die Eltern und Nachkommen mit AFLPs analysiert. Die entstandenen Datensätze bestehen nur aus 0 (kein Signal) und 1 (Signal). Bei der Auswertung gab es jedoch Schwierigkeiten. In vielen Fällen gaben die Nachkommen Signale, selbst wenn die Mutter und alle in Frage kommenden Väter kein Signal lieferten. Auch gab es „1“ in den Nachkommen, die einmal von dem einen Vater kamen und bei anderen Markerstellen von einem anderen Vater. Den wahren Vater herauszufinden war daher in vielen Fällen nicht möglich. Als mögliche Gründe hierfür waren grundsätzlich zu prüfen:

1. Ist eine Verwechslung der Proben auszuschließen?
2. Ist eine Verunreinigung der Proben z. B. mit Bakterien oder Thripsen auszuschließen?
3. Wurde wirklich die wahre Mutter analysiert? Die ersten Mütter wurden nicht als definierte Einzelpflanzen aus dem Sortimentsgarten ausgegraben.
4. Gleiches galt für die ersten Väter, die seit einigen Jahren auf dem Versuchsfeld am Labor standen.
5. Fand evtl. Fremdbestäubung statt?
6. Wurden für solch stark heterozygote Populationen die richtigen AFLP's gewählt?

Die ersten beiden Punkte sind im Rahmen der Qualitätssicherung ständig zu prüfen und zu kontrollieren, sollten also eher geringe Bedeutung besitzen. Die Punkte 3 und 4 wurden besonders zu Zeit der Methodenetablierung billigend in Kauf genommen. Sind also sicher eine mögliche Ursache, besonders dann wenn die AFLP's evtl. zu spezifisch gewählt wurden. Auch Fremdbestäubung ist eine stete Quelle möglicher falscher Kreuzungszuordnung. Dies war der Ausgangspunkt für die konsequente Untersuchung aller Kreuzungsnachkommen. Zu Punkt 6 schließlich ist festzuhalten, dass dies ein stetiger Anpassungsprozess ist, Banden zu finden die nicht nur zwei definierte Eltern unterscheiden, sondern für die jeweilige Art (bzw. die verwendete Subpopulation dieser Art) typisch ist. Hierin unterscheidet sich diese Methode

grundsätzlich von einer Methode wie z.B. GISH, die wiederum Grenzen bei der Differenzierung kleinerer Unterschiede im Genom besitzt.

Die Untersuchungen mit GISH lieferten zwar nur Informationen über die chromosomale Zusammensetzung der Pflanzen, die F1 Pflanzen konnten jedoch ohne Zweifel als *Festulolium* verifiziert werden. Einflussfaktoren, die bei den AFLP-Analysen Schwierigkeiten bereitet hatten, kamen hier nicht zu tragen. Ersichtlich wurde die Problematik der AFLP-Analysen vor allem bei den zwei NK Niata, die laut AFLP als Hybriden klassifiziert werden konnten, die GISH-Untersuchung dies jedoch widerlegte. Mit Hilfe der AFLP-Analyse konnten bei den BC1Fp-Pflanzen vier Markerstellen identifiziert werden, die die Rückkreuzung verifizierten. Bei weiteren Rückkreuzungsgenerationen wird die Analyse mit vier Primerkombinationen aufgrund der genetischen Ähnlichkeit von Mutter- und Vaterpflanzen vermutlich nicht mehr ausreichen. Lösungsmöglichkeit ist entweder die Verwendung von mehr Primerkombinationen oder der Wechsel auf ein codominantes Markersystem.

5.2. Fertilität

5.2.1. Kreuzung von Hand

Der Erfolg der Kreuzung von Hand hing nicht nur von der Kombinationsfähigkeit der Elternpflanzen ab, sondern hauptsächlich von der technischen Handhabung der Kreuzung. Die Narbenfäden traten gestaffelt aus den Spelzen hervor und um den Kreuzungserfolg zu erhöhen, mussten sie mehrmals bestäubt werden. Fraglich war, ob vom Pollenalter 2 bis 3 Tage nach der ersten Bestäubung immer noch genug Pollen verfügbar war und ob dieser überhaupt noch fertil war. Da die Kastration der Ähren sehr zeitaufwändig war, wurden lediglich diejenigen Ähren kastriert, die sich am jeweiligen Tag am besten eigneten, das heißt, dass die Antheren kurz vor dem Austreten aus der Spelze standen. Durch die Kastration und die Isolierung fand eine zusätzliche starke mechanische Belastung der Ähren und Rispen statt und diese starben teilweise ab. Durch das Spritzen der Dicamba-Lösung wurde der Halm zusätzlich verletzt.

Einzelne Ähren konnten nicht als Wiederholung angesehen werden. Echte Wiederholungen waren unterschiedliche Pflanzen derselben Sorte. In nicht allen Fällen standen Wiederholungen zur Verfügung. Bei der Verwendung von Wiesenschwingel als Mutterpflanze war der Kreuzungserfolg wesentlich höher, wenn er auch stark schwankte. Da die Pflanzen noch nicht verifiziert waren, war diese Aussage noch nicht haltbar. Der Grund für die höheren Samenzahlen des Wiesenschwingels lag möglicherweise nicht daran, dass Wiesenschwingel als Mutterpflanze eingesetzt

wurde, sondern dass Deutsches Weidelgras als Vaterpflanze verwendet wurde. Bei einigen Testanfärbungen mit Lugols-Lösung erschien der Pollen von Deutschem Weidelgras fertiler. Eventuell war diese reziproke Kreuzung aufgrund der Vaterpflanze erfolgreicher. Bei den Rückkreuzungen war ebenfalls Weidelgraspollen wesentlich dominanter, was die GISH-Untersuchungen zeigten. Vor allem bei der Rückkreuzung sollte also in Zukunft auf eine sehr gründliche Isolierung geachtet werden. Gerade die starken Schwankungen bei Betrachtung nur einer Pflanze ließen auf die starken Effekte der mechanischen Belastung und die Blüte schließen.

5.2.2. Männliche Fertilität

Obwohl die Untersuchung der männlichen Fertilität relativ genaue Ergebnisse lieferte, wäre eine andere Untersuchungsmethode vermutlich besser gewesen. Dies begründet sich darin, dass bei den meisten Pflanzen, die als steril klassifiziert wurden, einige wenige einzelne Sporen anfärbbar und somit fertil waren. Die Aussage der Sterilität wurde in diesen Fällen damit begründet, dass die übrigen Sporen, die sich nicht anfärben ließen, sehr klein und deformiert waren, so dass aufgrund des geringen Volumens in der Anthere, diese gar nicht aufplatzen und somit auch wenige fertile Sporen nicht entweichen können. Es kam nicht zur Antherendehiszenz. Eine bessere Untersuchungsmethode wäre hier gewesen, einzelne Ähren vor der Blüte mit Tüten zu isolieren und nur die Freilassung des Pollens zu bewerten. Also nur diejenigen als möglich fertil anzusehen, bei denen sich Pollen in den Tüten sammelt und diese dann schon vorselektieren Pflanzen genauer auf ihre Fertilität zu testen. Das wäre auch dadurch möglich, indem man diese Pflanzen gleich als Pollenväter für die F₂ nutzt und mit Hilfe der darauffolgenden genetischen Analyse die Fertilität der Pflanzen bewertet. Zu beachten war, dass in jeder untersuchten Pflanzung eine sehr hohe Variabilität auffindbar war. In den F₂-Pflanzungen wurden sowohl vollständig fertile als auch vollständig sterile Genotypen identifiziert. Eine Selektion würde hier vor allem nach Einzelpflanzen Sinn machen. Fertile F₂-Genotypen, die eine gute Massenbildung aufwiesen, könnten als Pollenelter für weitere Kreuzungsschritte genutzt werden. Tendenziell wiesen die Pflanzen der Pflanzung Nr. 163 die beste Pollenfertilität auf. Dies könnte zusätzlich darauf hinweisen, dass es sich um Rückkreuzungen zu Deutschen Weidelgras handelte. Es gab jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den definierten F₂ (FELx₂FEL) aus Pflanzung Nr. 164, deren Elternpflanzen in Weizenisolationen abblühten, und den Pflanzen aus Nr. 163.

5.2.3. Samenertrag

Alle im Freiland erhobenen Bonituren waren im Allgemeinen nur unter Vorbehalt zu betrachten. Durch die nicht vorhandene Randomisation der Pflanzen, der unterschiedliche Umfang der Nachkommenschaften und vor allen Dingen das unterschiedliche Alter der Pflanzen waren Umwelteffekte und die unterschiedliche Ausdauerleistung rechnerisch nicht zu korrigieren.

Die starke Standortabhängigkeit des Faktors Samenertrag war vermutlich nicht nur von umgebenden Pflanzungen abhängig, sondern auch von Windverhältnissen am Standort. Am Standort „Labor“ konnte man aufgrund der Topologie von einem Tunneleffekt ausgehen. Zu beachten waren zusätzlich die unterschiedlichen Blühzeitpunkte. Eine Selektion nach dem Kriterium Samenertrag war nicht möglich. Pflanzen die innerhalb der F1 einen erhöhten Samenertrag lieferten, sollten genauer beobachtet werden, Pflanzen mit geringerem Ertrag sollten aber aufgrund dieser ersten Ergebnisse nicht zu negativ bewertet werden. Allgemein ließ sich ein erhöhter Samenertrag der zweiten Züchtungsgeneration zeigen. Da sich in der direkten Umgebung der Pflanzungen Nr. 163 (F2), 164 (F2) und 165 (F1) in Pulling auch tetraploides Weidelgras befand, konnte davon ausgegangen werden, dass sich unter den Nachkommen auch triploide Hybriden befinden. In letzterer Pflanzung waren LpxLp Kreuzungen integriert. Fertiler Pollen sollte somit auch in direkter Umgebung der F1-Pflanzen zur Verfügung gestanden haben. Die Weidelgräser begannen ca. eine Woche später mit dem Ährenschieben. Mangelnde Blühsynchronisation sowie die hochgradige Sterilität der F1-Pflanzen waren die entscheidenden Faktoren. In Pflanzung Nr. 187 konnte ein signifikant höherer Samenertrag der NK Orleans nachgewiesen werden. In der benachbarten Reihe befanden sich NK Niata, die eine zufriedenstellende männliche Fertilität aufwiesen. Die Zeitpunkte des Ährenschiebens streuten innerhalb beider Nachkommenschaften über mehrere Wochen. Hinreichend fertiler Pollen könnte so während der gesamten Blüte benachbarte Pflanzen bestäubt haben. Obwohl eine benachbarte Pflanzung Deutsches Weidelgras war, konnte mit verringerter Distanz zu diesen Pflanzen kein erhöhter Samenertrag festgestellt werden.

5.3. Wuchsform

Die Sorten des Deutschen Weidelgrases streuten im Vergleich zu den Nachkommen weniger, was auf der Homogenität der Sorten an sich beruhte. Im Durchschnitt lagen die Nachkommenschaften in der Mitte der Eltern. Zweigipflige Kurven oder sehr breite Streuungen beruhten vermutlich auf der Verwendung unterschiedlicher Mutter- und Vaterpflanzen. Bei den Nachkommenschaften handelte es sich sowohl um Voll- als

auch Halbgeschwister. Je größer der Unterschied zwischen den Elternpopulationen war, umso mehr verschoben sich die Nachkommen in Richtung der Muttersorte. Die Sorten Orleans und Matiz wiesen die flachste Wuchsform auf. Dennoch waren die NK Orleans von beiden Elternpopulationen verschieden, während die NK Matiz sich nur von den Wiesenschwingeln signifikant abhoben. Die wahre Mutterpflanze Matiz wurde wie die wahre Mutterpflanze Orleans aus dem Kreuzungsjahr 2009 mit Boniturnote „4“ bewertet. Die anderen wahren Mutterpflanzen Orleans aus dem Jahr 2007, die jedoch weniger Nachkommen hatten, erhielten dagegen die Boniturnoten „6“ und „7“. Eigentlich wäre eine Verschiebung der NK Orleans in Richtung Muttersorte wahrscheinlicher gewesen. Die Überlegungen könnten nun dahin gehen, dass die Wuchsform der Mutterpflanzen und Nachkommenschaften durch Umwelteffekte beeinflusst wurden oder die Sorte Matiz eine flachere Wuchsform stärker vererbt als die Sorte Orleans. Zusammenfassend zeigte sich, dass die Wuchsform der Mutterpflanzen starken Einfluss auf das Maximum der Kurven der Nachkommen hat. Aufspaltungen waren erkennbar.

5.4. Massenbildung und Dichtigkeit

Bei der Bonitur „Massenbildung“ sollte zunächst versucht werden die Muttersorten mit den Nachkommenschaften zu vergleichen. In den meisten Fällen waren Mutterpflanzen und Nachkommenschaften in verschiedenen Jahren gepflanzt worden und hatten somit ein unterschiedliches Alter. Die Nachkommenschaften aus verschiedenen Kreuzungsjahren hatten ebenfalls nicht das gleiche Alter. Um die Sorten bzw. die Nachkommenschaften vergleichbar zu machen, wurden jeweils Muttersorten und Nachkommenschaften untereinander verglichen. Die Muttersorten bzw. -pflanzen hatten einen Altersunterschied von maximal zwei Jahren. Die meisten Pflanzen der Elternsorten wurden in den Jahren 2009 und 2010 gepflanzt. Bonituren wurden nur im Jahr 2011 durchgeführt. Im Gegensatz dazu wurden die F1- und F2-Pflanzen in mehreren aufeinander folgenden Jahre in unterschiedlicher Häufigkeit bonitiert. In diesem Fall wurden im Rahmen der statistischen Verrechnung die Boniturnote je nach Alter der Pflanzen korrigiert. Bei Hinzunahme der Elternpopulationen war dies aufgrund zu vieler fehlender Datensätze nicht möglich. Deshalb wurden Muttersorten und Nachkommenschaften getrennt verglichen und Veränderungen der Rangfolge interpretiert. Da es sich bei den Muttersorten aber um sehr weit streuende Populationen handelte, von denen nur einzelne Individuen als Elternpflanzen selektiert worden waren, musste die Qualität der Mutterpflanze innerhalb der Population ebenfalls berücksichtigt werden. Somit konnten zumindest Tendenzen erkennbar

werden. Die gleichen Probleme und Lösungen wurden bei der Bonitur „Dichtigkeit“ identifiziert und ausgearbeitet. Bezüglich Massenbildung erhielt die Sorte Ivana den besten Mittelwert. Trotz der guten Qualität der tatsächlich verwendeten, also wahren Mutterpflanze, die im Mittel der Sorte lag, konnte diese Eigenschaft nicht an die Nachkommenschaft weiter gegeben werden. Diese schnitt im Vergleich zu anderen Nachkommenschaften verhältnismäßig schlecht ab. Für die Kreuzungen mit der Sorte Matiz wurde eine sehr gute Mutterpflanze ausgewählt, was die Dominanz der Nachkommenschaften erklärte. Allerdings ist es möglich, dass hier das Modell nicht genug Daten für eine Auswertung zur Verfügung hatte, weil sowohl die Population der Muttersorte Matiz, sowie deren Nachkommen, die im Kreuzungsjahr 2010 entstanden, vergleichsweise jung waren. Die Mutterpflanzen aus den Sorten Niata und Respect lagen im Mittel unter dem Durchschnitt der Sortenleistung. Diese Mittelwerte wurde aber nicht durch die SAS Prozedur „proc mixed“ korrigiert, enthielten also nur den einfachen Durchschnitt der vorhandenen Mutterpflanzen. Im Besonderen war diese Korrektur durch das SAS Programm bei der Sorte Kabota und Gladio erkennbar. Von diesen befanden sich außer den wahren Mutterpflanzen keine anderen Genotypen der Sorten auf der Beobachtungsfläche. Das Statistikprogramm korrigierte die Werte also nach oben hin. Die wahre Mutterpflanze Matiz wurden dagegen in der Bewertung nach unten gestuft. Dadurch wurde die Rangfolge, die sich bei den Nachkommen durch die SAS Prozedur ergab, relativ gut haltbar. Bei der Betrachtung der einzelnen Kreuzungsjahre fiel auf, dass die sich die Bewertung der NK Lipresso von Kreuzungsjahr 2007 zu 2008 stark änderten.

5.5. Zeitpunkt Ährenschieben

Der Zeitpunkt des Ährenschiebens war weniger vom Alter der Pflanzen, als von den Umwelteffekten abhängig. Durch die lange Trockenheit im April und Mai, kam es zu einer Notblüte und mit dieser Bonitur konnte einen Monat früher als im Vergleich zum Vorjahr begonnen werden. Da es so starke Unterschiede zwischen den Jahren gab und die Elternpopulationen nur im Jahr 2011 bonitiert worden waren, wurden auch nur diese Werte herangezogen. Ebenso verhielt es sich mit den beiden Standorten. Obwohl die Böden in Pulling trockener waren, begann das Ährenschieben dort im Durchschnitt eine Woche später. Die Anzahl der Tage nach dem 01. April wären durch Auswertung des Standort „Pulling“ künstlich erhöht worden und wurden deshalb ebenfalls vernachlässigt, da Werte für die Elternpopulationen nicht vorlagen. Die wahren Mutterpflanzen lagen nicht immer im Mittel der Population und wurden deshalb gesondert betrachtet und bei Auffälligkeiten in der Ergebnisinterpretation beachtet.

Grund für das spätere Ährenschieben der NK Respect im Vergleich zur Sorte Respect war die Verwendung eines relativ späten Genotyps aus der Mutterpopulation. Beim Vergleich der Sorte Ivana mit Fp und NK Ivana, konnten nur signifikanten Unterschiede zwischen der Sorte Ivana und den NK Ivana festgestellt werden. Der Zeitpunkt Ährenschieben wurde folglich durch das Kreuzen mit Wiesenschwingel nach hinten verschoben. Die wahre Ivana Mutterpflanze von dem einzigen Nachkommen, der in dieser Bonitur erfasst wurde, war ausgefallen. Es ist also möglich, dass der verwendete Ivana Genotyp zu einem späteren Typ gehörte als das Mittel der Sorte Ivana. Die Häufigkeitsverteilung der NK Gladio ließ vermuten, dass die Vaterpflanze zu einem eher späteren Genotyp innerhalb der Wiesenschwingelpopulation gehörte. Aufspaltungen waren erkennbar.

5.6. Krankheiten

Da die beobachteten Krankheiten von relativ einfachen Erbgängen abhingen, wurden die Nachkommenschaften nur untereinander verglichen. Durch Rekombination und den Einfluss des Wiesenschwingel-Vaters konnten Verbesserungen in der Krankheitsresistenz ausgemacht werden. Befallene Mutterpflanzen erzeugten immer Nachkommen die ebenso, weniger oder stärker befallen waren als sie selbst. Nachteilige Vererbungen und Rekombinationen waren also auch entstanden. Bei der weiteren Auswahl der Kreuzungseltern müsste verstärkt auf die Krankheitsresistenz geachtet werden. Dies war bisher nicht möglich, weil die Elternpopulationen nicht bonitiert worden waren oder noch vor der Bonitur als Elternpflanzen verwendet worden waren.

Die NK Respect wiesen signifikant die stärksten Rostsymptome auf. Grund hierfür war die Verwendung einer rostanfälligen Mutterpflanze. Bei allen Nachkommen, die Rostbefall zeigten, waren die Mutterpflanzen mit höheren Boniturnoten für „Rost“ bewertet. Es konnte beobachtet werden, dass die Nachkommen sowohl höhere als auch niedrigere Noten erhielten als die Mutterpflanzen. Durch Rekombination und das Einkreuzen des Wiesenschwingels entstanden somit nicht nur resistenterere Pflanzen, sondern auch Genkombinationen, die einen Befall begünstigten. Ähnliche Beobachtungen konnten bei den NK Matiz, NK Ivana und NK Lipresso gemacht werden.

Der Befall mit *Drechslera*, war insgesamt sehr hoch. Über 90% der bonitierten F1-Pflanzen am Standort „Labor“ wurden mit mindestens Boniturnote 2 bewertet. Bei der Betrachtung der Elternpflanzen stellte sich heraus, dass auch alle Eltern mindestens mit Boniturnote 2 bewertet werden mussten, es überwogen aber die Noten 3 bis 6. Das

heißt es wurden schon bei der Selektion der Elternpflanzen keine resistenten Genotypen ausgewählt. Bei Betrachtung der relativen Häufigkeit der Nachkommenschaften für die Boniturnote 1 erhielten die Nachkommen von Ivana den höchsten Wert mit 0,63. Die Mutterpflanzen Ivana, die die meisten Nachkommen hatten, waren selbst relativ stark befallen. Das lässt darauf schließen, dass sich durchaus Resistenzen gebildet haben könnten. Resistenzen gegen Blattkrankheiten wurden bei Mais durch wenige Gene kodiert (HEPTING & OLTMANN, 1985). Es bestand die Möglichkeit, dass in dieser ersten Züchtungsgeneration bei *Festulolium* schon Resistenzen durch Neukombination von Genen entstanden waren.

6. Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Die in der Literaturrecherche gefundenen Erfahrungswerte konnten in der vorliegenden praktischen Arbeit weitgehend bestätigt werden. Die Rückkreuzung mit Wiesenschwingel hatte weniger Erfolg als die Rückkreuzung mit Deutschem Weidelgras. Diesen Hinweis lieferten vor allem die GISH-Analysen. Aufgrund des geringen Stichprobenumfangs der BC1Fp war die geringe Fertilität dieser Züchtungsgeneration zwar ein Hinweis, aber kein aussagekräftiges Ergebnis. Die BC1Fp-Pflanzen werden somit in weiteren Züchtungsschritten mit Ausnahmen nur als Mutterpflanzen verwendet werden können. Ebenso verhielt es sich mit dem Verlust an *Festuca*-Chromatin in den BC-Generationen. Die cytologischen Vorgänge schienen in di- und polyploiden *Festulolium*-Pflanzen weitgehend gleich zu sein.

Insgesamt ist bei der Bewertung der Ergebnisse der z. T. geringe Stichprobenumfang als problematisch anzusehen.

Durch die nicht vorhandene Randomisation konnten Randeffekte sowie Effekte, die durch das leichte Gefälle am Standort „Labor“ entstanden, nicht als Umwelteffekte in der statistischen Analyse identifiziert werden. Um eine Verrechnung möglich zu machen wurde davon ausgegangen, dass Randeffekte und Umwelteffekte an einem Standort zu vernachlässigen sind. Für die Interpretation der Ergebnisse durften Umwelteffekte innerhalb eines Standorts aber nicht außer Acht gelassen werden. Vor allem wurden die Bonituren ZPEASCH, MB und DICHT davon beeinflusst. Durch das Gefälle verfügten manche Pflanzen über eine bessere Wasser- und Nährstoffversorgung, was vor allem in dem sehr trockenen Frühjahr einen starken Einfluss hatte.

Da die Reihenfolge der Pflanzen am Standort „Pulling“ dieselbe war, befanden sich auch dort fast immer die gleichen Pflanzen am Rand. Hinzu kam, dass letzterer Standort sehr weitläufig war und noch größere Effekte zwischen den Pflanzungen an diesem Standort als zwischen den Pflanzungen am Standort „Labor“ zu erwarten gewesen wären. Da nun hinreichend Pflanzenmaterial vorhanden ist, ist es bei der im Rahmen der Feldrotation anstehende Neupflanzung der Klonbeobachtung sicher sinnvoll Standards in Pflanzungen aufzunehmen. Mit diesen können Umwelteffekte (z.B. Bodentrends) besser erfasst werden. Durch die Neupflanzung der Beobachtung, bei der die Pflanzen auch auf etwa gleiche Größe gebracht werden, wird auch ein Vergleich von Pflanzungen unterschiedlichen Alters künftig besser möglich sein. Werte, die im Zuge dieser ersten Auswertung nicht sinnvoll differenziert berücksichtigt werden

konnten, sollten damit künftig aufgenommen werden können. Es ist zu erwarten, dass die Aussagekraft der erhaltenen Ergebnisse damit wesentlich höher wird.

Insgesamt wurden die NK Kabota und NK Gladio als sehr gute Nachkommenschaften bewertet. Leider handelte es sich dabei um sehr kleine Familien, die jeweils nur vier NK umfassten. Die Mutterpflanzen wurden nicht als Sorten angebaut, sondern es befanden sich nur die jeweils verwendeten Mutterpflanzen als Individuen unter Beobachtung. Teilweise waren auch die Mutterpflanzen nicht mehr existent, wie bei dem ersten NK Ivana und dem NK Komb., der in den meisten Auswertungen vernachlässigt wurde. Da die Elternpflanzen nur bei der direkten Auswahl für den Kreuzungsvorgang bewertet worden waren, befanden sich auch qualitativ und quantitativ nicht so hochwertige Pflanzen darunter.

Bonituren, die nicht ausgewertet worden waren, wurden aufgrund ihrer Datenstruktur nicht mit in die Ergebnisdarstellung integriert. In weiteren Analysen der Pflanzen könnten die Erfahrungen hilfreich für eine effektivere Datenerhebung und Auswertung sein.

Die F2-Pflanzungen wurden nur bezüglich der Fertilität im Vergleich zu den F1-Pflanzen ausgewertet. Von vielen Pflanzen der F2 war nicht bekannt, welche Gattung der Pollenvater war und die Genetik war ungeklärt. Darunter befanden sich Pflanzen des Typs FELxSEL, FELxLp und FELxFp. Dementsprechend heterogen war der Pflanzenbestand. Hinzu kam die häufig sehr geringe Zahl von Nachkommen pro Mutterpflanze.

Als weitere Erschwernis kommt hinzu, dass das Merkmal „Ährenschieben im Nachwuchs“ positiv mit der Gesamtsaatgutproduktion korreliert, jedoch als qualitätsminderndes Merkmal im Produktionsbestand unerwünscht ist. Dieses Merkmal ist *Lolium*-spezifisch und wurde z.B. im Rahmen der Wertprüfung wie auch der Landessortenversuche seit 2006 regelmäßig erfasst. Es tritt bei BC-Züchtungsgängen häufiger auf. Introgressionszüchtung zur Verbesserung von *Lolium*-Arten lieferte also generell einen höheren Samenertrag als Amphiploidiezüchtung, Ausnahmen sind jedoch vorhanden (GHESQUIÈRE & BOURGOIN, 2010). Bei der Züchtung an der Landesanstalt sollte man daher auch diesen Zusammenhang berücksichtigen, d.h. die Selektion auf Samenertrag ist mit einer Sicherung der Aufwuchsqualität zu verbinden. Die Möglichkeiten einer Marker-Assisted-Selection sollte geprüft werden.

Aufgrund der Untersuchungen von KOPECKÝ *et al.* (2006) ließ sich sagen, dass wohl keine *Festulolium*-Sorte über eine stabile Genombalance verfügt. Bei der *Festulolium*-Züchtung durch Nutzung der Amphiploidie wird mit fortschreitendem Zuchtgang der *Festuca*-Anteil am Genom geringer. Diese Beobachtungen konnte auch bei den Pflanzen der LfL, die mit GISH untersucht worden waren, festgestellt werden. Es ist

daher fraglich, ob es nicht besser wäre die Züchtung durch Introgression fortzuführen. Die genetische Struktur würde dadurch eventuell stabiler bleiben (ZWIERZYKOWSKI *et al.*, 2006). Das von der LfL angestrebte Zuchtziel eines diploiden Wiesenschwingels mit integriertem *Lolium*-Genom Anteil ist aus Sicht der Genombalance als positiv zu bewerten.

Interessant wird im folgenden Jahr die Frage sein, ob die *Festulolii*, deren Mutterpflanze Wiesenschwingel war, leichter mit Wiesenschwingel rückkreuzbar sind und sich die Fertilität wiederherstellt.

Inzwischen besteht die F1 Population aus 617 Einzelpflanzen und die BC1 Population aus 106 Einzelpflanzen. Aus kleinen Anfängen ist in diesem Bereich also Material und Erfahrung gewachsen, das vor einem nächsten Entwicklungsschritt gesichtet und bewertet wurde. Die bisherigen Ergebnisse wiesen auf eine hohe Variabilität hin. Es wurden F1-Pflanzen für Kreuzungen im nächsten Jahr zusammengestellt, die im Freiland von einem ausgewählten Wiesenschwingel-Genotyp befruchtet werden sollen. Hierzu wurden diese F1-Pflanzen von einem Mantel einer sehr stark verklonten Einzelpflanze umgeben (Abb. 7).

Fp	Fp	Fp	Fp
Fp	FEL1	FEL2	Fp
Fp	FEL3	FEL4	Fp
Fp	Fp	Fp	Fp

Abb. 7: Schematische Darstellung der Backcross-Anlagen. Fp-Pflanzen stellen einen einzigen Genotyp dar, die vier unterschiedliche FEL-Genotypen bestäuben sollen (FEL1-FEL4).

Alle F1-Pflanzen befanden sich seit Herbst 2011 in einer Klonbeobachtung und können in den nächsten Jahren unabhängig vom Kreuzungsjahr in einer Anlage inkl. Elternstandards verglichen werden.

Die Verifizierung der *Festulolii* wäre mit der GISH-Methode am einfachsten. Eine zusätzliche Analyse mit codominanten Markern würde zusätzliche Informationen liefern. Die Interpretation der Marker wäre aufgrund der GISH Daten einfacher und haltbarer. Im Zuge dieser Methode würde zusätzlich der Ploidiegrad der Pflanzen geklärt und aneuploide Organismen könnten von weiteren Züchtungsschritten ausgeschlossen werden. Triploide Pflanzen, die als F3 zu erwarten sind, könnten mit Colchizin aufgedoppelt und in einem getrennten Zuchtgang bearbeitet werden.

Für die Auswahl der Elternpflanzen wäre ein zusätzliches Beobachtungssortiment von Vorteil, vor allem um krankheitsanfällige Genotypen auszuschließen. Durch diese

Beobachtungen bestünde jedoch wieder die Gefahr von Mischhorsten. Für die Kreuzungen im Jahr 2012 wurde im Herbst 2011 neues Saatgut eingelegt, um diesen Faktor auszuschließen. Über die Qualität der Genotypen lässt sich daher aber nur direkt vor dem Kreuzungsvorgang etwas aussagen.

Nach der Etablierung einer effizienten Kreuzungstechnik und dem Aufbau einer ersten umfangreicheren Kreuzungspopulation. Wird es sinnvoll sein, je nach dem Grad der Fertilität gestaffelt, die Nachkommen in die an der Arbeitsgruppe etablierten und routinemäßig durchgeführten Resistenztests im Gewächshaus mit aufzunehmen. Diese Prüfungen umfassen im Standardumfang Prüfungen auf Kälte-, Fusarium- und Xanthomonasresistenz. Besonders letztere ist für dieses Kreuzungsprogramm wichtig da aus der Literatur bekannt ist, dass diese Krankheit als eines der größten Probleme der *Festulolium*-Züchtung gewertet werden muss. Auf Grund der geringen Individuenzahl wurden bisher nur Pflanzen, die im Gewächshaus starke Symptome zeigten aus dem Zuchtprogramm eliminiert.

Die Fragestellungen, die der vorliegenden Master-Thesis zu Grunde lagen, konnten nur teilweise beantwortet werden. Die Kombinationsfähigkeit in Bezug auf die Kreuzung ist vermutlich nicht nur vom Genotyp abhängig, sondern auch stark von der Handhabung während des Kreuzungsvorgangs. Um die Frage zu klären in wie weit die Kombinationsfähigkeit von Gattungen, Sorten oder einzelnen Genotypen abhängt müssten umfassendere Kreuzungsversuche angelegt werden, bei denen einzelne Lp-Genotypen mit einzelnen Fp-Genotypen wiederholt gekreuzt werden. Verluste während des Kreuzens dürften aufgrund ausreichender Anzahl an Wiederholungen nicht ins Gewicht fallen. Bei den F2- und BC-Generationen lässt sich jedoch die Aussage treffen, dass Deutsches Weidelgras im Allgemeinen für weitere Züchtungsschritte erfolgreicher wäre, was jedoch bei einem geplanten Rückkreuzungsprogramm in Richtung Wiesenschwingel logischerweise nicht möglich ist. Bei der reziproken F1-Kreuzung (Fp x Lp) muss erst die Qualität der Nachkommen im Feld bewertet werden.

Die bewerteten Merkmale wurden je nach Mutterpflanze unterschiedlich vererbt. Bei Krankheiten war dies stark von den Einzelpflanzen abhängig. Im Allgemeinen lagen die F1-Populationen im Mittel der Elternpopulationen, wobei die Einzelpflanze nicht immer den stärksten Einfluss hatte (siehe Wuchsform Orleans und Matiz). Allerdings waren die Umwelteffekte schwer abzuschätzen. Die Fertilität kann durch Kreuzung der Hybriden sowohl mit anderen Hybriden als auch mit Kreuzungen mit Lp restauriert werden. Die Anzahl BC1Fp-Pflanzen war noch nicht ausreichend hoch, um eindeutige Aussagen zu treffen. Bei allen Hybriden war eine große Spannweite zu beobachten. Es befanden sich auch Einzelpflanzen unter den FEL x FEL und FEL x ? Hybriden, die vollkommen steril waren. Die weibliche Fertilität war stark standortabhängig, wobei

eine Korrelation von 0,45 zwischen männlicher und weiblicher Fertilität errechnet wurde. Bei den BC1Fp-Pflanzen, die bonitiert werden konnten, wurde nur bei einer Pflanze eine zufriedenstellende männliche Fertilität beobachtet.

Der bearbeitete Zuchtgang befindet sich mit der Erstellung von Ausgangspopulationen noch in der Anfangsphase eines Zuchtprogramms. Es besteht jedoch berechnete Hoffnung, dass es in mehreren Jahren möglich sein wird aus verbesserten Genotypen eine auch in Vielschnittwiesen konkurrenzfähige Wiesenschwingel-Sorte zu erstellen. Bereits diese ersten Vorbeobachtungen mit geringem Umfang zeigten das Potential, das in den vorliegenden Kreuzungen steckt.

7. Literaturverzeichnis

Bücher:

- CERNOCH, V., HOUDEK, I., CAPKA, R., 2004. *Festulolium* - grass for future. Bericht über die 55. Tagung 2004 der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs. S.87-90.
- DIETL, W., LEHMANN, J., JORQUERA, M., 1998. Wiesengräser. Landwirtschaftliche Lehrmittelzentrale, Zollikofen, S. 160.
- FEUERSTEIN, U., 2010. *Festulolium* hybrids compared to current *Lolium* (ryegrass) and *Festuca* (fescue) cultivars. In: KOSMALA, A., HUMPHREYS, M., GHESQUIÈRE, M., ZWIERZYKOWSKI, Z., 1st *Festulolium* Working Group Workshop - Final Report. Institute of Plant Genetics of the Polish Academy of Sciences, Poland, S. 10-11.
- FISCHER, W., LÜTKE ENTRUP, E., 1978. Die wichtigsten Gräser. Mensing GmbH & Co. KG, Norderstedt, S. 72.
- GHESQUIÈRE, M., MI, F., HAZARD, L., POISSON, C., 1994. Leaf growth genetic variability among various polyploid ryegrass x fescue hybrids involving *Festuca arundinacea* var. *glaucescens*. In: ROGNIL, O.A., SOLBERG, E., SCHJELDERUP, I., Breeding Fodder Crops for Marginal Conditions, Proceedings of the 18th Fodder Crops Section Meeting, Loen, Norway, 25-28 August 1993. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, S. 293-294.
- GHESQUIÈRE, M., BOURGOIN, T., 2010. Seed Yield of New *Festulolium* Varieties Bred from *F. arundinacea* var. *glaucescens*. In: HUYGHE, CHRISTIAN, Sustainable Use of Genetic Diversity in Forage and Turf Breeding. Springer, Netherlands, S. 529-534.
- GHESQUIÈRE, M., HUMPHREYS, M., ZWIERZYKOWSKI, Z., 2010a. *Festulolium*. In: BOLLER, BEAT, POSSELT, ULRICH, VERONESI, FABIO, Handbook of Plant Breeding - Fodder Crops and Amenity Grasses. Springer, New York, S. 293-317.
- GHESQUIÈRE, M., HUMPHREYS, M., ZWIERZYKOWSKI, Z., 2010b. *Festulolium* Hybrids: Results, Limits and Propects. In: HUYGHE, CHRISTIAN, Sustainable Use of Genetic Diversity in Forage and Turf Breeding. Springer Science + Business Media B.V., Dordrecht Heidelberg London New York, S. 495-507.
- HEPTING, L., OLTMANN, W., 1985. Mais. In: HOFFMANN, W., MUDRA, A., PLARRE, W., Lehrbuch der Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen Band 2 spezieller Teil. Paul Parey, Berlin und Hambur, S. 170.
- KLAPP, E., 1965. Taschenbuch der Gräser. Paul Parey, Berlin, S. 156.
- LEWIS, E.J., TYLER, B.F., CHORLTON, K.H., 1973. Development of *Lolium-Festuca* hybrids. Report Welsh Plant Breeding Station for 1972. S.34-37.

- MISSI-BAKOUR, N., DURAND, J., GHESQUIÈRE, M., 2010. Test and Selection of *Festuca/Lolium* Specific Markers for *Festulolium* Genetic Investigations. In: HUYGHES, C., Sustainable Use of Genetic Diversity in Forage and Turf Breeding. Springer, Netherlands, S. 233-238.
- NITZSCHE, W., SCHUSTER, W., SIMON, U., 1985. Futter-, Rasen und Gründüngungspflanzen. In: HOFFMANN, WALTHER, MUDRA, ALOIS, PLARRE, WERNER, Lehrbuch der Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. Paul Parey, Berlin und Hamburg, S. 383-390.
- ØSTREM, L., LARSEN, A., 2010. Fiber Content and Plant Development in *Festulolium*. In: HUYGHE, CHRISTIAN, Sustainable Use of Genetic Diversity in Forage and Turf Breeding. Springer, Netherlands, S. 563-568.
- TERRELL, E.E., 1968. A Taxonomic Revision of the Genus *Lolium*. Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, Washington, D.C., S. 15-24.
- USHIYAMA, K., ARAKAWA, A., KOMATSU, T., 2004. Breeding and evaluation of *Festulolium* cultivars in warm region of Japan. In: YAMADA, T., TAKAMIZO, T., Development of a Novel Grass with Environmental Stress Tolerance and High Forage Quality Through Intergeneric Hybridization Between *Lolium* and *Festuca*. National Agriculture and Bio-oriented Research Organization, Tsukuba, Japan, S. 69-74.
- Zeitschriften:
- BORRILL, M., TYLER, B., MORGAN, W., 1976. Studies in *Festuca*. VII. Chromosome atlas (part 2). An appraisal of chromosome race distribution and ecology, including *F. partensis* var. *appenina* (De Not.) Hack, - tetraploid. Cytologia. 41:219-236.
- BUCKNER, R., HILL, H., BURRUS, P.B., 1961. Some Characteristics of Perennial and Annual Ryegrass X Tall Fescue Hybrids and of the Amphidiploid Progenies of Annual Ryegrass X Tall Fescue. Crop Science. 1:75-80.
- BUCKNER, R.C., BURRUS, P.B., BUSH, L.P., 1977. Registration of "Kenhy" tall fescue. Crop Science. 17:672-673.
- BUCKNER, R., BUSH, L., BURRUS, P., 1979. Succulence as a Selection Criterion for Improved Forage Quality in *Lolium-Festuca* Hybrids. Crop Sciences. 19:89-93.
- BUCKNER, R.C., BOLING, J.A., BURRUS, II., BUSH, L.P., HEMKEN, R.A., 1983. Registration of "Johnstone" tall fescue. Crop Science. 23:399-400.
- FOJTIK, A., 1994. Methods of grass improvement used at the plant breeding station Hladké Životice. Genet. Pol. 35A:25-31.
- GHESQUIÈRE, M., BARRE, PH., MARHADOUR, S., 2000. Estimation of introgression rate of a fescue isozymic marker into tetraploid Italian ryegrass at early generations of backcross. Euphytica. 114:223-231.

- GYMER, P., WHITTINGTON, W., 1973. Hybrids between *Lolium perenne* L. and *Festuca pratensis* Huds. I. Crossing and Incompatibility. *New Phytologist*. 72:411-424.
- HUMPHREYS, M., GHESQUIÈRE, M., 1994. Assessing success in gene transfer between *Lolium multiflorum* and *Festuca arundinacea*. *Euphytica*. 77:283-289.
- HUMPHREYS, M., THOMAS, H.-M., HARPER, J., MORGAN, G., JAMES, A., GHAMARI-ZARE, A., THOMAS, H., 1997. Dissecting Drought- and Cold-Tolerance Traits in the *Lolium-Festuca* Complex by Introgression Mapping. *New Phytologist*. 137:55-60.
- HUMPHREYS, M.W., PASAKINSKIENE, I., JAMES, A.R., THOMAS, H., 1998. Physically mapping quantitative traits for stress-resistance in the forage grasses. *Journal of Experimental Botany*. 49 (327):1611-1618.
- JAUHAR, P., 1975. Chromosome Relationships between *Lolium* and *Festuca* (Gramineae). *Chromosoma*. 52:103-121.
- JENKIN, T., 1933. Interspecific and intergeneric hybrids in herbage grasses. Initial crosses.. *Journal of Genetics*. 28:205-264.
- JENKIN, T., 1955a. Interspecific and intergeneric hybrids in herbage grasses XVI. *Lolium perenne* and *Festuca pratensis* with references to *Festuca loliacea*. *Journal of Genetics*. 53:379-441.
- JENKIN, T., 1955b. Interspecific and intergeneric hybrids in herbage grasses XVIII. Various crosses including *Lolium rigidum* sens.ampl. with *L. temulentum* and *L. loliaceum* with *Festuca pratensis* and with *F. arundinacea*. *Journal of Genetics*. 53:467-486.
- JENKIN, T., 1955c. Interspecific and intergeneric hybrids in herbage grasses. XII. *Festuca capillata* in crosses. *Journal of Genetics*. 53:105-111.
- KING, J., ARMSTEAD, I., DONNISON, I., HARPER, J.A., THOMAS, H., OUGHAM, H., THOMAS, A., HUANG, L., KING, I., 2007. Introgression mapping in the grasses. *Chromosome Research*. 15:105-113.
- KLEIJER, G., 1984. Cytogenetic studies of crosses between *Lolium multiflorum* Lam. and *Festuca arundinacea* Schreb. III. The generations C1, C2 and C3. *Plant Breeding*. 99:144-150.
- KOPECKÝ, D., LOUREIRO, J., ZWIERZYKOWSKI, Z., GHESQUIÈRE, M., DOLEZEL, J., 2006. Genome constitution and evolution in *Lolium x Festuca* hybrid cultivars (*Festulolium*). *Theoretical Applied Genetics*. 113:731-742.
- LUKASZEWSKI, A.J., LAPINSKI, B., RYBKA, K., 2005. Limitations of in situ hybridization with total genomic DNA in routine screening for alien introgressions in wheat.. *Cytogenetic Genome Research*. 109:373-377.
- PETO, F., 1933. The cytology of certain intergeneric hybrids between *Festuca* and *Lolium*. *Journal of Genetics*. 28:113-156.

- REUSCH, J.D.H., 1959. The nature of the genetic differentiation between *Lolium perenne* and *Festuca pratensis*. S. Afr. J. agric. Sci. 2:271.
- SCHWARZACHER, T., LEITCH, A., BENNETT, M., HESLOP-HARRISON, J., 1989. In Situ Localization of Parental Genomes in a Wide Hybrid. Annals of Botany. 64:315-324.
- SUTER, D., BRINER, H., MOSIMANN, E., DEMENGA, M., JEANGROS, B., 2007. Offizielle Sortenversuche mit *xFestulolium braunii*. AGRARForschung. 14:294-299.
- THOMAS, H., HUMPHREYS, M., 1991. Review: Progress and potential of interspecific hybrids of *Lolium* and *Festuca*. The Journal of Agricultural Science. 117:1-8.
- TOUNO, E., KUSHIBIKI, S., SHINGU, H., SHINODA, M., OSHIBE, A., ODA, S., SAIGA, S., 2011. Evaluation of *festulolium (x Festulolium Braunii)* "Paulita" haylage in dairy cows: Nutritive value, dry matter intake, animal performance and rumen degradability. Grassland Science. 57:51-57.
- VOS, P., HOGERS, R., BLEEKER, M., REIJANS, M., VAN DE LEE, T., 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research. 23:4407-4414.
- WIT, F., 1959. Hybrids of ryegrasses and meadow fescue and their value for grass breeding. Euphytica. 8:1-12.
- ZARE, A., HUMPHREYS, M., ROGERS, J., MORTIMER, A., COLLIN, H., 2002. Androgenesis in a *Lolium multiflorum x Festuca arundinacea* hybrid to generate genotypic variation for drought resistance. Euphytica. 125:1-11.
- ZWIERZYKOWSKI, Z., 1980. Hybrid of *Lolium multiflorum* Lam. (2n=14) x *Festuca arundinacea* Schreb. (2n=42) and its allopolyploid derivatives. I. Morphology, fertility and chromosome number of F1 Hybrids and C0 and C1 derivatives. Genet. Pol. 21:259-273.
- ZWIERZYKOWSKI, Z., ZWIERZYKOWSKA, E., 1994. Intergeneric hybridization within the *Lolium-Festuca* complex. Genet. Pol. 35A:65-71.
- ZWIERZYKOWSKI, Z., KOSMALA, A., ZWIERZYKOWSKA, E., JONES, N., JOKS, W., BOCIANOWSKI, J., 2006. Genome balance in six successive generations of the allotetraploid *Festuca pratensis x Lolium perenne*. Theoretical Applied Genetics. 113:539-547.

Onlinequellen:

- AMPUERO KRAGTEN, S., 2008. Bestimmung des Fasergehaltes in Futtermitteln bei ALP. (Zugriff: 05.August 2011). Verfügbar unter www.agroscope.admin.ch/futtermittel/04149/04150/index.html?...
- AMT FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND FORSTEN, 2011. 1. Unser Dienstgebiet: die Landkreise Erding und Freising. (Zugriff: 03. August 2011). Verfügbar unter http://www.aelf-ed.bayern.de/daten_fakten/27081/index.php

- BLAICH, R., STÖSSER, G., 2011. Blüten- und Fruchtbologie (AA: B01022). (Zugriff: 24. September 2011). Verfügbar unter <https://www.uni-hohenheim.de/lehre370/weinbau/befrucht/index.htm>
- BUNDESMINISTERIUM DER JUSTIZ, 2010. Verordnung über das Artenverzeichnis zum Saatgutverkehrsgesetz. (Zugriff: 01. April 2011). Verfügbar unter http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/saatartverzv_1985/gesamt.pdf
- BUNDESSORTENAMT, 2000. Richtlinien für die Durchführung von landwirtschaftlichen Wertprüfungen und Sortenversuchen. (Zugriff: 16. März 2011). Verfügbar unter http://www.bundessortenamt.de/internet30/fileadmin/Files/PDF/Richtlinie_LW2000.pdf
- BUNDESSORTENAMT, 2003. Beschreibende Sortenliste, Futtergräser, Esparsette, Klee, Luzerne. (Zugriff: 10. März 2011). Verfügbar unter <http://www.bundessortenamt.de/internet30/index.php?id=23>
- BUNDESSORTENAMT, 2009. Beschreibende Sortenliste, Futtergräser, Esparsette, Klee, Luzerne. (Zugriff: 10. März 2011). Verfügbar unter http://www.bundessortenamt.de/internet30/fileadmin/Files/PDF/bsl_futtergraeser_2009.pdf
- BUNDESSORTENAMT, 2010. Bundessortenamt Landwirtschaftliche Wertprüfung. (Zugriff: 10. März 2011). Verfügbar unter http://www.bundessortenamt.de/Downloads/WP/Neuzulassungen_Wert/wert_fel_2009.pdf
- DLF TRIFOLIUM, 2010. The Marketing Newsletter - Prograss. (Zugriff: 25. März 2011). Verfügbar unter http://www.dlf.com/upload/prograss_0610_web_002.pdf
- DLF TRIFOLIUM, 2011. Achilles/*Festulolium*. (Zugriff: 25. März 2011). Verfügbar unter http://www.dlf.com/Home/DLF_Trifolium_D/Futtergraser/Festulolium/Achilles.aspx
- DSV DEUTSCHE SAATVEREDELUNG, 2011. LIFEMA - Wiesenschweidel. (Zugriff: 25. März 2011). Verfügbar unter http://www.dsv-saaten.de/futterbau_und_gruenland/graeser/wiesenschweidel/
- FREISING, GROÙE KREISSTADT, 2011. Wirtschaft: Fläche und Lage. (Zugriff: 03. August 2011). Verfügbar unter <http://www.freising.de/wirtschaft/standort-freising/zahlen-daten-fakten/flaeche-lage.html>
- HEINZ, S., KUHN, G., 2008. 20 Jahre Bodendauerbeobachtung in Bayern. Teil 2: Vegetation auf Äckern und Grünland. Schriftenreihe der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft. ISSN 1611-4159. (Zugriff 13. September 2011), Verfügbar unter http://www.lfl.bayern.de/publikationen/daten/schriftenreihe/p_30003.pdf
- LFL, 2010. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft. Agrarmeteorologisches Messnetz Bayern - Wetterdatenabruf. (Zugriff: 13. September 2011). Verfügbar unter <http://www.lfl.bayern.de/agm/lflinclude.php?url=/agm/station/w008info.htm>
- ØSTREM, L., LARSEN, A., 2008. Bioforsk Norwegian Institute for Agricultural and Environmental Research. (Zugriff: 01. 08 2011). Verfügbar unter http://www.bioforsk.no/ikbViewer/Content/35573/plakat_%D8strem.pdf

UPOV, 2002. Allgemeine Einführung zur Prüfung auf Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit und Erarbeitung harmonisierter Beschreibungen von neuen Pflanzensorten, Genf. (Zugriff: 10. März 2011). Verfügbar unter <http://www.upov.int/de/publications/tg-rom/tg001>

8. Anhang

Tab. 4: Zusammenfassung aller bisher zugelassener *Festulolium*-Sorten
zusammengestellt nach CERNOCH *et al.*, 2004 und ZWIERZYKOWSKI *et al.*, 2006

Sortennamen	Herkunftsland	Abstammung	Ploidie
Paulita	Deutschland	<i>L. multiflorum</i> x <i>F. pratensis</i>	Tetraploid
Paulena	Deutschland	<i>L. multiflorum</i> x <i>F. pratensis</i>	Tetraploid
Perun	Tschechische Republik	<i>L. multiflorum</i> x <i>F. pratensis</i>	Tetraploid
Achilles	Tschechische Republik	<i>L. multiflorum</i> x <i>F. pratensis</i>	Tetraploid
Perseus	Tschechische Republik	<i>L. multiflorum</i> x <i>F. pratensis</i>	Tetraploid
Bečva	Tschechische Republik	<i>L. multiflorum</i> 2x x <i>F. arundinacea</i> 6x	Typ Lm 4x
Lofa	Tschechische Republik	<i>L. multiflorum</i> 2x x <i>F. arundinacea</i> 6x	Typ Lm 4x
Felina	Tschechische Republik	<i>L. multiflorum</i> 2x x <i>F. arundinacea</i> 6x	Typ Fa 6x
Hykor	Tschechische Republik	<i>L. multiflorum</i> 2x x <i>F. arundinacea</i> 6x	Typ Fa 6x
Korina	Tschechische Republik	<i>L. multiflorum</i> 2x x <i>F. arundinacea</i> 6x	Typ Fa 6x
Lesana	Tschechische Republik	<i>L. multiflorum</i> 2x x <i>F. arundinacea</i> 6x	Typ Fa 6x
Felopa	Polen	<i>F. pratensis</i> x <i>L. multiflorum</i>	Tetraploid
Sulino	Polen	<i>F. pratensis</i> x <i>L. multiflorum</i>	Tetraploid
Rakopan	Polen	<i>L. multiflorum</i> x <i>F. pratensis</i>	Tetraploid
Agula	Polen	<i>F. pratensis</i> x <i>L. multiflorum</i>	Tetraploid
Punia	Litauen	<i>L. multiflorum</i> x <i>F. pratensis</i>	Tetraploid
Spring Green	USA	(<i>L. perenne</i> x <i>F. pratensis</i>) x (<i>L. multiflorum</i> x <i>F. pratensis</i>)	Tetraploid
Duo	USA	<i>L. perenne</i> x <i>F. pratensis</i>	Tetraploid
Matrix	Neuseeland	<i>L. perenne</i> x <i>F. pratensis</i>	Diploid
Emrys	UK	<i>L. multiflorum</i> x <i>F. pratensis</i>	Tetraploid
Elmet	UK	<i>L. multiflorum</i> x <i>F. pratensis</i>	Tetraploid
Prior	UK	<i>L. perenne</i> x <i>F. pratensis</i>	Tetraploid

Tab. 5: Saatgutertrag verschiedener *Festulolium*-Sorten mit Vergleichssorten (Mittelwerte mit gleichen Buchstaben sind nicht signifikant verschieden (P =0,05)) nach GHESQUIÈRE & BOURGOIN, 2010

Sorte	Typ (Ploidie)	Saatgutertrag nach Feindrusch (dt/ha)
Tonyl	Lm (4x)	12,3 ^a
Lofa	BC1Fa → Lm (4x)	11,9 ^{ab}
99.4	BC1Fa → Lm (4x)	11,2 ^{abc}
Paulita	Fp x Lm (4x)	10,5 ^{abcd}
01.1	BC1Fg → Lp (4x)	9,9 ^{abcde}
Delicial	Lm x Lp (4x)	9,0 ^{bcdef}
Fastyl	Lm (2x)	8,7 ^{cdef}
Lueur	Lm x Fg (4x)	8,1 ^{defg}
Felopa	Fp x Lm (4x)	7,6 ^{degh}
Aberexel	Lm x Lp (4x)	7,3 ^{efgh}
Duo	BC1 Fp → Lp (4x)	7,1 ^{efgh}
Lifema	Lm x Fp (4x)	6,3 ^{fgh}
Luxane	Lm x Fg (4x)	5,7 ^{gh}
Lusilium	Lm x Fg (4x)	5,5 ^{gh}
Barolex	Fa (6x)	5,1 ^{hi}
Stella	Fp (2x)	5,0 ^{hi}
Dulcia	Fa(6x)	2,3 ^{ij}
<i>F. glaucescens</i>	Fg (4x)	2,0 ⁱ
Lunibelle	Fa (ca 10x)	1,6 ^j
LSD (P<0,05)		2,9

Tab. 6: Beschreibende Sortenliste der verwendeten Deutschen Weidelgräser, ohne Iduna (verändert nach BUNDESSORTENAMT, 2003; BUNDESSORTENAMT, 2009).

Sortenbezeichnung	Ährenschieben	Massenb. im Anfang	Neigung zu Auswinterung	Blütenstandsblg. im Nachw.	Anfälligkeit für Rost	Ausdauer	Narbensdichte	Trockenmasseertrag Gesamt	Ährenschieben; Tage nach dem 1. April
<i>Ährenschieben sehr früh</i>									
Ivana	1	7	3	-	6	6	6	6	29
<i>Ährenschieben sehr früh bis früh</i>									
Lipresso	2	6	4	5	6	6	5	6	41
<i>Ährenschieben früh</i>									
Abersilo	3	5	5	-	4	6	5	6	46
<i>Ährenschieben früh bis mittel</i>									
Respect	4	5	5	4	5	7	5	6	51
<i>Ährenschieben mittel</i>									
Niata	5	5	5	-	5	6	6	6	53
<i>Ährenschieben mittel bis spät</i>									
Arabella	6	5	4	-	4	6	5	6	58
<i>Ährenschieben spät</i>									
Aberavon	7	5	6	3	4	5	5	7	59
Gladio	7	4	5	3	5	6	6	6	61
Orleans	7	4	5	-	4	7	6	6	-
Skiron	7	5	5	3	3	5	5	6	61
<i>Ährenschieben spät bis sehr spät</i>									
Campania	8	5	5	-	4	7	6	6	-
Kabota	8	5	4	-	5	7	6	6	62
Octavio	8	5	5	3	4	6	6	6	64
<i>Ährenschieben sehr spät</i>									
Matiz	9	5	5	-	4	6	5	6	71

Tab. 7: Beschreibenden Sortenliste der verwendeten Wiesenschwingel (verändert nach BUNDESSORTENAMT, 2009)

Sortenbezeichnung	Rispschieben	Massenb. im Anfang	Neigung zu Auswinterung	Anfälligkeit für Rost	Ausdauer	Narbendichte	Trockenmasseertrag Gesamt	Ährenschieben; Tage nach dem 1. April
Cosmolit	5	6	4	5	7	7	5	46
Lifara	5	6	5	5	6	6	5	47
Pradel	5	6	4	5	7	6	6	46
Preval	5	7	4	4	7	5	6	46

Tab. 8: Induktionsmedium. Embryonenkultur bei Weizen x Mais (persönl. Kommunikation BAUMANN)

Makronährstoffe	Konzentration im Medium mg/Ltr.	Einwaage Stammlösung in g/Ltr.	Zugabe von....ml/Ltr.	Stammlösung
KNO ₃	950	19		
NH ₄ NO ₃	825	16,5		
KH ₂ PO ₄	85	1,7		
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	185	3,7		
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	220	4,4	50	MS I
Mikronährstoffe	Konzentration im Medium mg/Ltr.	Einwaage Stammlösung g/Ltr.	Zugabe von....ml/Ltr.	Stammlösung
H ₃ BO ₃	6,2	0,62		
MnSO ₄ x H ₂ O	16,9	1,69		
ZnSO ₄ x 7 H ₂ O	8,6	0,86		
KJ	0,83	0,083		
Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	0,25	0,025	10	MS II
CoCl ₂ x 6 H ₂ O	0,025	0,025		
CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0,025	0,025	1	Gamborg
	Konzentration im Medium mg/Ltr.	Einwaage Stammlösung g/Ltr.	Zugabe von....ml/Ltr.	
Inosit	100	10	10	
Thiamin	0,1	0,01	10	
Nicotinsäure	0,5	0,1	5	
Pyridoxin	0,5	0,1	5	
Glycine	2	0,1	20	
BAP	0,5	0,1	5	
IAA	0,4	0,1	4	
			direkte Zugabe	
FeNa₂-EDTA	40 mg/Ltr.		0,04 g/Ltr.	
Glutamin	146 mg/Ltr.		0,146 g/Ltr.	
Saccharose	20 g/Ltr.		20,0 g/Ltr.	
Gelrite	3,4 g/Ltr.		3,4 g/Ltr.	
pH	5,8		5,8	

Tab. 9: Regenerationsmedium. Embryonenkultur bei Weizen x Mais (persönl. Komm. BAUMANN)

Makronährstoffe	Konzentration im Medium mg/Ltr.	Einwaage Stammlösung g/ Ltr.	Zugabe von....ml/Ltr.	Stammlösung
KNO ₃	1900	19,00		
NH ₄ NO ₃	165	1,65		
KH ₂ PO ₄	170	1,7		
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	370	3,7		
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	440	4,4	100	G I
Mikronährstoffe	Konzentration im Medium mg/Ltr.	Einwaage Stammlösung g/Ltr.	Zugabe von....ml/Ltr.	Stammlösung
H ₃ BO ₃	6,2	0,62		
MnSO ₄ x H ₂ O	16,8	1,68		
ZnSO ₄ x 7 H ₂ O	8,6	0,86		
KJ	0,83	0,83		
Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	0,25	0,25		
CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0,025	0,025	1	G III
	Konzentration im Medium mg/Ltr.	Einwaage Stammlösung g/l	Zugabe von....ml/Ltr.	
Inosit	100	10	10	
Thiamin	0,4	0,1	4	
			direkte Zugabe	
FeNa₂- EDTA	40 mg/Ltr.		0,04 g/Ltr.	
L-Glutamin	750 mg/Ltr.		0,75 g/Ltr.	
Saccharose	20 g/Ltr.		20 g/Ltr.	
Gelrite	3,0 g/Ltr.		3,0 g/Ltr.	
pH	5,8		5,8	

Tab. 10: Verwendete Lösungen Embryonenkultur und Test der männlichen Fertilität

Hormonbehandlung (Dicamba-Lösung)	100ppm Dicamba (Fluka - 45430)	20 ppm BAP (Benzylaminopurin) (Serva 14812.01)
Desinfektion der Karyopsen	Natriumhypochlorid (VWR 27900.296) 14%ig. Anwendung bei Weizen x Mais ist ca. 4-6 %ig und einige Tropfen Tween 80 (Serva 37475.01)	
Jod-Kalium-Jodid (Lugols-Lösung)	1gr. Kaliumjodid in 100 ml dest. H ₂ O lösen. In diese Lösung 1 gr. Jod zugeben (schlecht löslich) und nochmals 100 ml H ₂ O zugeben.	Oder fertige Lugols-Lösung (Merck Nr. 9261)

WEG												8,00 m		
5.Beet	LUZ 3	freie Fläche				Pp Px4 Erhaltung	FEL (Kreuzungserfolg 2009) 187	Deutsches Weidelgras Ausgangsmaterial (Reselektion)					6,00 m	
4.Beet	Wiesenrispe Einzelpflanzenbeobachtung		Knaulgras Einzelpflb.				Deutsches Weidelgras Ausgangsmaterial (Reselektion)					2,50 m		
3.Beet	Wiesenrispe Einzelpflanzenbeobachtung											6,00 m		
2.Beet	Dg Erh Px3	Lp2n Erh Px2	Fp Erh Px2	Lp4n Erh Px1	Fp Erh Px3	Lp4n Erh Px4	Fp Px1	Lp 2n Px1	freie Fläche	Lp 2n Px2	LUZ 4	Freie Fläche	2,50 m	
1.Beet	Fp Erh. (2)		Dg Erh. (3)		Lp Erh. (2)	Pp Erh. 1,2 x 1,2		Tp Erh. 1,2 x 1,2	Lp4n Erh Px2	Dg Erh Px1	Lp4n Erh Px3	Dg Erh Px2	Fp Erh Px1	6,00 m
WEG														
79,7m = 132 Reihen = 1320 Pflanzen / Beet möglich Pp = 1,2m x 1,2m														
← 79,70 m →														

Abb. 9: Übersicht der Pflanzungen am Standort "Pulling", Schlag Pulling 6

Schlüter 13 / 3												12,00 m							
11.Beet	Lp 2n Klonbeobachtung				Lp4n Px1	Lp4n Px2	Php Px2	Kreuzung Lp x Lp	Php Px4	Lp 4n Px3			6,00 m						
10.Beet	Pp Klonbeobachtung										Fp Px3	2,50 m							
9.Beet	Php Klonbeobachtung				Fp Px1				Pp Klonbeobachtung				6,00 m						
8.Beet	Fp Artkreuzung				Fp Klonbeobachtung				Fp Klonbeobachtung				Fp Px2	6,00 m					
7.Beet	Lp 2n Klonbeobachtung	Lp4n Klonbeobachtung	Lp4n Klonbeobachtung	Dg Klonbeobachtung				Lp Artkreuzung				6,00 m							
6.Beet	Lp4n (3) Erhalt.	FEL (F2) 163	FEL (F2) 164	FEL Kreuzung 07 Eifflb 165	Lp 2n Klonbeobachtung				Lp 2n Klonbeobachtung	Lp 2n Klonbeobachtung			6,00 m						
5.Beet	Fp 128	Php(a) 129	Lp 4n 130	Php(b) 131	Lp 4n 132	Lp 2n 133	Php (1)	Lp2n (1)	Php (2)	Lp2n (2)	Php (3)	Lp2n (3)	Fp (Anth)	Lp2n (4)	Php (4)	Lp4n (1)	Php (5)	Lp4n (2)	6,00 m
← Erhaltenen →																			
Weg																			

Abb. 10: Übersicht der Pflanzungen am Standort "Pulling", Schlag Schlüter 13/3

Tab. 11: Zusammensetzung der Hydropony - Lösung für GISH Analyse (pers. Kommunikation mit Dr. David Kopecký)

Nährstoff für 1l Stammlösung:	Menge
Lösung A (Makronährstoffe)	Menge in g (jeder Stoff wird einzeln in 50ml dest. Wasser gelöst)
Ca(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O (Duchefa)	9,4
MgSO ₄ x 7 H ₂ O (Duchefa)	5,2
KNO ₃ (Roth)	6,6
NH ₄ H ₂ PO ₄ (Duchefa)	1,2
Lösung B (ergibt 100ml)	Menge in mg
H ₃ BO ₃ (Roth)	280
MnSO ₄ x H ₂ O (Fluka)	340
CuSO ₄ x 5 H ₂ O (Fluka)	10
ZnSO ₄ x 7 H ₂ O (Roth)	22
Na ₂ MoO ₄ x 2H ₂ O (Fluka)	10
Lösung C (ergibt 100ml)	Menge in ml
H ₂ SO ₄ (Merck)	0,5
Lösung D (ergibt 5ml für 1l Hydropony-Lösung)	Menge in mg in 5ml dest. Wasser
FeEDTA (Fluka)	50
Die Nährstoffe aus Lösung A werden vermischt und mit 10ml Lösung B und 1 ml Lösung C mit dest. Wasser auf 1l Stammlösung aufgefüllt. 100ml dieser Stammlösung werden für 1l Hydropony – Lösung benötigt. Zu 1l Hydropony - Lösung wird Lösung D hinzugefügt.	

Tab. 12: Verwendete Programmcodes SAS 9.2

Varianzanalyse mit Student-Newman-Keuls-Test zur Darstellung der Signifikanzen

```
proc glm Data=samenertrag;
  Class fam ;
  Model ertrag = fam / ss3;
  means fam /alpha=0.05 snk;*cldiff nosort*;
run;
```

Mixed Modells:

```
proc mixed Data=dichteltern;
  Class njahr fam ;
  Model dicht = fam;
  random njahr njahr*fam; ods output diffs=diffs
lsmeans=lsmeans; lsmeans fam /pdiff; %mult(trt=fam,
alpha=0.05); * %mult(trt=fam, alpha=0.05, p=adjp); run;
```

```
proc mixed Data=dichtnkalle;
  Class njahr fam ort;
  Model dicht = fam;
  random ort njahr njahr*fam ort*fam; ods output diffs=diffs
lsmeans=lsmeans; lsmeans fam /pdiff; %mult(trt=fam,
alpha=0.05); * %mult(trt=fam, alpha=0.05, p=adjp); run;
```

```
proc mixed Data=mbeltern;
  Class njahr fam ;
  Model mb = fam;
  random njahr njahr*fam; ods output diffs=diffs
lsmeans=lsmeans; lsmeans fam /pdiff; %mult(trt=fam,
alpha=0.05); * %mult(trt=fam, alpha=0.05, p=adjp); run;
```

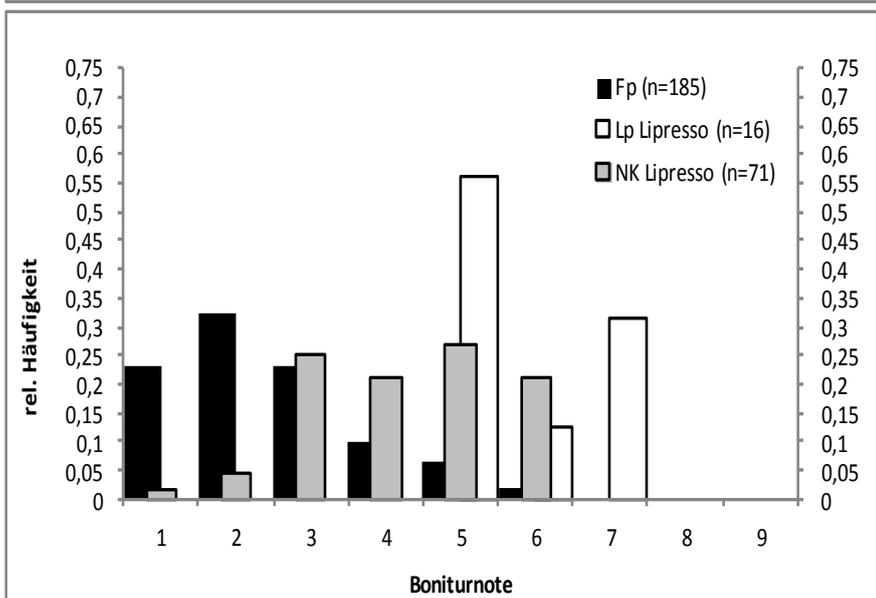
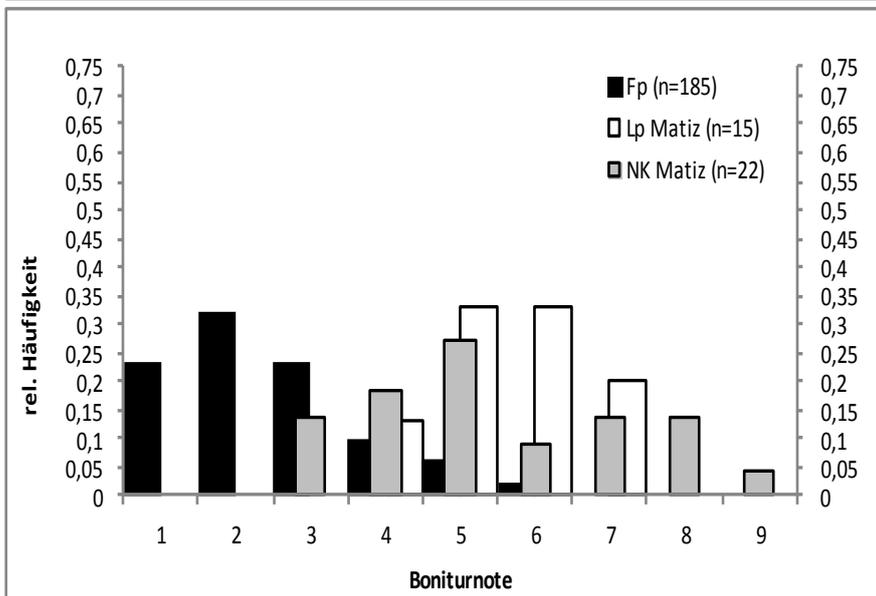
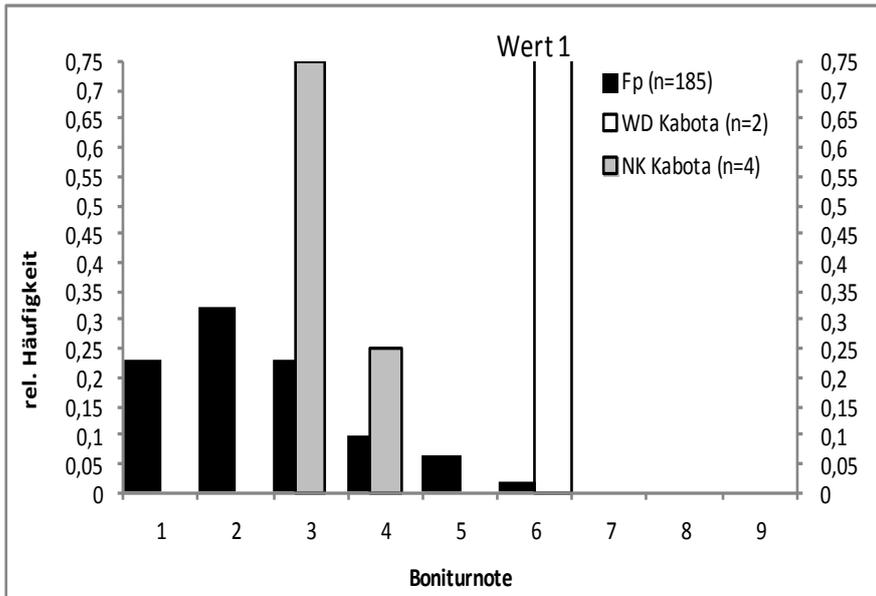
```
proc mixed Data=mbnkalle;
  Class njahr fam ort jahr;
  Model mb = fam;
  random ort jahr njahr ort*njahr*jahr njahr*fam ort*fam
jahr*fam; ods output diffs=diffs lsmeans=lsmeans; lsmeans fam
/pdiff; %mult(trt=fam, alpha=0.05); * %mult(trt=fam,
alpha=0.05, p=adjp); run;
```

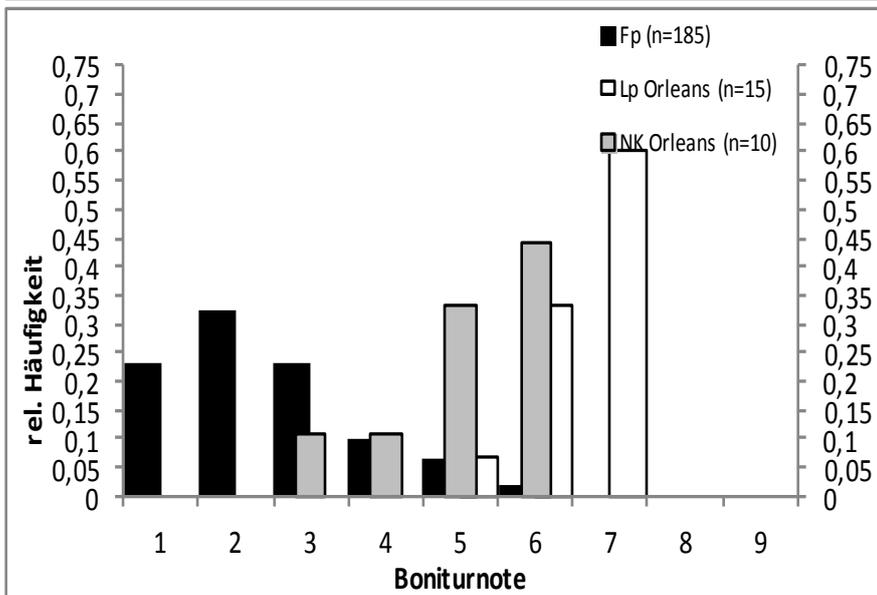
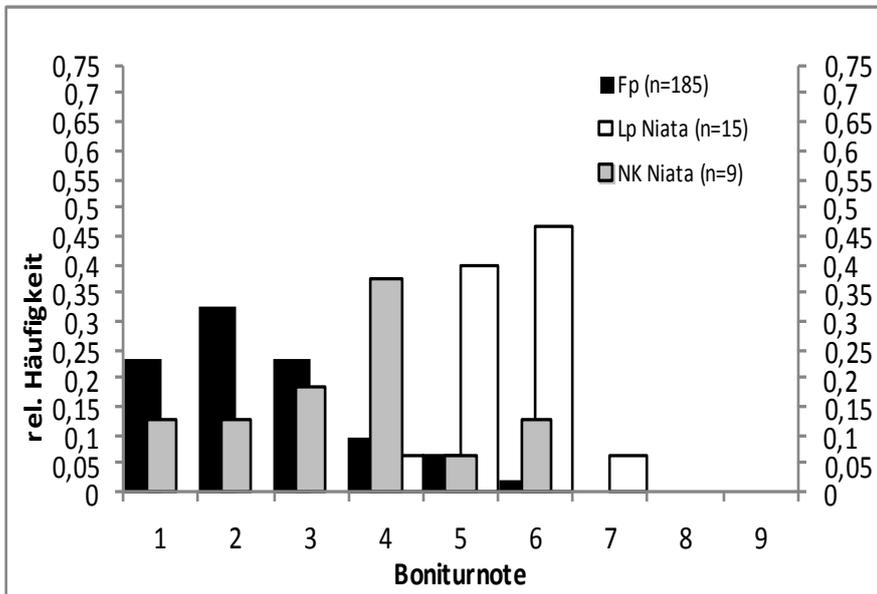
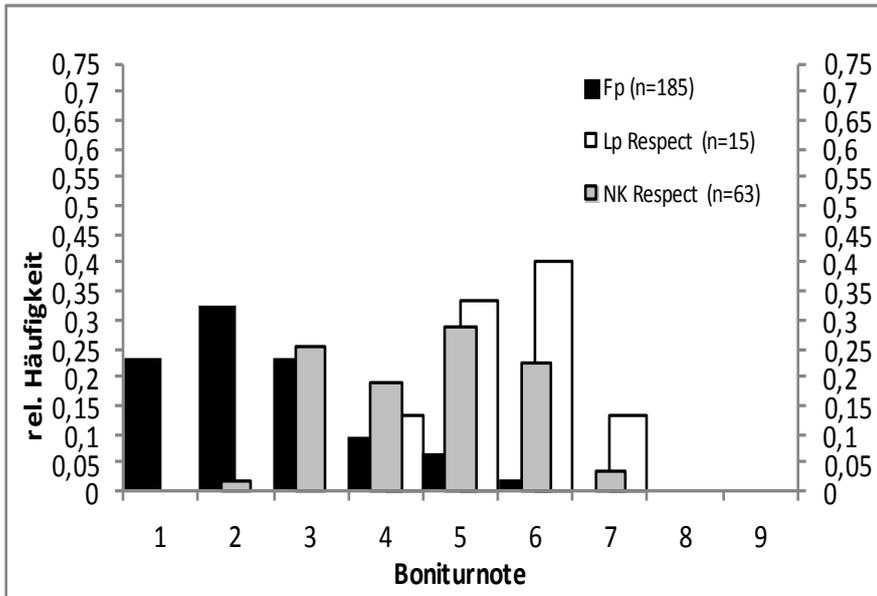
Tab. 13: Ergebnisse der GISH Analyse. L=Lolium, F=Festuca, T=Translokation

Tubenr.	Kreuzungsjahr	Pflanze	Züchtungs- generation	Genomzusam- mensetzung
1	Kr. 2011	NK FEL 68/2 I	BC 1	14L+6F(1T)
2	Kr. 2011	NK FEL 68/2 I	BC 1	13L+1F(1T)
3	Kr. 2011	NK FEL 68/2 I	BC 1	13L(2T)+1F(1T)
4	Kr. 2011	NK FEL 68/2 I	BC 1	-
5	Kr. 2011	NK FEL 68/2 I	BC 1	12L+2F(1T)
6	Kr. 2008	FEL 68/3	F1	-
7	Kr. 2008	FEL 68/4	F1	7L+7F
8	Kr. 2008	FEL 70/2	F1	14L
9	Kr. 2007	FEL 23 65/1	F1	7L+7F
10	Kr. 2007	FEL 26 65/4	F1	14L
11	Kr. 2007	FEL 27 65/5	F1	14L
12	Kr. 2007	FEL 32 65/9	F1	7L+7F
13	Kr. 2007	FEL 33 65/10	F1	7L+7F
14	Kr. 2007	FEL 35 65/12	F1	-
15	Kr. 2007	FEL 37 65/14	F1	14L
16	Kr. 2007	FEL 38 65/15	F1	14L
17	Kr. 2010	NK Ivana 1 12/1	F1	7L+7F
18	Kr. 2010	NK Ivana 1 12/2	F1	7L+7F
19	Kr. 2010	NK Ivana 1 12/3	F1	7L+7F
20	Kr. 2010	NK Ivana 1 12/4	F1	7L+7F
21	Kr. 2010	NK Matiz 24 1	F1	7L+7F
22	Kr. 2010	NK Matiz 24 2	F1	7L+7F
23	Kr. 2010	NK Matiz 26 1	F1	7L+7F
24	Kr. 2010	NK Matiz 26 2	F1	7L+7F
25	Kr. 2010	NK Matiz 26 3	F1	7L+7F
26	Kr. 2010	NK Matiz 26 4	F1	7L+7F
27	Kr. 2010	NK Matiz 26 5	F1	7L+7F
28	Kr. 2010	NK Matiz 26 6	F1	7L+7F
29	Kr. 2010	NK Matiz 26 7	F1	7L+7F
30	Kr. 2010	NK Matiz 26 8	F1	7L+7F
31	Kr. 2010	NK Matiz 26 9	F1	7L+7F
32	Kr. 2010	NK Matiz 26 10	F1	7L+7F
33	Kr. 2010	NK Matiz 26 11	F1	7L+7F
34	Kr. 2010	NK Matiz 26 12	F1	7L+7F
35	Kr. 2010	NK Matiz 26 13	F1	7L+7F
36	Kr. 2010	NK Matiz 26 14	F1	7L+7F
37	Kr. 2010	NK Matiz 26 15	F1	7L+7F
38	Kr. 2010	NK Matiz 26 16	F1	7L+7F
39	Kr. 2010	NK Matiz 26 17	F1	7L+7F
40	Kr. 2010	NK Matiz 26 18	F1	7L+7F
41	Kr. 2010	NK Matiz 26 19	F1	-
42	Kr. 2010	NK Matiz 26 20	F1	-
43	Kr. 2010	NK FEL 37 1	BC1	6L(1T)+8F(1T)
44	Kr. 2010	NK FEL 37 2	BC1	-

Tab. 13: Ergebnisse der GISH Analyse. L=*Lolium*, F=*Festuca*, T=Translokation

Tubenr.	Kreuzungsjahr	Pflanze	Züchtungs- generation	Genomzusam- mensetzung
45	Kr. 2010	NK Niata 1	F1	7L+7F
46	Kr. 2010	NK Niata 2	F1	7L+7F
47	Kr. 2010	NK Niata 3	F1	7L+7F
48	Kr. 2010	NK Niata 4	F1	7L+7F
49	Kr. 2010	NK Niata 5	F1	7L+7F
50	Kr. 2010	NK Niata 6	F1	7L+7F
51	Kr. 2008	FEL 68/1	F1	-
52	Kr. 2008	FEL 68/2	F1	7L+7F
53	Kr. 2007	FEL 24	F1	7L+7F
54	Kr. 2007	FEL 28	F1	7L+7F
55	Kr. 2007	FEL 29	F1	7L+7F
56	Kr. 2007	FEL 31	F1	7L+7F
57	Kr. 2007	FEL 34	F1	14L
58	Kr. 2007	FEL 36	F1	14L
59	Kr. 2007	FEL 40	F1	14L
60	Kr. 2007	FEL 41	F1	7L+7F





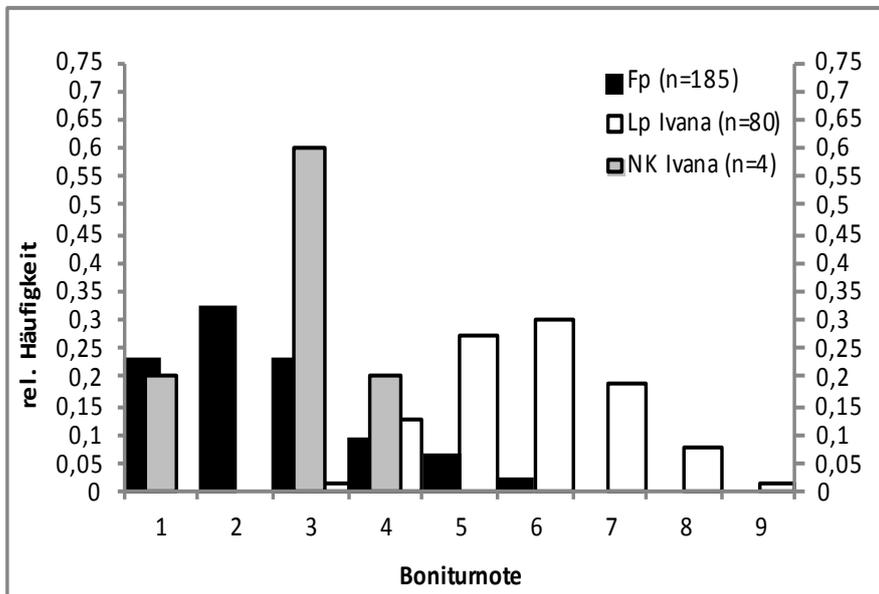
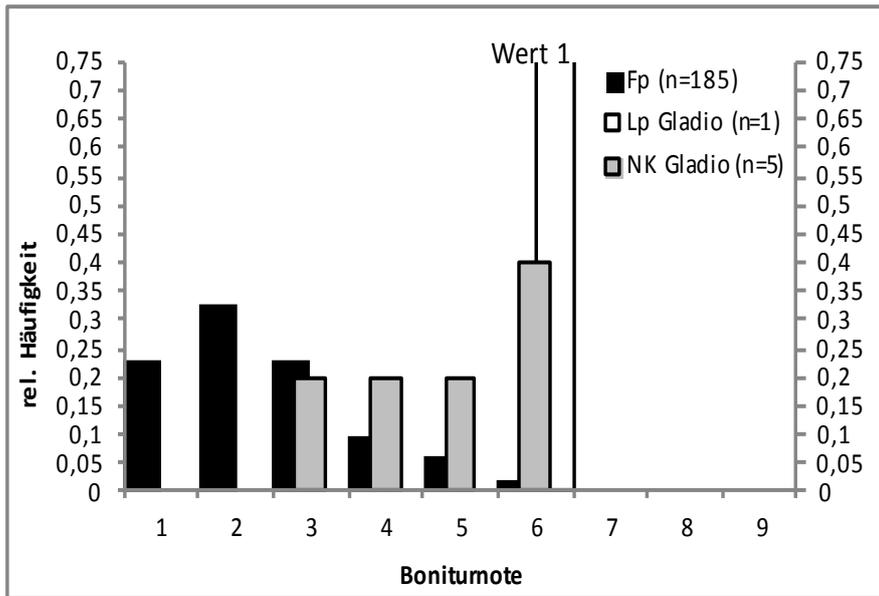


Abb. 11: Wuchsform am „Labor“ der Elternsorten und Nachkommenschaften

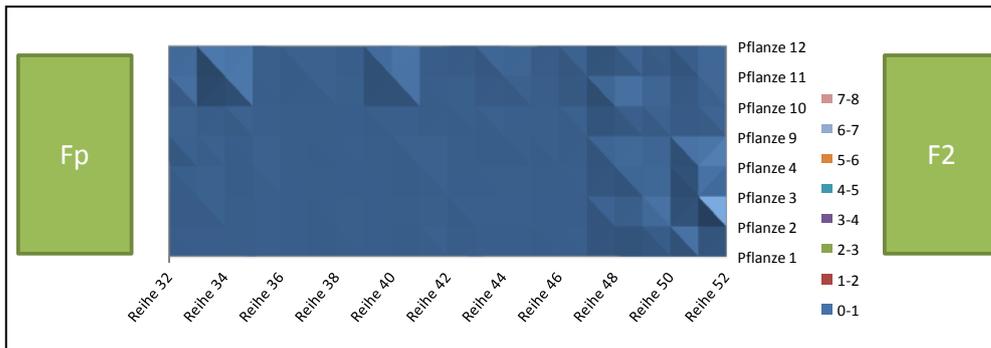


Abb. 12: Samenertrag (g/Pflanze) des Kreuzungserfolgs 2005 (Pflanzung Nr. 145a) am Standort „Labor“ als Oberflächendiagramm mit umgebenden Pflanzungen.

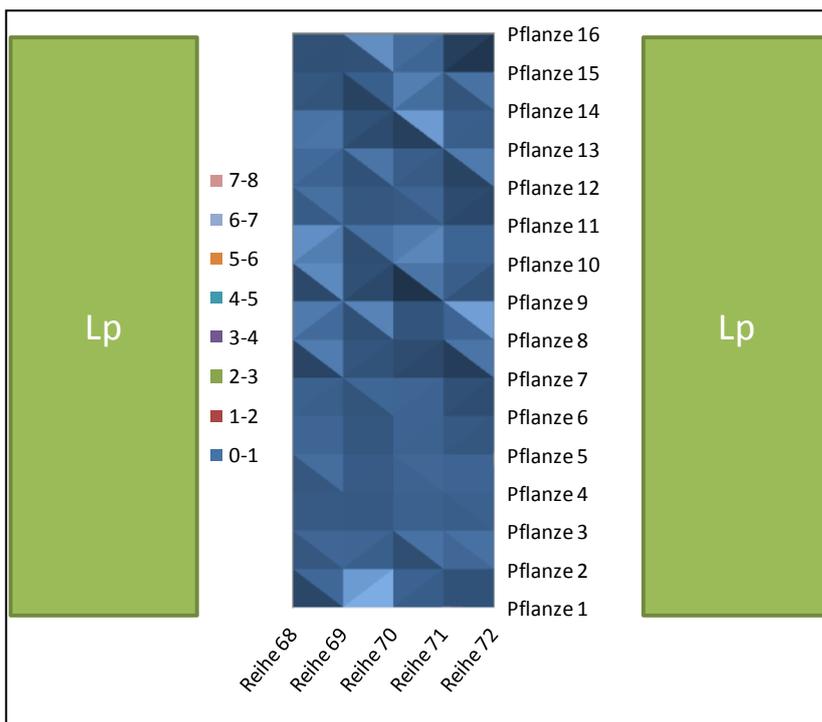


Abb. 13: Samenertrag (g/Pflanze) des Kreuzungserfolgs 2008 (Pflanzung 188a) am Standort „Labor“ als Oberflächendiagramm mit umgebenden Pflanzungen.

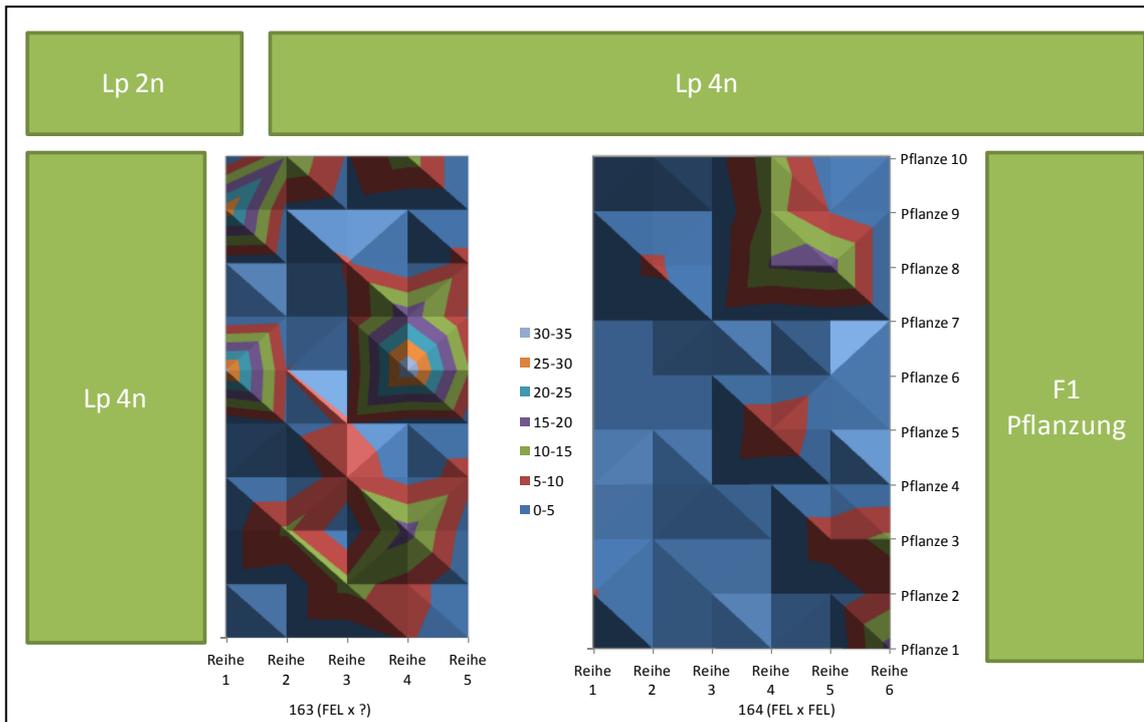


Abb. 14: Samenertrag (g/Pflanze) der F2-Pflanzungen 163 und 164 mit umgebenden Pflanzungen.

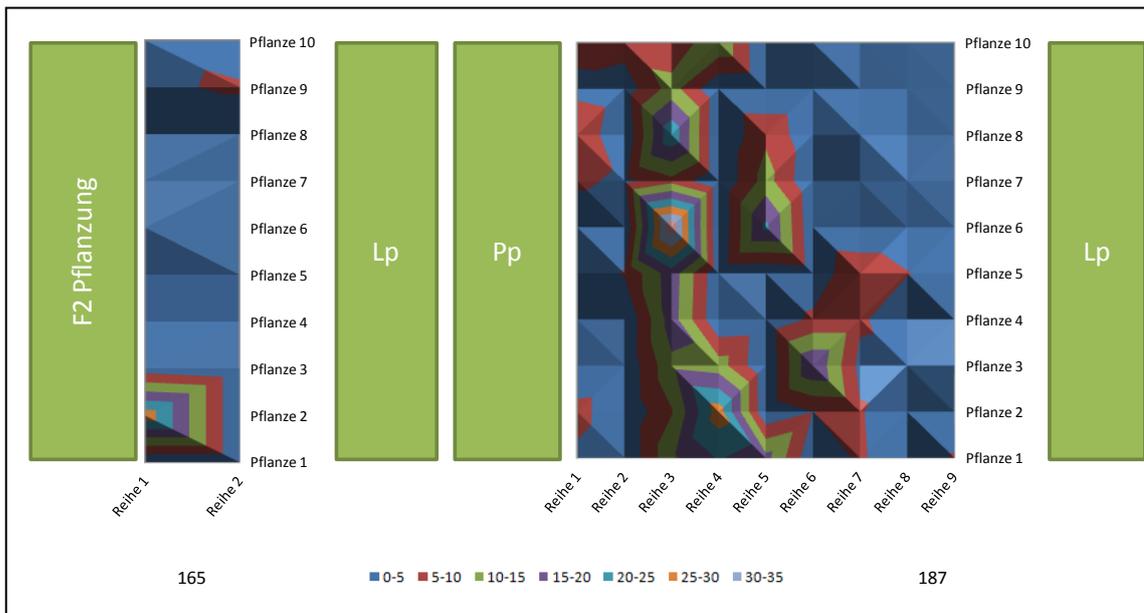
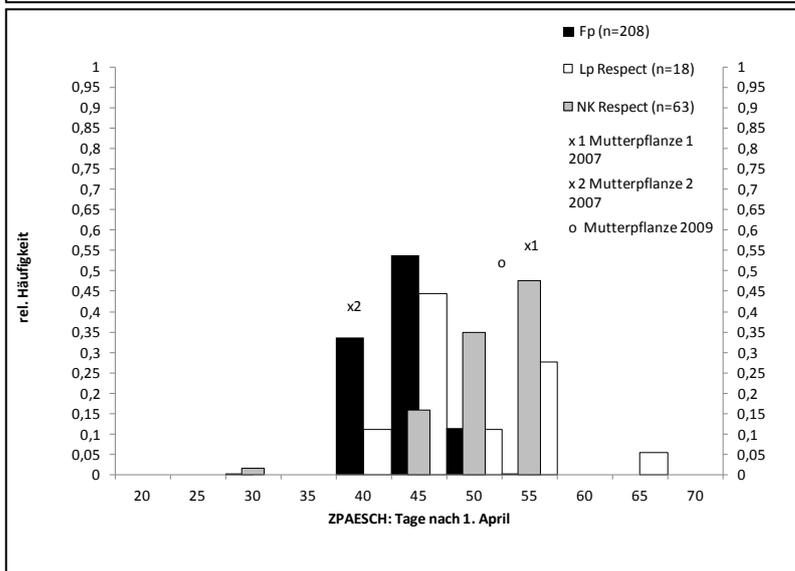
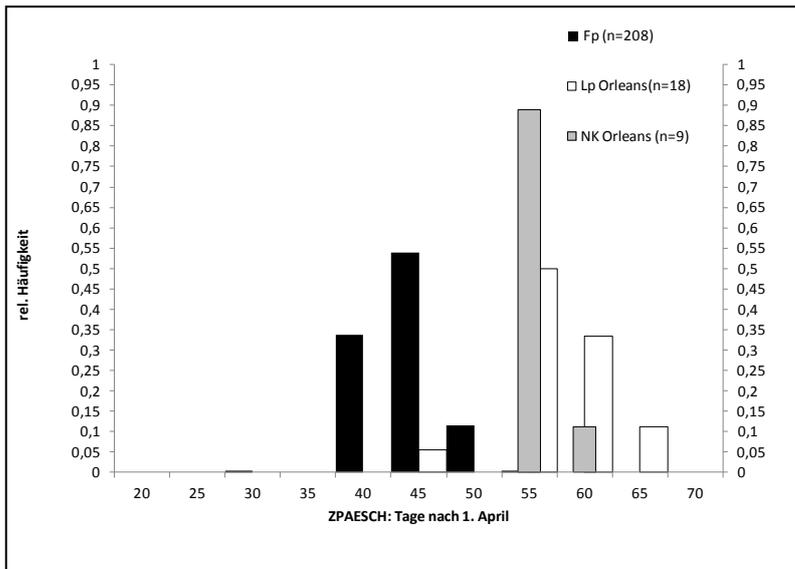
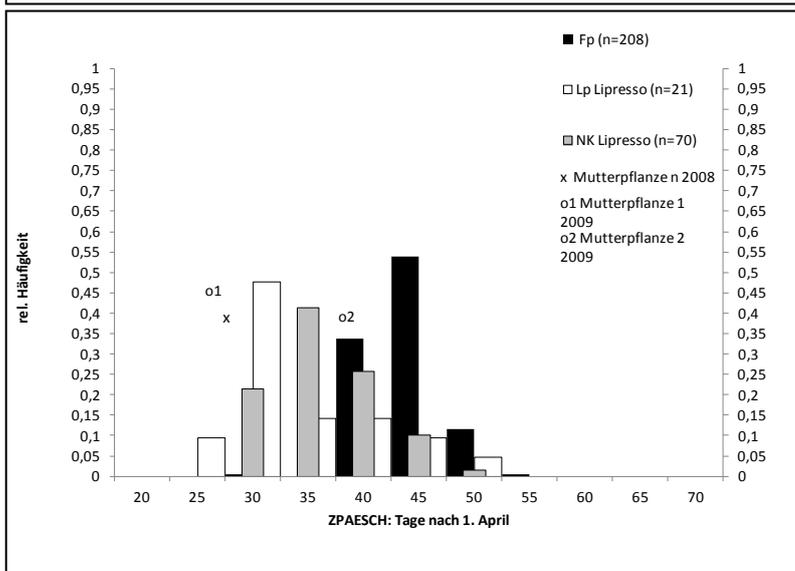
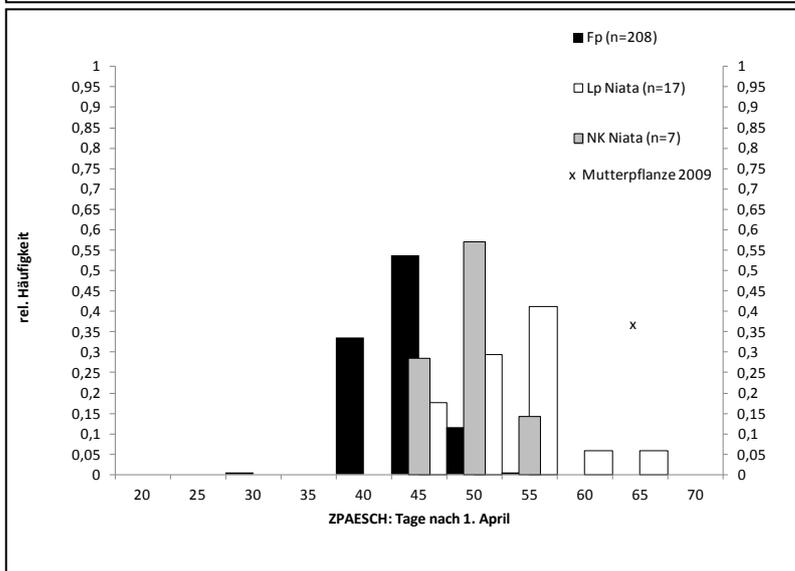
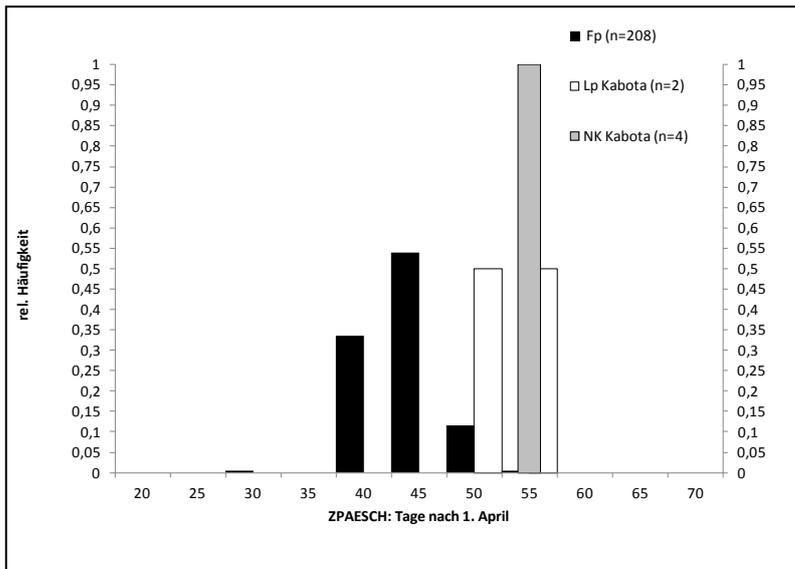


Abb. 15: Samenertrag (g/Pflanze) des Kreuzungserfolgs 2007 (links, Pflanzung Nr. 165) und des Kreuzungserfolgs 2009 (rechts, Pflanzung Nr. 187) am Standort "Pulling" als Oberflächendiagramm mit umgebenden Pflanzungen.





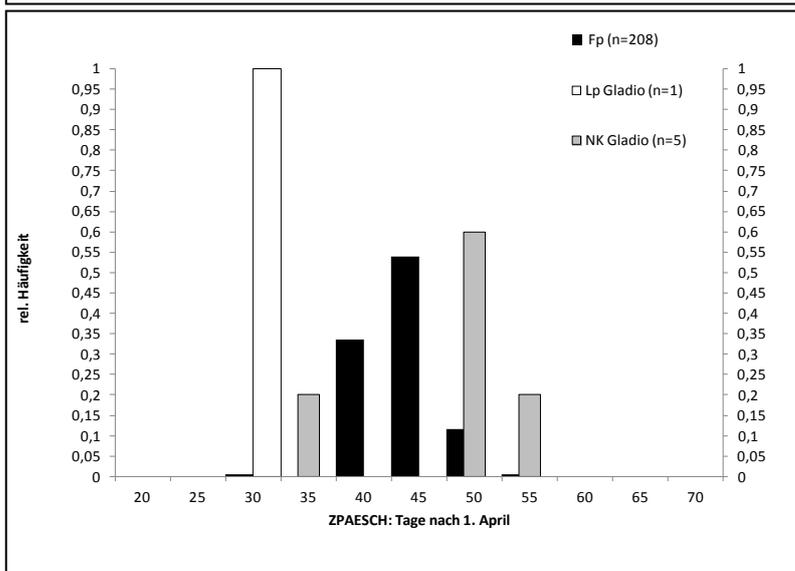
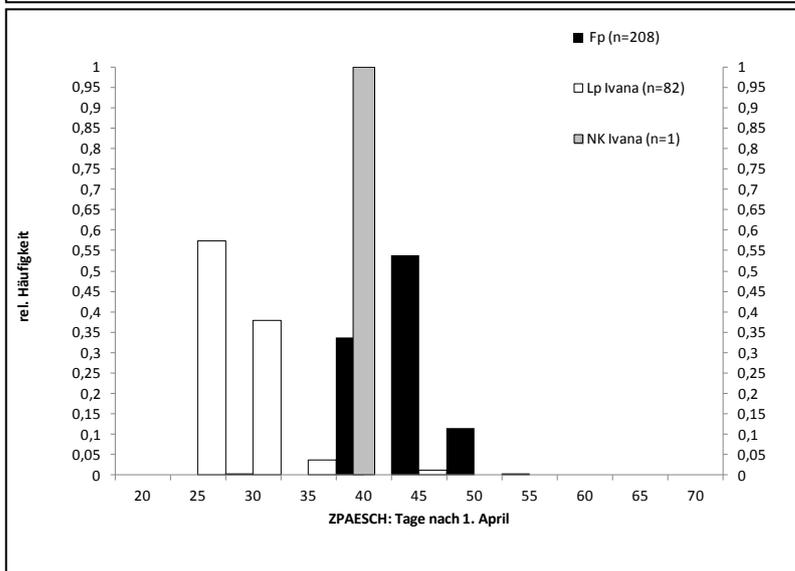
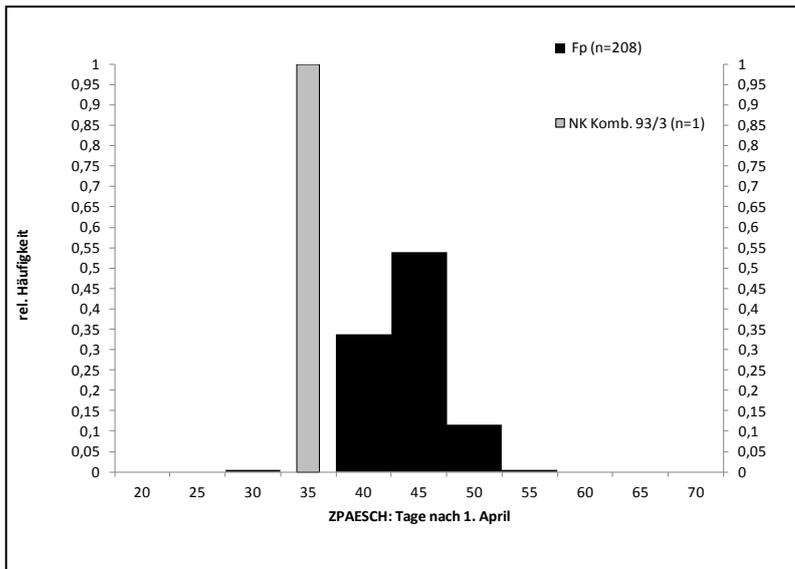


Abb. 16: Zeitpunkt Ährenschieben 2011. Vergleich der Elternsorten mit den Nachkommenschaften. Nur Werte des Standorts "Labor".

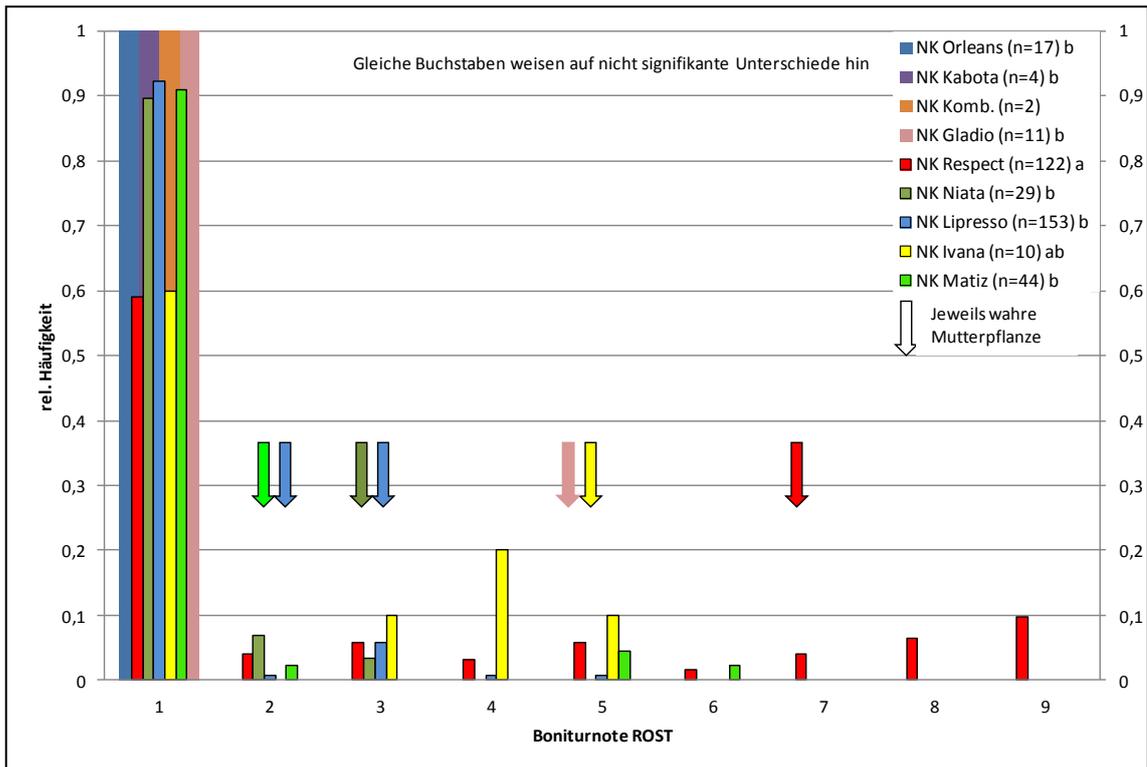


Abb. 17: Bonitur Rost: Vergleich der Nachkommenschaften an beiden Standorten. Pfeile stellen die jeweiligen Mutterpflanzen dar.

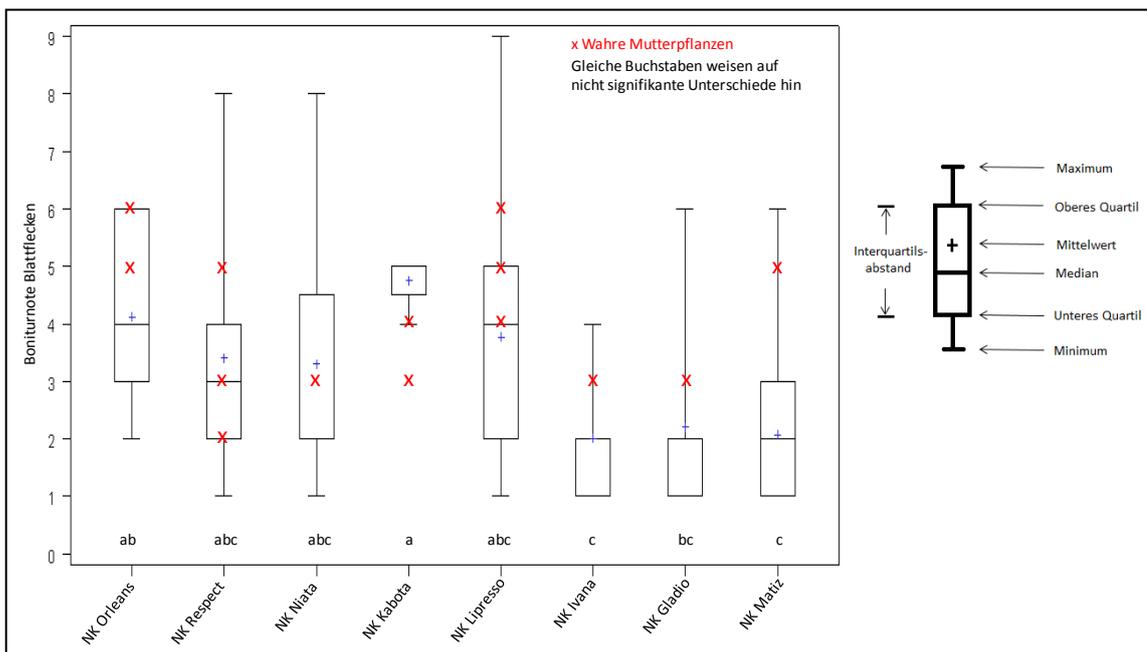


Abb. 18: Bonitur Blattflecken: Vergleich der Nachkommenschaften. Rote Kreuze markieren die wahren Mutterpflanzen.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, Tatjana Lunenberg, geboren am 06.02.1986, Matrikelnummer 398411, an Eides statt, dass die vorliegende Master Thesis mit dem Titel „Genetische Variabilität in frühen Generationen bei Artbastarden zwischen Deutschem Weidelgras und Wiesenschwingel“, unter Leitung von Prof. Dr. agr. Martin Elsässer, Universität Hohenheim, Stuttgart, selbstständig und ausschließlich unter Zuhilfenahme der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt wurde.

Das übermittelte digitale Textdokument entspricht in Inhalt und Wortlaut ausnahmslos der gedruckten Ausfertigung und mir ist bekannt, dass diese digitale Version anhand einer Analyse-Software auf Plagiate geprüft werden kann.

Weiterhin erkläre ich, dass die Arbeit weder in Teilen noch vollständig als Prüfungsleistung an der Universität Hohenheim oder an einer anderen Universität vorgelegt wurde.

.....
Ort, Datum

.....
Unterschrift

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mir während der Erstellung dieser Master Thesis jederzeit mit Rat und Tat zur Seite standen.

Zuallererst danke ich meinem Betreuer an der LfL Dr. Stephan Hartmann und meinen Betreuern der Universität Hohenheim, Prof. Dr. Martin Elsässer und Dr. Ulrich Thumm für die Themenstellung und hervorragende Betreuung.

Desweiteren möchte ich der gesamten Arbeitsgruppe des IPZ4b danken, allen voran Leoni Forster, die mir mit viel Elan und Ausdauer die Kreuzungsvorgänge beibrachte und von deren Erfahrung ich auch in anderen Bereichen der Arbeit profitierte.

Dank gilt auch Dr. Stefan Seefelder, IPZ 5c, und Dr. David Kopecký, Institute of Experimental Botany AS CR, für die Durchführung der genetischen Analysen.

Allen Mitarbeitern der LfL, die mir immer wieder mit Material oder Wissen aushalfen, darunter Herrn Eckl für die Hilfe bei der statistischen Verrechnung, Frau Gellan und Herrn Baumann mit Ihren Mitarbeiterinnen für die Hilfe beim Aufbau des Hydropony und der Evaluierung der Pollenfertilität.

Der größte Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden, die immer versuchten meinen Gedankengängen zu folgen, mir viel Mut und Vertrauen in mich selbst zusprachen und jederzeit ein offenes Ohr und aufmunternde Worte für mich bereit hielten.