

**Aus dem Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I
der Justus-Liebig-Universität Gießen
Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung**

**Erweiterung der nutzbaren Diversität im Bayerischen Genpool bei Wiesen-
schwingel durch Übertragung relevanter Merkmale aus Deutschem Weidelgras**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. agr.)

im Fachbereich Agrarwissenschaften, Ökotoxikologie und
Umweltmanagement der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Tatjana Lunenberg

aus Kempten

Gießen, 2017

Mit Genehmigung des Fachbereichs Agrarwissenschaften,
Ökotoxikologie und Umweltmanagement der
Justus-Liebig-Universität Gießen

Prüfungskommission:

1. Gutachter: Prof. Dr. Dr. h.c. Wolfgang Friedt

2. Gutachterin: Prof. Dr. Dr. Annette Otte

Prüfer: Prof. Dr. Bernd Honermeier

Prüfer: Prof. Dr. Diedrich Steffens

Vorsitzender: Prof. Dr. Joachim Aurbacher

Tag der Disputation: 26.07.2017

Erklärung gemäß der Promotionsordnung des Fachbereichs 09 vom 07. Juli 2004 § 17 (2)

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe.

Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht.

Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Datum

Unterschrift

*Auch das kleinste Ding hat seine Wurzel
in der Unendlichkeit
ist also nicht völlig zu ergründen.*

(Wilhelm Busch)

DANKSAGUNG

Ich danke Herrn Prof. Wolfgang Friedt, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Universität Gießen für die Überlassung des Themas, für die Betreuung während der Durchführung des Projektes, bei der Erstellung der Dissertation, sowie zahlreiche konstruktiven Anmerkungen und die Anfertigung des Erstgutachtens und Frau Prof. Annette Otte, Institut für Landschaftsökologie der Universität Gießen für die Prüfung der Dissertation und Anfertigung des Zweitgutachtens. Herrn Dr. Stephan Hartmann, LfL Freising, danke ich für die Überlassung des Themas und die Betreuung während der Projektlaufzeit.

Der LfL-Arbeitsgruppe IPZ4b danke ich für die Unterstützung in allen Belangen des Projekts. Den Kreuzerinnen, der Glashaus-Chefin, der Chef „Embryonen-Retterin“, den KlonerInnen, den UmsorgerInnen der Pflanzen auf dem Feld und anschließenden Reinigung des Saatguts, schlicht allen, die im Laufe der Zeit mit mir und den Pflanzen zu tun hatten und auch noch zu tun haben werden. Ich danke auch den KollegInnen aus den anderen Abteilungen, wie IPZ1a und IPZ1b, die in Form von Genanalysen oder im Rahmen der Gewebekultur zum Abschluss dieser Arbeit beigetragen haben. Ferner danke ich Dr. Peter Westermeier für hilfreiche Diskussionen, Anmerkungen und Korrekturen. Auch die vielen leckeren Kuchen und Weißwurst-Frühstücke in den Kaffeepausen waren sehr hilfreich.

Ich danke meiner Familie und meinen Freunden, die bis zum Schluss daran geglaubt haben, dass dieses Schriftstück fertig wird. Für etwas verfrühte Geschenke, die hoffentlich bald zum Einsatz kommen, für zahllose Stunden und Wochenenden, in denen ich von meinem Partner umsorgt wurde, um mich allein der Schreiberei widmen zu können, sowie fast endlose Geduld und Zuversicht. Vielen Dank!

Das der Arbeit zugrundeliegende Projekt wurde gefördert vom Bayerischen Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (StMELF) unter dem Förderkennzeichen A/13/08.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	X
Kurzfassung	1
Abstract.....	1
1. Einleitung	3
2. Zielsetzung des Vorhabens	6
3. Durchführung der Artkreuzung Deutsches Weidelgras x Wiesenschwingel und Erzeugung sexueller Nachkommenschaften	8
3.1. Kreuzungen im Gewächshaus.....	8
3.1.1. Material und Methoden	8
3.1.2. Ergebnisse der Kreuzungsversuche.....	9
3.2. Kreuzungen im Freiland	11
3.2.1. Material und Methoden	11
3.2.2. Ergebnisse.....	15
3.3. Diskussion.....	18
4. Genetische Verifizierung der Kreuzungsprodukte.....	19
4.1. Material und Methoden	19
4.2. Ergebnisse	23
4.2.1. Kreuzungsnachkommen 2013.....	23
4.2.2. Saatguternte 2012 aus Freilandkreuzungen mit ausgewählten F1-Pflanzen aus verschiedenen Kreuzungsjahren	24
4.2.3. Saatguternte 2013 der Isolierparzelle zur Samenernte an den Kreuzungen 2011 (Kr2011Pu).....	24
4.3. Diskussion.....	29
5. Jugendentwicklung.....	32
5.1. Material und Methoden	32
5.2. Ergebnisse.....	37
5.2.1. Einfluß der Saatgutlagerungsdauer auf die Keimfähigkeit und Jugendentwicklung (Juwi3)	38
5.2.2. Einfluss der Umgebungstemperatur auf die Jugendentwicklung (Juwi4) ..	38

5.2.3.	Einfluss der Überlagerung auf Weidelgras- und Wiesenschwingel-Sorten (Juwi5)	40
5.2.4.	Prüfung potentieller Rückkreuzungen auf Merkmale der Jugendentwicklung (Juwi6)	42
5.2.5.	Prüfung potentieller Rückkreuzungen aus der Samenernte des Jahres 2013 aus der Pflanzung zur Samenernte der Kreuzungen 2011 (Juwi7).....	45
5.2.6.	Einfluss der Saatgutqualität auf Merkmale der Jugendentwicklung (Juwi8).. ..	49
5.3.	Diskussion	56
6.	Wurzelwachstum.....	59
6.1.	Material und Methoden Versuch Wurzel2014.....	59
6.2.	Ergebnisse Versuch Wurzel2014	61
6.3.	Diskussion	67
7.	Frosttoleranz.....	69
7.1.	Material und Methoden	69
7.1.1.	Versuch Frosttoleranz2013	69
7.1.2.	Versuch Frosttoleranz2014	71
7.2.	Ergebnisse.....	73
7.2.1.	Versuch Frosttoleranz2013	73
7.2.2.	Versuch Frosttoleranz2014	76
7.3.	Diskussion	79
8.	Resistenz gegen Schneeschimmel (<i>Microdochium nivale</i>).....	80
8.1.	Material und Methoden	80
8.1.1.	Versuch Microdochium2013.....	80
8.1.2.	Versuch Microdochium2014.....	81
8.2.	Ergebnisse.....	82
8.2.1.	Versuch Microdochium2013.....	82
8.2.2.	Versuch Microdochium2014.....	84
8.3.	Diskussion	86
9.	Resistenz gegen <i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>graminis</i>	87
9.1.	Material und Methoden Versuch Xanthomonas2014	87
9.2.	Ergebnisse Versuch Xanthomonas2014	88
9.3.	Diskussion	90

10. Phänotypisierung der Hybriden und Elternpflanzen im Freiland	91
10.1. Material und Methoden	91
10.2. Ergebnisse der Phänotypisierung unter Freilandbedingungen.....	92
10.2.1. Zeitpunkt des Ährenschiebens	92
10.2.2. Phänotypische Ausprägung des Blütenstandes	98
10.2.3. Massenbildung.....	100
10.2.4. Winterfestigkeit	112
10.2.5. Inzidenz von Rostkrankheiten	117
10.3. Diskussion.....	122
11. Zusammenfassung.....	123
Literatur.....	126
Anhang.....	131

Abkürzungsverzeichnis

µg	Mikrogramm (10^{-6} g)
µl	Mikroliter (10^{-6} l)
µM	Mikromolar (10^{-6} M)
A	Adenin
AFLP	Amplified fragment length polymorphism
BBCH	Wachstumsstadien der Pflanzen
BC-Anlage	Pflanzung zur Samenernte. FEL mit stark verklontem Wiesenschwingel, siehe Kr2011Pu, Kr2012Pu, Kr2013Pu
BC1 bis BC _n	1. bis n. Rückkreuzungsgeneration
Bp	Basenpaare
C	Cytosin
Cm	Zentimeter
DNA	Desoxyribonukleinsäure (deoxyribonucleic acid)
EDTA	Ethylendiaminotetraessigsäure
F1	1. Filialgeneration
F2	2. Filialgeneration F1_FELxF1_FEL
FEL	<i>Festulolium</i> (<i>Festuca</i> x <i>Lolium</i> Kreuzungen und ihre Nachkommenschaften)
G	Gramm
HNJ	Hauptnutzungsjahr
M	Molar (Mol/l)
LfL	Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
LSD	Least significant difference
Max	Maximum
<i>M. nivale</i>	<i>Microdochium nivale</i> , Schneeschimmel
MBANF	Massenbildung in der Anfangsentwicklung
MBNAWUS	Massenbildung Nachwuchs
Min	Minimum
MNNWI	Mängel nach Winter
MNVWI	Mängel vor Winter
Mupfl	Mutterpflanze
Nk	Nachkommen, nicht verifiziert
Na	Nicht verfügbar
Ns	Nicht signifikant
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Konzentration [mol/l] von Hydroxoniumionen (<i>pondus Hydrogenii</i>)
PCR	Polymerasekettenreaktion (polymerase chain reaction)
PX	Polycross, Material aus dem LfL Zuchtgarten

RNA	Ribonukleinsäure (ribonucleic acid)
rzp.	Reziprok
SI	Selbstinkompatibilität
SSR	Simple sequence repeat, Mikrosatellit
T	Thymin
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TG	Gesamtgewicht
TKG	Tausendkorngewicht
Tris	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan
TS	Trockensubstanz
Var_	Sortenmaterial von WD und WSC zu Vergleichszwecken in den Experimenten
WD	Deutsches Weidelgras, <i>Lolium perenne</i>
WD_Iduna(Klon)	Zuchtmaterial WD
WD_IvanaKlon	Zuchtmaterial WD
WH	Wuchshöhe
WSC	Wiesenschwingel, <i>Festuca pratensis</i>
WSC_Anth2	WSC Genotyp entstanden aus Antherenkultur, Zuchtmaterial
WV	Welsches Weidelgras, <i>Lolium multiflorum</i>
ZPAESCH	Zeitpunkt Ährenschieben / Rispenschieben
Kr2011Pu	Pflanzung zur Samenernte des Kreuzungserfolgs 2011 in Pulling/Freising
Ph2011Schl	Beobachtungspflanzung des Kreuzungserfolgs 2011 in Pulling/Freising Feld „Schlüter“
Ph2012La	Beobachtungspflanzung des Kreuzungserfolgs 2012 in Freising am Feld „Labor“
Kr2012Pu	Pflanzung zur Samenernte des Kreuzungserfolgs 2012 in Pulling/Freising
Ph2013La	Beobachtungspflanzung des Kreuzungserfolgs 2013 und aus Saatgut entstandenen Pflanzen aus kleinen BC-Anlagen in Freising am Feld „Labor“
Kr2013Pu	Pflanzung zur Samenernte des Kreuzungserfolgs 2013 und aus Saatgut entstandenen Pflanzen aus kleinen BC-Anlagen in Pulling/Freising

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Isolationsparzelle mit F1- und BC1-Pflanzen zur Erzeugung von Rückkreuzungen (WD x WSC) x WSC im Freiland; Breite x Länge: 10 m x 12,5 m (Freising 2014)	12
Abbildung 2: Schematische Darstellung der BC-Anlagen. Verklonte WSC-Genotypen dienten als Pollenspender für verschieden FEL-Einzelpflanzen.....	13
Abbildung 3: Schematische Übersicht der durchgeführten Kreuzungen von Hand im Gewächshaus und im Freiland	14
Abbildung 4: Übersicht der im Projekt durchgeführten Freilandkreuzungen und deren Verwendung zur Nachkommenphänotypisierung.....	17
Abbildung 5: Schematische Darstellung der Blattanlagen von Deutschem Weidelgras und Wiesenschwingel. Links WSC-typisches gerolltes jüngstes Blatt; rechts WD-typisches gefaltetes jüngstes Blatt (Zeichnung nach lebenden Pflanzen von Walter Würth, Hannover aus Diepolder & Raschbacher, 2007)	22
Abbildung 6: Vergleich der WSC-Mutterpflanze mit der WD-Vaterpflanze und sieben Nachkommen (F1) anhand von SSR-Primer LM23.....	23
Abbildung 7: Vergleich der F1-Mutterpflanze mit der WSC-Vaterpflanze und zwei BC1-Nachkommen anhand von SSR-Primer LM23	23
Abbildung 8: Rahmenkonstruktion zur einfachen Erfassung des Längenwachstums von Graskeimlingen (Innenmaße: HxBxT: 21 cm x 33 cm x 48,5 cm).....	33
Abbildung 9: Definition der Boxplots mit Median, Mittelwert und Quartilen. „Whisker“ zeigen das Maximum bzw. das Minimum der Verteilung. Wenn Datenpunkte mehr als das 1,5-fache des Interquartilabstands vom Median abweichen, werden diese als Ausreißer dargestellt	37
Abbildung 10: Einfluss der Temperatur auf die Keimgeschwindigkeit im Versuch Juwi4 (Tage bis Auflaufen) bei Var_WD_Weigra und Var_WSC_Cosmolit. Boxplots unter der gleichen, horizontalen Linie sind nicht signifikant verschieden (LSD-Test, $p < 0,05$)	40
Abbildung 11: Vergleich der WD- und WSC-Prüfglieder bezüglich Anzahl Tage Auflaufen bis WH2 (Versuch Juwi5)*	42
Abbildung 12: Vergleich von Deutschem Weidelgras (13 Sorten) und Wiesenschwingel (7 Sorten) mit den verifizierten BC1-Pflanzen bezüglich des Zeitraums Auflaufen bis Bestockung (Versuch Juwi6) *	45
Abbildung 13: Vergleich der BC1- und BC2-Pflanzen mit gerollten Blattanlagen mit WD- und WSC-Sorten bezüglich des Zeitraums Aussaat bis Auflaufen (Versuch Juwi7, LSD-Test, $p < 0,05$)*	47
Abbildung 14: Vergleich der BC1- und BC2-Pflanzen mit gerollten Blattanlagen mit WD und WSC bezüglich Zeitraum Auflaufen bis zur Bestockung (Versuch Juwi7, LSD-Test, $p < 0,05$)*	48

Abbildung 15: Aufgang bis WH4 und Aufgang bis Bestockung aller Familien mit gerollten Blattanlagen im Vergleich zu den getesteten WD und WSC-Sorten (Versuch Juwi 7).....	49
Abbildung 16: Zeitraum von der Aussaat bis zum Auflaufen der WD- und WSC-Sorten unterschiedlichen Alters bei zwei TKG Stufen (Versuch Juwi8)*	51
Abbildung 17: Vergleich des Zeitraums Aussaat bis Aufgang von WD, WSC, BC1 und BC2 (Versuch Juwi8)*.....	52
Abbildung 18: Vergleich des Zeitraums Aufgang bis WH4 von WD, WSC, BC1 und BC2 (Versuch Juwi8)*	53
Abbildung 19: Korrelation zwischen der Zeit vom Auflaufen bis WH4 und vom Aufgang bis zur Bestockung; Pflanzen mit gerollten Blattanlagen aufgeteilt nach Familien im Vergleich zu WD- und WSC-Sorten (Versuch Juwi 8)	54
Abbildung 20: Korrelation ($r = -0,42$) zwischen der Frischmasse (g) und dem Zeitraum vom Auflaufen bis WH4 aller Nachkommen mit gerollten Blattanlagen (Versuch Juwi8, $p < 0,05$)	55
Abbildung 21: Plexiglas-Hohlkammerplatte; oben: Seitenansicht, sichtbare Wurzeln; unten: Kammern von oben (Versuch Wurzel2014).....	60
Abbildung 22: Mittelwerte der Frisch- und Trockenmasse der Blätter von Nk(F1Arabella2011-156), WD (Var_WD_Ivana und Var_WD_Arabella zusammengefasst) und WSC (Var_WSC_Cosima und Var_WSC_Cosmolit zusammengefasst) zu den Terminen 1, 3 und 6 (Balken 1, 2, 3) (Versuch Wurzel2014)*	62
Abbildung 23: Mittelwerte der Frisch- und Trockenmasse der Blätter der Nk(F1Arabella2011-156) im Vergleich zu den WD-Sorten Arabella und Ivana und den WSC-Sorten Cosima und Cosmolit zu den Terminen 1, 3 und 6 (Versuch Wurzel2014) *.....	63
Abbildung 24: Mittlere Wurzellängen der Nk(F1Arabella2011-156) im Vergleich zu den WD- und WSC-Sorten zu den Terminen 1–6 (von links nach rechts). Die vertikalen Linien zeigen die Standardabweichung (Versuch Wurzel2014)	65
Abbildung 25: Mittlere Frisch- und Trockenmasse der Wurzeln von Nk(F1Arabella2011-156) im Vergleich zu WD- und WSC-Sorten (Versuch Wurzel2014) *	66
Abbildung 26: Größtenteils abgestorbene Pflanzen von Dt. Weidelgras-, Wiesenschwingel- und Festulolium ca. 1 Woche nach der Frostphase und anschließendem Auftauen im Gewächshaus	73
Abbildung 27: Überlebensrate in Prozent. Vergleich der Arten WD und WSC mit der F1 (Versuch Frosttoleranz2013)	74
Abbildung 28: Überlebensrate in Prozent. Vergleich nach Art der Mutterpflanze; NKWSC: WSC als Mutterpflanze für die Kreuzung verwendet, NKWD: WD als Mutterpflanze verwendet (Frosttoleranz2013).....	74
Abbildung 29: Vergleich der Überlebensrate größerer Nachkommenschaften mit WD- bzw. WSC-Genotypen als Mütter im Versuch Frosttoleranz2013*	75

Abbildung 30: Mit <i>Microdochium nivale</i> infizierte WD-, WSC- und BC-Pflanzen im Klimakammerversuch Microdochium2014	81
Abbildung 31: Versuch Microdochium2013. Vergleich der Resistenzbonituren der Arten Dt. Weidelgras und Wiesenschwingel mit den F1-Pflanzen*	82
Abbildung 32: Xanthomonas-Resistenz der Nk und Standardsorten dargestellt als Box-Whisker-Plots. Boxplots unter den gleichen horizontalen Balken zeigen nicht signifikante Unterschiede. Mutterpflanzen und Großeltern* der Nk als Punktdiagramm zum Vergleich (Versuch Xanthomonas2014, Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)	89
Abbildung 33: Zeit bis zum Ährenschieben der im Gewächshaus vernalisierter Pflanzen (Versuchsabschnitt 1) gruppiert nach Sorte der Mutterpflanzen	96
Abbildung 34: Zeit bis zum Ährenschieben der im Gewächshaus vernalisierter Pflanzen (Versuchsabschnitt 2) gruppiert nach Mutterpflanzen bzw. Sorten der Mutterpflanzen zzgl. drei Standardsorten	97
Abbildung 35: Die am häufigsten auftretenden Blütenstandstypen von links nach rechts: geknäulte Ähre, leicht geknäulte Ähre, verzweigte Ähre, Ähre mit langen Ährchen (Seemann, LfL)	99
Abbildung 36: links: WSC-Rispe; rechts: typische Ähre von Deutschem Weidelgras (LfL)	99
Abbildung 37: Mehrfach verzweigte Rispe einer BC1-Pflanze (WSC-typisch)	99
Abbildung 38 a-e: Massenbildung in der Anfangsentwicklung (MBANF) in den Jahren 2013 bis 2015 a: Kr2011Pu MBANF 2013 (1. HNJ); b: Ph2011Schl MBANF 2013 (1. HNJ); c: Kr2011Pu MBANF 2014 (2. HNJ); d: Ph2011Schl MBANF 2014 (1. HNJ neuer Standort); e: Ph2011Schl MBANF 2015 (2. HNJ). Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$) ...	104
Abbildung 39: Massenbildung in der Anfangsentwicklung (MBANF) in der Pflanzung zur Phänotypisierung (Ph2013La), aufgeteilt nach Generationen im Vergleich mit Dt. Weidelgras und Wiesenschwingel. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)	106
Abbildung 40: Ph2012La. a: Massenbildung im Nachwuchs September 2013, b: Massenbildung im Nachwuchs Juli 2014, c: Massenbildung im Nachwuchs im September 2014. Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)	108
Abbildung 41: Kr2012Pu Vergleich der FEL Generationen mit WSC bezüglich Massenbildung im September 2013	109
Abbildung 42: Kr2012Pu Vergleich der FEL Generationen mit WSC bezüglich Massenbildung im September 2014. Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)	109
Abbildung 43: a: Massenbildung im Juli 2014. b: Massenbildung im September 2014. FEL Generationen im Vergleich zu WD- und WSC-Pflanzen. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (Versuch Ph2013La, Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)	110

Abbildung 44: Vergleich reziproker Nachkommen (WSC_PX16 x WD_Lipresso2) bezüglich MBNAWUS Sept. 2014. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)	111
Abbildung 45: Vergleich reziproker Nachkommen (WSC_Cosmolit4 x WD_Ivana1) bezüglich MBNAWUS Sept. 2014. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)	111
Abbildung 46: a: Nachwuchsleistung (MBNAWUS) im Juli 2014, b: MBNAWUS Sept. 2014. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (Kr2013Pu, Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$).....	112
Abbildung 47: Auswinterung bei einer Einzelpflanze, die durch verschiedene Einflüsse, wie Frost und Befall mit <i>M. nivale</i> verursacht werden kann.....	113
Abbildung 48: Winterfestigkeit in Kr2011Pu im Winter 2012/2013 (a) und 2013/2014 (b), Vergleich der Arten (Versuch Kr2011Pu, Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$).....	114
Abbildung 49: Winterfestigkeit Winter2012/2013, Ph2011Schl, Vergleich der Generationen mit WD und WSC (Ph2011Schl, Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)...	115
Abbildung 50: Winterfestigkeit Winter2014/2015, Ph2011Schl, Vergleich der Generationen mit WD und WSC (Ph2011Schl, Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)...	115
Abbildung 51: Winterfestigkeit in der Anlage Kr2012Pu, a) Winter2013/2014; b) Winter2014/2015 (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$).....	116
Abbildung 52: Uredosporen-Lager von Kronenrost, wie er an Deutschem Weidelgras, Wiesenschwingel und Festulolium beobachtet wurde	118
Abbildung 53: Schwarzrostbefall im September 2014, differenziert nach Materialgruppen (Kr2013Pu, Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)	120
Abbildung 54: Vergleich von Dt. Weidelgras und Wiesenschwingel mit den F1-, BC1- und BC2-Nachkommenschaften bezüglich Kronenrost* in Ph2013La (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)	121
Abbildung 55: Sklerotien des Mutterkornpilzes (<i>Claviceps purpurea</i>) im Erntegut von F1-Pflanzen	134

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung der Festulolium-Typen je nach Kreuzungseltern (nach Hahn et al., 1997 und Dietl et al., 1998).....	5
Tabelle 2: Gesamtzahl der Mutterpflanzen und Kreuzungserfolg der Jahre 2012 bis 2015 in den Gewächshausexperimenten.....	9
Tabelle 3: Mittlerer Kreuzungserfolg bei ausgewählten Mutterpflanzen verschiedener Generationen.....	10
Tabelle 4: Verwendete AFLP Primerkombinationen zur Unterscheidung von WD und WSC.....	19
Tabelle 5: Verwendete Pflanzen zur Evaluierung geeigneter Primerkombinationen für die Unterscheidung zwischen WD- und WSC-Genom; Anzahl der Allele je WD und WSC Sorte	20
Tabelle 6: Übersicht der in WD- und WSC-Sorten getesteten SSR Primerkombinationen bzgl. ihrer Eignung zur Genomdifferenzierung.....	21
Tabelle 7: Verifizierung der Nachkommen der F1Arabella2011-143 anhand des Phänotyps der Blattanlage.....	25
Tabelle 8: Verifizierung der Nachkommen der F1Aberavon2011-250 anhand des Phänotyps der Blattanlage.....	25
Tabelle 9: Verifizierung der Nachkommen der F1Arabella2011-156 anhand des Phänotyps der Blattanlage.....	26
Tabelle 10: Verifizierung der Nachkommen der F1WSCPX2011-22 anhand des Phänotyps der Blattanlage.....	27
Tabelle 11: Verifizierung der Nachkommen der F1Arabella2011-163 anhand des Phänotyps der Blattanlage.....	27
Tabelle 12: Verifizierung der Nachkommen der F1Barata2011-177 anhand des Phänotyps der Blattanlage.....	28
Tabelle 13: Verifizierung der Nachkommen der BC1Lipresso2011-303 anhand des Phänotyps der Blattanlage.....	29
Tabelle 14: Zuordnung durch SSR-Marker der Nachkommen von sechs F1-Pflanzen und BC1Lipresso2011-303 aus der Pflanzung der Kreuzungen 2011, sowie Phänotyp der Blattanlagen mit absoluter und prozentualer Übereinstimmung von Phänotyp und Genotyp.....	31
Tabelle 15: Übersicht über alle durchgeführten Versuche zum Merkmal Jugendentwicklung (Juwi3 bis Juwi8)	35
Tabelle 16: Zeitraum von der Aussaat bis zum Aufgang und zur Bestockung bei verschiedenen WD- und WSC-Sorten; verschiedene Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Versuch Juwi6, LSD-Test, $p < 0,05$).....	44
Tabelle 17: Durchschnittliches Tausendkorngewicht (TKG) der Prüfglieder des Sortenversuchs Juwi8	50
Tabelle 18: Einfluss des TKGs auf die Wachstumsgeschwindigkeit (Tage), ausgedrückt in unterschiedlicher Wuchshöhe (Juwi8).....	51

Tabelle 19: Vergleich der Leistung der BC1- und BC2-Pflanzen mit den Standards in den Versuchen Juwi7 und Juwi8*	56
Tabelle 20: Anzahl der getesteten F1-Genotypen im Versuch Frosttoleranz2013, gruppiert nach Mutterpflanzen	70
Tabelle 21: Prüfglieder und Anzahl Pflanzen in den Versuchen Microdochium2014, Frosttoleranz2014 und Xanthomonas2014	71
Tabelle 22: Überlebensrate in Prozent der Nachkommenschaften im Vergleich zu den Vorfahren; Mutterpflanze, Großmutter und Großvater (Versuch Frosttoleranz2014).....	78
Tabelle 23: Überlebende Nachkommen von F1-Pflanzen in dem Versuch Frosttoleranz2014.....	79
Tabelle 24: Schneeschimmel-Reaktion der F1-Nachkommenschaften und der Mutter-Sorten. Verschiedene Buchstaben zeigen signifikant verschiedene Mediane (Versuch Microdochium2013, Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$).....	83
Tabelle 25: Schneeschimmel-Reaktion der Nachkommen der Kreuzung WSC_Cosmolit2 x WD_Aberavon2 im Vergleich zur Vaterpflanze; verschiedene Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (Versuch Microdochium2013)	84
Tabelle 26: Microdochium2013 und Microdochium2014; Mittelwerte und Mediane der Resistenzbonituren der Nachkommenschaften (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)	85
Tabelle 27: Übersicht der Leistung der Nachkommenschaften in Frost2014 und Microdochium2014	86
Tabelle 28: Zeitpunkt des Ährenschiebens (ZPAESCH) in Tagen nach dem 1. April 2014 ausgewählter Familien in der Isolierparzelle zur Samenernte des Kreuzungserfolgs 2011 in Pulling. Verschiedene Buchstaben geben signifikante Unterschiede an (LSD-Test, $p < 0,05$)	93
Tabelle 29: Bonituren der Massenbildung in der Anfangsentwicklung der Kreuzungen 2012 in der Isolierparzelle (Kr2012Pu) und der Pflanzung zur Phänotypisierung (Ph2012La).....	105
Tabelle 30: Befallsraten mit Kronenrost im September 2014 (Kr2012Pu und Ph2012La) ...	119
Tabelle 31: Zusammenfassung der Ausprägung der untersuchten Merkmale über Kreuzungseltern und Generationen	125
Tabelle 32: Nomenklatur der Pflanzen	131
Tabelle 33: Induktionsmedium für die Embryonenkultur bei Weizen x Mais Kreuzungen (persönl. Mitt. Baumann, IPZ1a)	132
Tabelle 34: Regenerationsmedium für die Embryonenkultur bei Weizen x Mais Kreuzungen (persönl. Mitt. Baumann, IPZ1a).	133
Tabelle 35: Verwendete Lösungen zur Embryonenkultur: Hormonbehandlung und Desinfektion der Karyopsen.....	134
Tabelle 36: Mittlere oberirdische Frisch- (FM),Trockenmasse (TM) und Trockensubstanzgehalt (TS) im Versuch Wurzel2014	135
Tabelle 37: Mittlere Wurzellänge [cm] der einzelnen Prüfglieder zu 6 Terminen, sowie der Gesamtmittelwert der Dt. Weidelgras- und Wiesenschwingel-Sorten.....	136

Tabelle 38: Mittlere Wurzelfrisch- (FM) und Wurzeltrockenmasse (TM) sowie Trockensubstanzgehalt (TS) der Prüfglieder und Gesamtmittelwerte von WD und WSC aus Versuch Wurzel2014	137
Tabelle 39: Übersicht der Freilandbonituren der Kreuzungen 2011 bis 2013 in den Pflanzungen zur Phänotypisierung und den Pflanzungen zur Samenernte.....	138

Kurzfassung

Bereits im Jahr 2005 wurde an der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) in Freising mit der Kreuzung von diploidem Deutschem Weidelgras (*Lolium perenne*, $2n=2x=14$) mit diploidem Wiesenschwingel (*Festuca pratensis*, $2n=2x=14$) begonnen. Ziel war der Transfer positiver Merkmale bzw. Nutzeigenschaften, wie zügige Jugendentwicklung und Vielschnittverträglichkeit, aus Deutschem Weidelgras in Wiesenschwingel. Während der Projektlaufzeit wurde die Anzahl von Kreuzungsnachkommenschaften (F1-Pflanzen sowie Rückkreuzungsgenerationen BC1 und BC2) drastisch erhöht. Rückkreuzungsversuche im Gewächshaus, ergänzt sowohl durch Embryonenkultur, als auch im Freiland waren erfolgreich. Mit Hilfe molekulargenetischer Untersuchungsmethoden (AFLP, SSR) und des Merkmals „jüngstes Blatt gerollt bzw. gefaltet“ konnten erfolgreiche Kreuzungen identifiziert und verifiziert werden. Die Kreuzungsnachkommen wurden mit Hilfe von Gewächshaus- und Freilandversuchen eingehend charakterisiert und evaluiert. Hier zeigte sich eine hohe phänotypische Variabilität der Merkmale Ährentyp, Zeitpunkt des Ährenschiebens, Massenbildung und Winterhärte innerhalb der Nachkommenschaften. In den Gewächshausversuchen konnten frosttolerante, Schneeschimmel (*Microdochium nivale*) und *Xanthomonas*-resistente Pflanzen identifiziert werden. Ein Großteil der Projektarbeit befasste sich mit der Entwicklung von Methoden zur Bewertung der Jugendentwicklung und des Wurzelwachstums. Eine schnelle Jugendentwicklung ist essentiell für die Nachsaattauglichkeit von Wiesenschwingel, und eine Verbesserung dieses Merkmals ist dringend notwendig. Durch eine intensive und tiefe Durchwurzelung können die Wiesenschwingelpflanzen Trockenphasen besser überdauern, ein wichtiger Aspekt im Hinblick nicht zuletzt auch auf die Auswirkungen des allgemeinen Klimawandels. Mithilfe dieser Experimente konnte eine hervorragende Materialgrundlage für weitere Selektions- und Züchtungsschritte zwecks Verbesserung des bayerischen Wiesenschwingel-Genpools geschaffen werden.

Abstract

Already in 2005 crosses of diploid perennial ryegrass (*Lolium perenne*, $2n=2x=14$) with diploid meadow fescue (*Festuca pratensis*, $2n=2x=14$) have been started at the Bavarian State Research Center for Agriculture (LfL), Freising (Germany). Main goal was the introgression of positive characteristics, such as rapid juvenile development and tolerance to frequent cutting (defoliation), from perennial ryegrass into meadow fescue. During the project period, the number of F1 plants and subsequent backcross-generations (BC1 and BC2) could be greatly increased. Backcrossing experiments in the greenhouse, supported by embryo culture, as well as in the field were very successful. Molecular genetic marker systems (AFLP, SSR) and, additionally, a specific trait (youngest leaf rolled/folded) were used to verify the phenotypic identification and verification of successful crosses. The produced *Festulolium* (FEL) progeny were intensely characterized and evaluated by experiments in the greenhouse and the experimental field. The proge-

ny plants showed a high variability for the phenotypic characteristics mass growth, winter hardiness, ear type and date of ear emergence. Frost tolerant, snow mold (*Microdochium nivale*) and *Xanthomonas* resistant plants were identified through greenhouse experiments. The majority of the project work was dedicated to the development of methods for the evaluation of juvenile development and root growth. Fast juvenile development is essential for the improvement of the re-sowing ability of meadow fescue. Through an intensive and deep rooting meadow fescue can survive dry periods, which is an important aspect not at least with regard to the impact of climate change. Through these experiments a very good basis for further selection and breeding work on Bavarian meadow fescue has been created.

1. Einleitung

Mit der Entdeckung einer Grasart, die weder für die Gattung *Festuca* noch für die Gattung *Lolium* typisch war, kam die Frage nach dessen phylogenetischen Ursprungs auf. Man fand die Pflanzen sowohl in Schweden, Großbritannien als auch den Niederlanden. Sie zeigten vielfältige Variationen des Phänotyps, unter anderem bezüglich der Begrannung der Spelzen (Jenkin, 1933). In den Niederlanden deklarierte man die gefundenen Gräser als triploid und teilweise männlich fertil. Die Sterilität der Gräser war bereits bekannt (Wit, 1959). Die Phylogenie dieser Pflanzen war lange Zeit Grundlage von Spekulationen und die Hypothese, dass es sich um Gattungshybriden handeln könnte, wurde vernachlässigt. Benannt wurden die Pflanzen damals als *Festuca loliacea* Huds. Erst Anfang des 20. Jahrhunderts erwuchs aus der Hybriden-Hypothese ein allgemeiner Konsens. Durch Kreuzungsversuche konnten Deutsches Weidelgras (*L. perenne* L., WD) und Wiesenschwingel (*F. pratensis* Huds., WSC) als Elternpflanzen der in England beschriebenen Hybriden verifiziert werden (Jenkin, 1933). Durch seine Versuche konnte Jenkin (1933) zeigen, dass auch andere Vertreter der Gattungen *Festuca* und *Lolium* miteinander kreuzbar sind. Generell konnte durch jede Kreuzung eines diploiden *Lolium* ssp. mit einem poly- oder diploidem *Festuca* ssp. Elter eine sexuelle Nachkommenschaft (F1) erzeugt werden (Ghesquière et al., 2010a).

Die gezielte Züchtung von *Festulolium* durch *Festuca* x *Lolium* Bastardisierung hatte ihren Anfang in den 1970er und 1980er Jahren. Dabei wurden unterschiedliche Strategien verfolgt, die auch heute noch praktiziert werden. In den USA wurde mittels Introgression von *Lolium* ssp. in *F. arundinacea* Schreb. (Rohrschwingel) die letztgenannte Art züchterisch verbessert (Buckner et al., 1977; Buckner et al., 1983; Ghesquière et al., 2010b), während die europäische Züchtung sich mit amphipolyploiden Bastarden, d.h. der Kombination der vollständigen Chromosomensätze von *Lolium* ssp. und *F. pratensis*, in einer Nachkommenschaft befasste (Lewis et al., 1973 aus Ghesquière et al., 2010a). Das Bundessortenamt nahm den Gattungsbastard *Festulolium* im August 1992 in das Artenverzeichnis gem. Saatgutverkehrsgesetz auf. Bis 2004 war *Festulolium* in der Europäischen Union definiert als Hybride zwischen *F. pratensis* und *L. multiflorum* Lam. (Welsches Weidelgras) und bezeichnet als x *Festulolium braunii* (K. Richter) A. Camus (Direktiven 66/401/EEC & 92/19/EEC) (Bundesministerium der Justiz, 2010; Bundessortenamt, 2009; Ghesquière et al., 2010b).

Solche Neuzüchtungen, die von dem Ursprungselter *F. arundinacea* (Rohrschwingel) ($2n=6x=42$) abstammten, wurden als Rohrschwingelzüchtungen gelistet (Ghesquière et al., 2010b; Ghesquière et al., 2010a). 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., 2010b). Ein allgemeines Problem der F1-Hybriden war eine geringe

weibliche Fertilität und die fast vollständige männliche Sterilität. Durch Behandlung mit Colchicin und die Erstellung von Allpolyploiden bzw. Amphiploiden, ließ sich die Fertilität für weitere Züchtungsschritte in ausreichendem Maße wiederherstellen (Ghesquière et al., 2010b).

Aufgrund der deutschen Wiedervereinigung und Erweiterung der EU erhöhte sich die Zahl der in der EU zugelassenen Sorten (Ghesquière et al., 2010a). Das Bundessortenamt hatte in der Beschreibenden Sortenliste 2009 drei *Festulolium*-Sorten (*x Festulolium* Asch. & Graebn.) gelistet und in der aktuellen Sortenliste sind sieben Sorten verzeichnet (Bundessortenamt, 2016). Die Sorte ‚Paulita‘ wurde bereits 1986 in Deutschland zugelassen. Im Jahr 2007 folgten Felopa und Lifema (Bundessortenamt, 2009). Zwischenzeitlich erfolgte die Zulassung weiterer Sorten wie Fedoro, Perseus, Achilles und Mahulena. Außer letzterer sind alle Sorten tetraploid, Mahulena dagegen hexaploid (Bundessortenamt, 2016). Bei Felopa, Paulita, Perseus, Achilles und Fedoro handelte es sich um Kreuzungen von Wiesenschwingel x Welsches Weidelgras (Cernoch et al., 2004; DLF Trifolium, 2011; Touno et al., 2011; Deutsche Saatveredelung, 2015). Lifema entstammte einem Zuchtgang, der sich auf die Hybridisierung von Bastardweidelgras und Wiesenschwingel zurückführen ließ (Deutsche Saatveredelung, 2011), während Mahulena eine *Festulolium*-Sorte vom Rohrschwingel-Typ ist (DLF Trifolium, 2010).

In Westeuropa konzentrierte sich die *Festulolium*-Züchtung auf die Verbesserung der Stresstoleranz von Weidelgräsern, während in Zentraleuropa an einer Leistungsverbesserung des Wiesenschwingsels gearbeitet wurde und wird (Cernoch et al., 2004; Ghesquière et al., 2010b). Entscheidend für das Erreichen des Zuchtziels war die Wahl des *Festuca*-Ausgangselters. Bei amphiploidem *Festulolium* wurde ein progressiver Verlust der *Festuca*-Chromosomen, d. h. eine cytologische Instabilität der Sorten beobachtet. Als Ursache wurde ein „Meiotic Drive“, die Favorisierung von *Lolium*-Chromosomen während der Meiose, postuliert (Ghesquière et al., 2010a). Trotz des erwiesenen Potenzials der *Festulolium*-Sorten ist bis heute keine breite Etablierung in der Praxis konstatierbar.

Am intensivsten bearbeitet wurden Kreuzungen von Welschem oder Deutschem Weidelgras mit *F. pratensis*, *F. arundinacea* und *F. glaucescens*. Diese Arten können bezüglich ihrer Trockenheitstoleranz folgendermaßen gereiht 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).

Die verschiedenen *Lolium x Festuca* Hybriden wurden je nach Kreuzungsweise unterschiedlich bezeichnet. Eine diesbezügliche Übersicht zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1: Einteilung der Festulolium-Typen je nach Kreuzungseltern (nach Hahn et al., 1997 und Dietl et al., 1998).

Kreuzungseltern	Hybride
<i>Festuca arundinacea x Lolium multiflorum</i>	<i>Festulolium krasanii</i> / <i>Festulolium pabulare</i> nom. nov.
<i>Festuca arundinacea x Lolium perenne</i>	<i>Festulolium holmbergii</i> (Dörfli.) P. Fourn.
<i>Festuca pratensis x Lolium multiflorum</i>	<i>Festulolium braunii</i> (K. Richt.) A. Camus
<i>Festuca pratensis x Lolium perenne</i>	<i>Festulolium loliaceum</i> (Huds.) P. Fourn.

Der Fokus der vorliegenden Arbeit lag auf der Erstellung von diploiden Hybriden zwischen Wiesenschwingel und Deutschem Weidelgras, d.h. *Festulolium loliaceum* (Huds.) P. Fourn. Wesentlicher Grund für die Durchführung von Kreuzungen zwischen WD und WSC war, dass nur hochleistungsfähige und dabei nachhaltig stabile Pflanzenbestände den landwirtschaftlichen Betrieben in den oft kritischen Grünlandlagen Bayerns auch in Zukunft eine konkurrenzfähige Grünlandwirtschaft ermöglichen. Für die Landwirte vor Ort sind Winterfestigkeit und Ausdauer unter den regionalen Bedingungen eine entscheidende, wenn nicht die wichtigste Eigenschaft ausdauernder Gräserarten für das jeweilige Grünland. Der Wiesenschwingel weist gegenüber Deutschem Weidelgras eine höhere Toleranz gegenüber abiotischen Stressfaktoren auf. Deutsches Weidelgras ist weltweit die züchterisch am intensivsten bearbeitete Grasart, und ist aufgrund seiner hervorragenden Futterqualität, Vielschnittverträglichkeit und hohen Ertrags ein sehr wertvolles Gras (Bayerisches Landesanstalt für Landwirtschaft, 2016a). Wiesenschwingel gehörte noch vor wenigen Jahrzehnten zu den Hauptbestandbildnern des bayerischen Grünlandes und ist damit wesentlich besser an die örtlichen Bedingungen angepasst als Deutsches Weidelgras. Die geringere Vielschnittverträglichkeit des Wiesenschwingels in Grünlandbeständen führte jedoch zu einer Verdrängung aus Grünlandmischungen zugunsten des Deutschen Weidelgrases und somit zu einer gewissen Verarmung der genetischen Diversität neu angelegter oder verbesserter Grünlandbestände (Heinz & Kuhn, 2008). Die Etablierung eines züchterisch optimierten Wiesenschwingels, dessen Widerstandsfähigkeit der heute in Bayern üblichen Nutzungsintensität angepasst ist, könnte zu höheren Bestandsanteilen an Wiesenschwingel auf bayerischem Grünland führen. Auch im Zuge des Klimawandels ist davon auszugehen, dass ein verbesserter Wiesenschwingel aufgrund seiner positiven Eigenschaften - wie Toleranz gegenüber abiotischem Stress, ggf. wieder an Bedeutung gewinnen wird. Hervorzuheben ist, dass die Züchtung eines vielschnittverträglichen und frohwüchsigen Wiesenschwingels eine hohe agronomische und wirtschaftliche Bedeutung hat, die von kommerziellen Sorten derzeit so noch nicht erreicht wird und daher ein Alleinstellungsmerkmal der Futtergräserzüchtung an der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) darstellt.

2. Zielsetzung des Vorhabens

Ziel des Projekts war die Erstellung von neuem Basismaterial für die Verbesserung der Vielschnittverträglichkeit und Konkurrenzkraft von Wiesenschwingel und damit einen Beitrag zur genetischen Diversität bayerischer Grünlandflächen zu leisten. Als „Werkzeug“ dazu diente die Gattungsbastardisierung, hier speziell die Kreuzung von diploidem Wiesenschwingel und diploidem Deutschem Weidelgras.

Bisherige Selektionsarbeiten an der LfL innerhalb des Wiesenschwingel-Genpools führten noch zu keiner Sorte mit substanziell verbesserter Schnittverträglichkeit, so dass davon auszugehen war, dass die nutzbare genetische Variabilität des Genpools für dieses Merkmal im Wiesenschwingel nicht groß genug ist. Damit wurde es als notwendig erachtet, die Variation durch artübergreifende Kreuzungen mit dem im sekundären Genpool von *Festuca spec.* angesiedelten Deutschen Weidelgras zu erweitern und in Wiesenschwingel einzuführen. Dies führte zu dem Ansatz *Festulolium* für den Transfer als Brückenorganismus zu nutzen. Die Eigenschaften von Deutschem Weidelgras, die die Konkurrenzfähigkeit von Wiesenschwingel erhöhen können, sollten unter Beibehaltung der sonstigen charakteristischen Wiesenschwingeleigenschaften übertragen werden.

Im Jahr 2005 wurde an der LfL begonnen, die Gattungsbastardierung zwischen den GraspGattungen *Lolium* und *Festuca* auf der diploiden Stufe zu etablieren, obwohl die Erstellung tetraploider, amphidiploider *Festulolii* mit geringeren Fertilitätsstörungen verbunden ist (Ghesquière et al., 2010b). Aus den erstellten Artbastarden der F1-Generation wurden geeignete Elternpflanzen für darauffolgende Rückkreuzungsschritte (Backcross; BC) mit Wiesenschwingel (WSC) selektiert. Bisher wurde die 1. Rückkreuzungsgeneration (BC1) ausschließlich im Gewächshaus und unter Zuhilfenahme des *Embryo Rescue* in einem Zellkulturschritt erzeugt. Im Rahmen dieses Projektes fanden Versuche statt, die die Erstellung von Rückkreuzungsgenerationen unter Freilandbedingungen ermöglichen sollten, um im Rahmen von Zuchtprogrammen größere Nachkommenschaften bei vertretbarem Aufwand an Zeit, Personal und technischer Ausrüstung erstellen zu können.

Hinsichtlich des Ziels der Artbastardierung, der Kombination positiver Eigenschaften von WD und WSC, wurden zur Selektion vorteilhafter Genotypen verschiedene Merkmale auf ihre Eignung zur phänotypischen Charakterisierung hin evaluiert. Als wichtiger Punkt ist die Jugendentwicklung zu nennen. Sie ist ein entscheidender Faktor, um eine möglichst effektive Selektion in Bezug auf Konkurrenzkraft in der Phase der Bestandsetablierung durchzuführen und dadurch die Nachsaattauglichkeit zu erhöhen. Deutsches Weidelgras (WD) hat schon während dieser ersten Konkurrenzphase im Bestand Vorteile und wird daher fast ausschließlich für die Nachsaat empfohlen (Benke, 2000). Diese Eigenschaft soll auf WSC übertragen werden. Dazu war die Etablierung eines aussagekräftigen Tests für das Merkmal „Jugendentwicklung“ nötig.

Ein ausgeprägtes Wurzelwachstum bietet eine höhere Widerstandsfähigkeit gegen Trockenheit (Dhanda et al., 2004). Die Trockenheitstoleranz und somit die Bildung von Wurzelmasse und Verteilung rückt vor allem durch den Klimawandel in den Fokus. Untersuchungen des *Institute of Biological, Environmental & Rural Sciences* (IBERS), Universität Aberystwyth, zeigten vielversprechende Ergebnisse bei tetraploidem *Festulolium loliaceum*. Ausgeprägtes Wurzelwachstum wird an diesem Institut auch zur Minimierung von Überflutungsschäden genutzt (Humphreys et al., 2010; 2013).

Die im dargestellten Projekt bearbeiteten Teilaspekte sind im Folgenden aufgeführt:

Maximierung des Rückkreuzungserfolgs: Ein Ansatz zur Maximierung des Kreuzungserfolgs war die Erstellung von BC-Nachkommen im Freiland durch Isolation von F1-Pflanzen bzw. BC-Pflanzen zusammen mit WSC als Pollendonator.

Genetische Verifizierung der Kreuzungsprodukte: Zur Verifizierung und Überprüfung der genomischen Konstitution der vermutlichen *Festulolium*-Pflanzen ist GISH (Genomic in situ hybridization) eine verbreitete Technik, die zur Verifizierung von F1-Kreuzungsnachkommen eingesetzt wurde. Im weiteren Projektverlauf wurde GISH durch weniger arbeitsintensive und zuverlässigere molekulare Markeranalysen (AFLP, SSR) ersetzt.

Jugendentwicklung: Ein wichtiges Selektionskriterium war die Übertragung der zügigen Jugendentwicklung von WD auf WSC. Zu diesem Zweck wurde ein Test zur Evaluierung der Jugendentwicklung etabliert, der schon in frühen Entwicklungsstadien die Auswahl geeigneter Kandidaten ermöglichte.

Frosttoleranz/Winterhärte: Analoges gilt für die Eigenschaft der Winterhärte. Sowohl der dafür vorgesehene Frosttest, als auch der Test auf *Microdochium*-Resistenz waren bereits an der LfL etabliert und konnten hier eingesetzt werden.

Xanthomonas-Resistenz: Die Problematik der Schädigung durch *Xanthomonas translucens* pv. *graminis* in *Festulolium*-Sorten (Suter et al., 2007) macht eine Prüfung der Resistenz gegen dieses Bakterium notwendig. Auch dieser Test war bereits an der LfL etabliert.

Vielschnittverträglichkeit: Hauptziel war die Verbesserung der Konkurrenzkraft des Wiesenschwingsels durch Steigerung der Vielschnittverträglichkeit über rekurrente Rückkreuzungen, während Winterhärte und Wuchstyp des Wiesenschwingsels erhalten bleiben sollten. Dazu wurden die Pflanzen im Freiland beobachtet und bonitiert.

Ausgangsmaterial für die Züchtung: Die mit dem Projekt geschaffene Ausgangspopulation eröffnet Möglichkeiten für unterschiedliche Zuchtgänge. Es kann sowohl in Richtung diploider Wiesenschwingel-Typ als auch in Richtung diploider Weidelgras-Typ (z.B. mit verbesserter Trocken- oder Frosttoleranz) selektiert werden.

3. Durchführung der Artkreuzungen Deutsches Weidelgras x Wiesenschwingel und Erzeugung sexueller Nachkommenschaften

3.1. Kreuzungen im Gewächshaus

Nukleus der Projektarbeiten war die Durchführung von artübergreifenden Kreuzungen zwischen WSC und WD. Da zwischen den beiden Arten eine Kreuzungsbarriere besteht, mussten die gebildeten Embryonen durch sog. *Embryo Rescue*, einen Gewebekulturschritt kultiviert und zu intakten Pflanzen regeneriert werden. Die adulten F1-Pflanzen zeichneten sich durch eine ausgeprägte männliche Sterilität und eine stark verminderte weibliche Fertilität aus, welche durch wiederholte Rückkreuzungsschritte mit WSC restauriert werden sollte.

3.1.1. Material und Methoden

Zur Herstellung von F1- und BC-Pflanzen wurden reziproke Handkreuzungen zwischen Weidelgras- und Wiesenschwingel-Pflanzen im Gewächshaus durchgeführt. Dazu wurden die Ähren bzw. Rispen der jeweiligen Mutterpflanzen kastriert, d.h. unreife Blütchen wurden geöffnet und die jeweils drei Antheren mit einer Pinzette entfernt. Außerdem wurde die Anzahl der Blüten reduziert, um einen möglichst homogenen Blühzeitpunkt aller Blütchen an einem Blütenstand zu gewährleisten. Die kastrierten Blütenstände wurden mit Papiertüten isoliert und beim Austritt der Narbenfäden aus den Blütchen mit Pollen einer oder mehrerer Vaterpflanzen (Genotypen) bestäubt. Zur Förderung der Embryoentwicklung wurde eine Dicamba-Lösung (Tabelle 35) mit einer Kanüle in den Halm zwischen Blütenstand und nächstliegenden Knoten injiziert. Nach ca. 14 Tagen erfolgte das *Embryo Rescue*: Die unreifen Samen wurden dabei aus den Spelzen entnommen, oberflächendesinfiziert (Tabelle 35) und die Embryonen mit einem Skalpell herauspräpariert. Die Embryonen wurden in Petrischalen auf Induktionsmedium (Tabelle 33) gesetzt. Die Spross- und Wurzelbildung setzte bei Raumtemperatur und Dunkelheit ein. Nach weiteren Schritten, in denen die Pflänzchen nach Bedarf und auf Regenerationsmedium (Tabelle 34) umgesetzt wurden, um Hygiene und Nährstoffversorgung aufrecht zu erhalten und durch Beleuchtung die Sprossentwicklung anzuregen, wurden sie nach ca. 2 Monaten Kulturzeit in Erde überführt. Eine genaue Methodenbeschreibung findet sich bei Lunenberg (2012). Die Pflanzen, die in dem jeweiligen Jahr entstanden, wurden als Kreuzungserfolg/Kreuzungen des entsprechenden Jahres bezeichnet. Die Nachkommen wurden nach der Sorte der Mutterpflanze benannt. Es folgte das Entstehungsjahr und eine fortlaufende Nummer. Somit war die Einzelpflanze F1Cosmolit2013-186 ein F1-Nachkomme einer Mutterpflanze aus der WSC-Sorte Cosmolit, die im Jahr 2013 gekreuzt wurde. Es handelte sich um die 186. Pflanze, die aus der Gewebekultur in Erde gepflanzt wurde. Entsprechend war BC1Lipresso2011-304 eine BC1-Pflanze, entstanden im Jahr 2011, bei deren Initialkreuzung ein Genotyp der Weidelgras-Sorte Lipresso als Mutter diente (weitere Nomenklatur siehe Anhang Tabelle 32).

Bei der Erstellung der F1-Pflanzen wurde folgendermaßen vorgegangen: Um die Kombinationsfähigkeit der Pollenspender zu testen, wurde im Kreuzungsjahr 2012 versucht verschiedene Ähren einer Pflanze mit verschiedenen Pollenspendern zu bestäuben. Außerdem wurden reziproke Kreuzungen durchgeführt. Im Kreuzungsjahr 2013 wurde dieses Schema weitergeführt, wobei der Fokus mehr auf die Erstellung reziproker Kreuzungsprodukte gelegt wurde.

3.1.2. Ergebnisse der Kreuzungsversuche

In den Jahren 2012, 2013 und 2015 wurden phänotypisch vorselektierte WD-, WSC-, F1- und BC-Einzelpflanzen (Genotypen) als Mutterpflanzen für die Kreuzungen verwendet (Tabelle 2).

Tabelle 2: Gesamtzahl der Mutterpflanzen und Kreuzungserfolg der Jahre 2012 bis 2015 in den Gewächshausexperimenten

Mutterpflanzen	Anzahl Genotypen, die für Kreuzungen verwendet wurden	Anzahl Genotypen, in denen Embryonen entstanden	Anzahl Genotypen, die lebensfähige Nachkommen produzierten
WD	30	26	24
WSC	25	21	16
F1	78	31	24
BC1	12	6	5

Am effektivsten war die Kreuzung mit *L. perenne* als Mutter. Hierbei konnten von 87 % aller Mutterpflanzen Embryonen gewonnen werden. Bei Verwendung von *F. pratensis* als Mutter werden in 84 % der Pflanzen Embryonen gefunden, wobei in diesem Fall aus ca. 80 % der Embryonen Pflanzen regeneriert werden konnten. Bei WD als Mutter lag die Erfolgsquote sogar bei ca. 90 %. Am niedrigsten war die Erfolgsquote bei der Rückkreuzung der F1-Pflanzen mit WSC. Hier entstanden in nur ca. 40 % der verwendeten Pflanzen Embryonen. Bei den BC1-Pflanzen stieg die Quote wieder auf ca. 50 %. Im besten Fall wurden 14 Samen in einer Ähre gebildet. Alle vier Ähren mit der größten Anzahl gewonnener Embryonen stammten aus dem Kreuzungsjahr 2013. Dabei handelte es sich um zwei Ähren der Kreuzung WD_Ivana1 x WSC_Cosmolit4 und je eine Ähre bzw. Rispe von WD_Lipresso2 x WSC_PX16 und WSC_Preval16 x WD_Ivana5.

Die Anzahl geretteter Embryonen pro Blütchen ist ein direkter Maßstab für die Kreuzungseignung der einzelnen Eltern. Die Tabelle 3 zeigt die jeweils höchsten Raten an präparierten Embryonen pro bestäubten Blütchen. Die WD-Mutterpflanzen zeigten dabei höhere Erfolgsraten als WSC-Mutterpflanzen. Die F1- und BC1-Mutterpflanzen lieferten die geringste Anzahl an Embryonen pro Blütchen. Dabei bleibt zunächst offen, ob aus dem gewonnenen Embryo auch Pflanzen regeneriert werden konnten.

Tabelle 3: Mittlerer Kreuzungserfolg bei ausgewählten Mutterpflanzen verschiedener Generationen

Mutterpflanze	Anzahl kastr. Blütchen*	Anzahl Embryonen*	Embryonen/Blütchen*
WSC_PX44	58,33	7,50	0,13
WSC_Cosmolit2	62,50	6,75	0,11
WSC_Cosmolit7	59,50	6,17	0,10
WSC_Preval2	51,00	5,00	0,10
WD_Ivana1	34,33	12,00	0,35
WD_Skiron10	42,33	12,67	0,30
WD_Lipresso1	36,55	5,36	0,15
F1Cosmolit2013-186	61,67	2,67	0,04
F1Aberavon2011-245	31,33	1,33	0,04
F1WSCPX42011-59	42,00	1,75	0,04
F1Lipresso2008-39	33,00	1,33	0,04
BC1FEL372009-91	78,67	6,00	0,08
BC1Lipresso2011-304	33,00	1,33	0,04

* Mittelwert über alle bearbeiteten Ähren/Rispen des entsprechenden Genotyps.

Die Erfolgsquote bei den Handkreuzungen war großen Schwankungen unterworfen, so dass noch keine definitive Aussage gemacht werden kann, ob bestimmte WSCxWD-Kombinationen *per se* eine bessere Kreuzbarkeit besitzen, oder ob hier auch sonstige Einflüsse eine große Rolle gespielt haben. Dazu gehören beispielsweise die Temperatur im Gewächshaus und die jeweilige Person, die die Kastration der Blüten vorgenommen hat.

Im Jahr 2014 wurden verschiedene F1-Pflanzen mit Pollen des WSC-Elters der betreffenden F1-Pflanze bestäubt. Die Abbildung 3 zeigt eine Übersicht der durchgeführten Kreuzungen. Auffällig war hier, dass sich die Anzahl an Samen pro bestäubten Blütchen kaum vom Wert aus der Ursprungskreuzung zur Erstellung der F1 unterschied. Allerdings konnten deutlich weniger (ca. 30 %) Embryonen aus den Samenanlagen präpariert werden, als bei Verwendung von Pollen anderer WSC-Genotypen. Grund hierfür könnte sein, dass durch die Verwendung des gleichen WSC-Genotyps zur Rückkreuzung die ausgeprägte Selbstinkompatibilität von Wiesenschwingel (Lundquist, 1961; Cornish et al., 1979; Arias Aguirre et al., 2014) bzw. zusätzlich auch Inzuchteffekte zum Tragen kamen. Als Konsequenz daraus wurde in der Folge bei der Auswahl der Rückkreuzungseltern darauf geachtet, dass für die Rückkreuzungen stets vom Elter der F1 verschiedene WSC-Genotypen zum Einsatz kamen, was in der Folge jedoch die Rückverfolgbarkeit der Eltern anhand der Markeranalysen erschwerte. Von einigen Kombinationen konnten auch reziproke Kreuzungen erstellt werden. Dabei zeigte sich, dass sich der Durchschnittswert an Embryonen pro Blütchen in den Rückkreuzungen nicht unter-

schieden, ganz gleich ob Weidelgras oder Wiesenschwingel als Mutter für die Ausgangskreuzung verwendet wurden.

In den Jahren 2012 und 2013 konnten 251 F1-Pflanzen aus der Kreuzung WD x WSC (WD als Mutter) und 132 F1 der Kreuzung WSC x WD (WSC als Mutter) erstellt werden. Im Jahr 2015 kamen 34 WD x WSC und 19 WSC x WD Kreuzungen hinzu, die aber vorerst noch nicht genetisch verifiziert wurden. Weiterhin konnten 38 BC1- und vier BC2-Pflanzen aus Rückkreuzungsarbeiten im Gewächshaus erstellt und ins Freiland gepflanzt werden.

3.2. Kreuzungen im Freiland

Wie erwähnt, konnten einzelne Rückkreuzungen mit WSC im Gewächshaus erfolgreich durchgeführt werden. Jedoch ist hierfür der Arbeitsaufwand ähnlich hoch, wie bei der Erstellung der initialen Kreuzung zur F1. Damit war der Umfang der Rückkreuzungspopulationen für erste phänotypische Erhebungen zur Selektion zu klein. Deshalb sollte in diesem Projektteil geklärt werden, ob in speziellen Isolierparzellen im Freiland Rückkreuzungen (BC) mit geringerem Arbeitsaufwand erfolgreich durchgeführt werden können. Das würde ggf. die Durchführung der Rückkreuzungen in praktischen Züchtungsunternehmen ohne eigenes Gewebekulturlabor ermöglichen.

3.2.1. Material und Methoden

Zur Produktion von BC-Saatgut im Feld wurden spezielle Versuchsanlagen gewählt. Die BC-Anlagen wurden im zeitigen Frühjahr seitlich mit Planen umgeben (Abbildung 1), die erst nach Ende der Blüte entfernt wurden, um eine Fremdbestäubung vor allem mit Weidelgras zu verhindern. Die Saatguternte in den BC-Anlagen fand stets an Einzelpflanzen statt. Die als Pollendonatoren dienenden WSC-Pflanzen wurden nach der Blüte zurückgeschnitten, um deren Aussamen und damit Vermischungen zu verhindern. Ein allgemeines Schema der Erstellung von F1- und BC-Pflanzen zeigt die Abbildung 3.

Im Jahr 2011 wurden 40 F1-Genotypen aus den Kreuzungsjahren 2007 bis 2009 (Kreuzungserfolg 2007-2009) ausgewählt und in 10 BC-Anlagen (4 bis 8 F1-Genotypen plus 12 bis 20 WSC-Klone) gepflanzt. Die vier bis acht verschiedenen Genotypen pro Anlage wurden mit einem stark verklonten WSC-Genotyp umgeben, der nicht für die Erstellung der F1-Generation verwendet worden war und als Pollenspender fungierte. Bei einzelnen Kreuzungspartnern der BC-Anlagen wurde auf Massenbildung und Krankheitsresistenz hin selektiert, gleichzeitig wurde auch darauf geachtet, dass die Blühzeitpunkte aller Komponenten hinreichend nahe beieinanderlagen, so dass mit einer möglichst hohen Bestäubungs- bzw. Befruchtungsrate zu rechnen war.



Abbildung 1: Isolationsparzelle mit F1- und BC1-Pflanzen zur Erzeugung von Rückkreuzungen (WD x WSC) x WSC im Freiland; Breite x Länge: 10 m x 12,5 m (Freising 2014)

Die 40 Einzelpflanzen wurden in den Jahren 2012 und 2013 beerntet. Ein Teil des Ernteguts aus dem Jahr 2012 wurde gereinigt und im Gewächshaus in Aussaatschalen zur Keimung gebracht. Von den daraus entstandenen, intakten Pflanzen wurden Blattproben zur Untersuchung des genetischen Status gewonnen. Der Rest des Ernteguts aus dem Erntejahr 2012 wurde im Rahmen eines Versuches zur Jugendentwicklung (Kap. 5.2.4 *Prüfung potentieller Rückkreuzungen auf Merkmale der Jugendentwicklung (Juwi6)*, S. 42) getestet.

Die im Jahr 2011 erstellten potentiellen 251 F1- und 83 BC1-Pflanzen (Kreuzungserfolg 2011), wurden im Frühjahr 2012 als eine BC-Anlage (Kr2011Pu) ins Freiland gepflanzt (vgl. Abbildung 1). Da zu diesem Zeitpunkt noch keine Daten zum genetischen Status dieser Pflanzen zur Verfügung standen, wurde weiterhin nur das Erntegut positiver Mutterpflanzen weitergeführt. Als Pollendonatoren fungierten sieben stark verklonte WSC-Genotypen. Zusätzlich zu einer Randbepflanzung mit WSC wurden hier auch innerhalb der Reihen alternierend WSC-Pflanzen zur Bestäubung eingepflanzt. Die Abbildung 2 zeigt eine schematische Darstellung dieser BC-Anlage. Die Pflanzen wurden im Jahr 2013 und 2014 beerntet. Je ein Klon der 334 potentiellen F1- und BC1-Pflanzen wurde in einer weiteren Pflanzung (Ph2011Schl) zusammen mit den Kreuzungseltern der F1- und BC1-Generation (WD und WSC) erhalten und verschiedene Merkmale wie Zeitpunkt Ährenschieben, Massenbildung in der Anfangsentwicklung, Nachwuchsvermögen, Neigung zur Auswinterung und Rostkrankheiten erfasst. Die Ergebnisse der Freilandbonituren werden in dem Kapitel 10 *Phänotypisierung der Hybriden und Elternpflanzen im Freiland* (Seite 91) behandelt.

WSC	WSC	WSC	WSC	WSC	WSC	WSC	WSC	WSC	WSC
WSC	FEL	FEL	FEL	FEL	FEL	FEL	FEL	FEL	WSC
WSC	FEL	FEL	WSC	FEL	FEL	WSC	FEL	FEL	WSC
WSC	FEL	WSC	FEL	FEL	WSC	FEL	FEL	WSC	WSC
WSC	WSC	FEL	FEL	WSC	FEL	FEL	WSC	FEL	WSC
WSC	FEL	FEL	WSC	FEL	FEL	WSC	FEL	FEL	WSC
WSC	FEL	WSC	FEL	FEL	WSC	FEL	FEL	WSC	WSC
WSC	WSC	FEL	FEL	WSC	FEL	FEL	WSC	FEL	WSC
WSC	FEL	FEL	FEL	FEL	FEL	FEL	FEL	FEL	WSC
WSC	WSC	WSC	WSC	WSC	WSC	WSC	WSC	WSC	WSC

Abbildung 2: Schematische Darstellung der BC-Anlagen. Verklonte WSC-Genotypen dienten als Pollenspender für verschieden FEL-Einzelpflanzen

Der Kreuzungserfolg des Jahres 2012, bei dem es sich um potentiell 234 F1-, 9 BC1- und 2 BC2-Pflanzen aus Gewächshauskreuzungen handelte, wurde im Frühjahr 2013 als BC-Anlage ins Freiland gepflanzt (Kr2012Pu). Auch diese Pflanzen konnten erst zu einem späteren Zeitpunkt auf ihren genetischen Status hin untersucht werden, und es wurden auch hier später nur die erfolgreich getesteten Pflanzen beerntet. Als Pollendonatoren fungierten sechs stark verklonte WSC-Genotypen. Insgesamt beinhaltete diese Pflanzung 45 Reihen mit je 10 Pflanzen. Die Pflanzen wurden im Jahr 2014 beerntet. Je ein Klon des Kreuzungserfolgs 2012 (245 Pflanzen) wurde in eine Erhaltungsanlage mit sieben achtfach verklonten WD- und WSC-Genotypen gepflanzt und phänotypische Daten erhoben (Ph2012La).

Der Kreuzungserfolg des Jahres 2013, bei dem es sich potentiell um 147 F1-, 16 BC1-, und 7 BC2-Pflanzen aus Gewächshauskreuzungen handelte, wurde im Frühjahr 2014 als BC-Anlage ins Freiland gepflanzt (Kr2013Pu). Die Pflanzen wurden nach der Samenernte auf Ihren genetischen Status hin untersucht und nur das Erntegut von verifizierten F1- und BC-Pflanzen weitergeführt. Hinzu kamen 32 genetisch verifizierte BC1-Pflanzen, die aus dem Erntegut 2012 des Kreuzungserfolgs 2007-2009 (BC-Anlagen) stammten. Als Pollendonatoren fungierten sechs stark verklonte WSC-Genotypen. Insgesamt umfasste diese Pflanzung 39 Reihen mit je 10 Pflanzen. Die Samenernte fand hier erstmals im Jahr 2015 statt. Je ein Klon der in der BC-Anlage enthaltenen Pflanzen wurde in einer Pflanzung zur Erhaltung und Beobachtung zusammen mit 8 WD- und WSC-Genotypen, die jeweils achtfach verklont worden waren, phänotypisch evaluiert (Ph2013La).

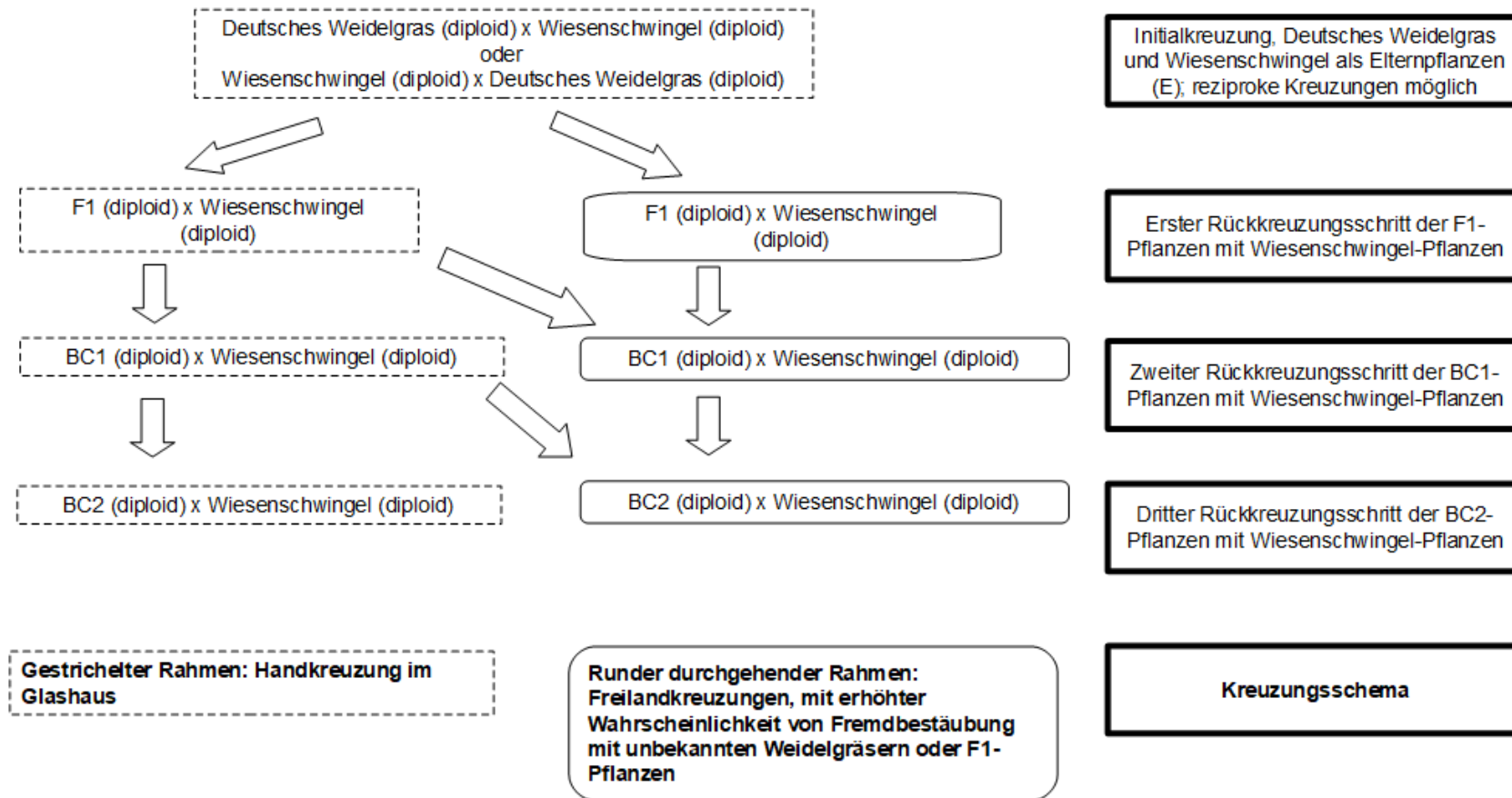


Abbildung 3: Schematische Übersicht der durchgeführten Kreuzungen von Hand im Gewächshaus und im Freiland

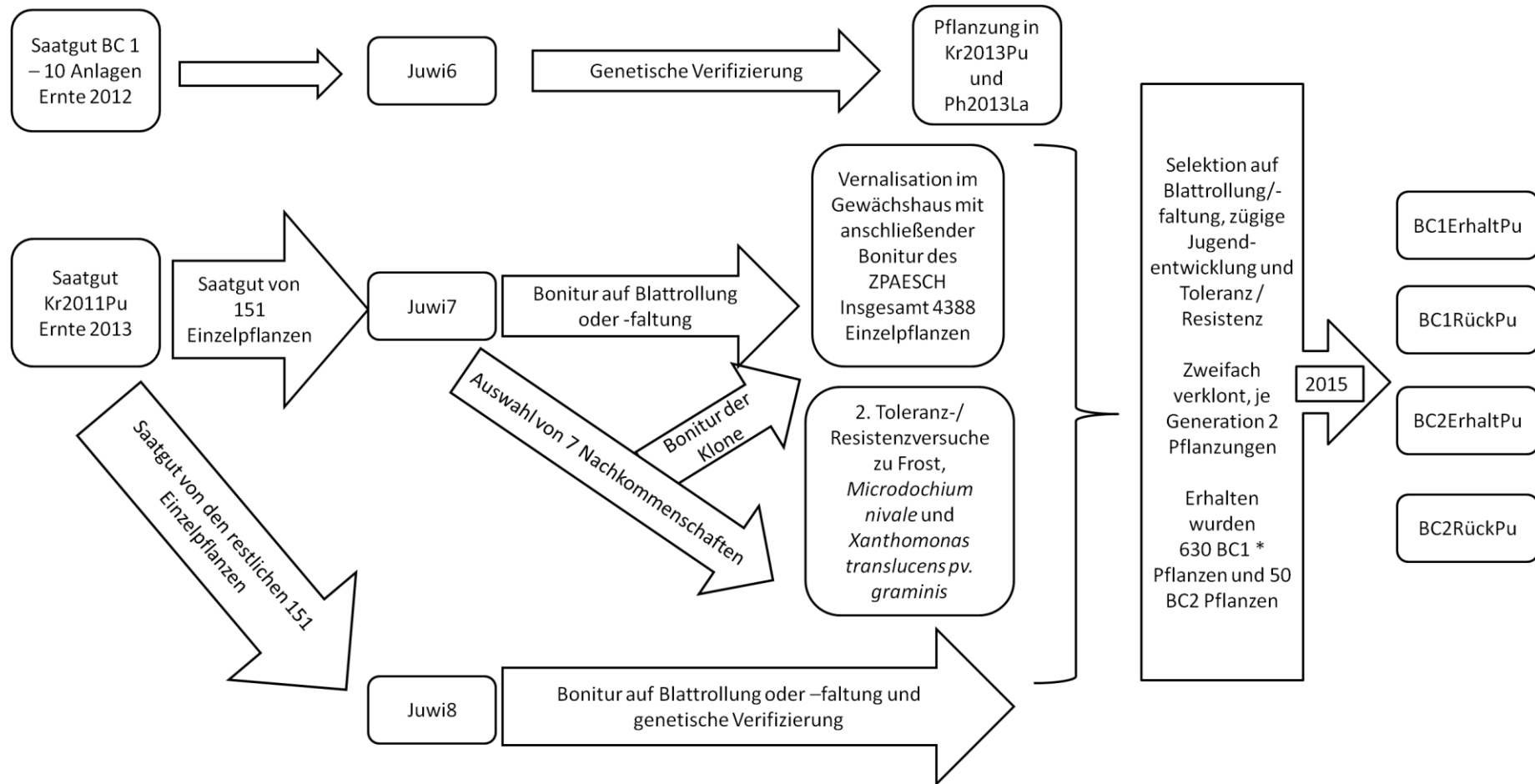
3.2.2. Ergebnisse

Die BC-Anlage Kr2011Pu wurde in den Jahren 2013 und 2014 beerntet und am gewonnenen Erntegut wurden verschiedene Parameter erhoben. Das Saatgut aus weiteren BC-Anlagen konnte im Projektzeitraum zunächst nur gewonnen und gereinigt werden. Weitere Versuche bzw. molekulargenetische Untersuchungen wurden mit diesem Saatgut bisher nicht durchgeführt.

Im Erntejahr 2013 wurde eine signifikante Korrelation (Pearson-Produkt-Moment-Korrelation, $p < 0,05$) zwischen dem Gesamtgewicht des geernteten Saatguts und dem Tausendkorngewicht (TKG) von $r = 0,34$ festgestellt. Die mittlere Erntemenge pro Einzelpflanze betrug 5,2 g und der Mittelwert des TKG 0,85 g. Das TKG von den an F1-Pflanzen gewonnenen Körnern war signifikant niedriger als das der BC1, ohne dass Unterschiede bezüglich der Erntemenge festgestellt wurden. Das TKG von diploiden Deutschen Weidelgras-Sorten liegt bei 1,5–2,5 g, das von Wiesenschwingel-Sorten zwischen 1,6 und 3,0 g (Bundessortenamt, 2013). Das Erntegut der F1- und BC1-Pflanzen wies mithin – erwartungsgemäß – ein unterdurchschnittliches TKG auf. Auch visuell fiel auf, dass das Erntegut hauptsächlich aus Spelzen ohne Karyopsen bestand, was auf Fertilitätsstörungen hinwies. Bei dem Erntegut 2014 wurde keine Korrelation zwischen TKG und Gesamtgewicht gefunden. Im Gegensatz zu 2013 hatte das an den F1-Pflanzen gewonnene Erntegut ein signifikant höheres TKG und Gesamtgewicht als das von den BC1-Pflanzen gewonnene Material. Die mittlere Erntemenge aller Pflanzen war verglichen mit 2013 geringer und betrug ca. 4,0 g pro Pflanze. Auch das TKG war mit im Mittel 0,7 g geringer als 2013. Das geerntete Saatgut aus der BC-Anlage Kr2011Pu, Erntejahr 2013, wurde für Untersuchungen zur Jugendentwicklung genutzt (Kapitel 5.2.5 *Prüfung potentieller Rückkreuzungen aus der Samenernte des Jahres 2013 aus der Pflanzung zur Samenernte der Kreuzungen 2011 (Juwi7)*, Kapitel 5.2.6 *Einfluss der Saatgutqualität auf Merkmale der Jugendentwicklung (Juwi8)*).

Im Experiment Juwi7 wurde eine signifikante Korrelation von $r = 0,5$ zwischen TKG und Keimungsrate festgestellt (Pearson-Korrelation). Eine etwas niedrigere Korrelation ($r = 0,36$) zeigte sich zwischen TG und Keimungsrate. Bei dem Saatgut von vier BC-Pflanzen konnte keine Keimung festgestellt werden, wohingegen die Keimungsrate der Nk(F1Arabella2011-156) bei immerhin 75,2 % lag. Allerdings konnte keine dieser Pflanzen als BC1 verifiziert werden (vgl. Kap. 4.2.3.3 Nachkommen der Pflanze F1Arabella2011-156). Im Mittel aller Mutterpflanzen lag die Keimungsrate bei lediglich 1,65 % (52 Pflanzen mit 0 % Keimfähigkeit, 66 Pflanzen mit 0,01 bis 0,07 % Keimfähigkeit). Das Erntegut der F1-Pflanzen hatte eine mittlere Keimfähigkeit von 1,71 % (min: 0,02 %, max: 75,17 %), während dasjenige der BC1-Pflanzen eine mittlere Keimfähigkeit von 1,42 % hatte (min: 0 %, max: 28,48 %). Im Experiment Juwi8 zeigten die Samennachkommen von 14 F1-Pflanzen und 10 BC1-Pflanzen keinen Aufgang. Im Mittel über alle Pflanzen lag die Keimungsrate bei 0,89 %. Für das Erntegut der F1-Pflanzen lag der

Mittelwert bei 0,78 % (min: 0 %, max: 3,78 %) und für die BC1-Pflanzen bei 1,34 % (min: 0 %, max: 16,61 %). Die Pflanzen der BC1(WD_Lipresso) wiesen die signifikant höchsten Keimungsraten auf (ANOVA, LSD-Test): das Erntegut von fünf BC1-Pflanzen zeigte Keimfähigkeiten von 0,01 bis 0,28 %. Ein Teil der Pflanzen wurde noch während der Projektlaufzeit molekulargenetisch untersucht. Die Ergebnisse finden sich im Kapitel 4 *Genetische Verifizierung* (Seite 19). Alle weiteren Versuche und Selektionsschritte, die mit den aufgegangenen Pflanzen durchgeführt wurden, sind in der Abbildung 4 zusammenfassend dargestellt.



* zusätzlich zu den selektierten Pflanzen wurde die Nachkommenschaft einer Sorte für weitere genetische Untersuchungen erhalten.

Abbildung 4: Übersicht der im Projekt durchgeführten Freilandkreuzungen und deren Verwendung zur Nachkommenphänotypisierung

3.3. Diskussion

Insgesamt konnte in diesen Experimenten festgestellt werden, dass die Rückkreuzung von F1- und BC1-Pflanzen mit Wiesenschwingel in Freilandisolationsparzellen möglich ist. Allerdings war die gewonnene Samenzahl vergleichsweise gering, und auch das TKG der gewonnenen Körner war stark reduziert, was sich auch in einer sehr geringen Keimfähigkeit des Saatgutes niederschlug. Wider Erwarten konnte bei den BC1-Mutterpflanzen kein generell höherer Samenansatz oder ein höheres TKG festgestellt werden, da hier die Fertilitätsstörungen nicht geringer waren als bei den F1-Mutterpflanzen. Jedoch konnten einzelne Mutterpflanzen mit höherer Fertilität identifiziert werden. Der Zusammenhang zwischen männlicher und weiblicher Fertilität konnte während der Projektlaufzeit nicht weiter verfolgt werden. Allerdings stellten Zwierzykowski et al. (2006) an diploiden *Festulolium loliaceum* Pflanzen eine volle männliche aber eine niedrige weibliche Fertilität fest. Die männliche Fertilität schien schneller wieder herstellbar.

Unter dem hier produzierten Pflanzenmaterial konnten in der BC1-Generation einzelne stäubende Pflanzen identifiziert werden, deren Antheren offenbar Pollen frei ließen. Inwieweit solcher Pollen befruchtungsfähig ist bleibt zu prüfen. Eventuell können diese dann als Pollendonatoren genutzt werden. Im Erntegut der Isolierparzellen wurde ein hoher Mutterkorn-Besatz (*Claviceps purpurea*) festgestellt, wodurch die Reinigung des Saatgutes erschwert war (Abbildung 55 Anhang). Durch das Vorliegen von Mutterkorn wurde ein höheres TKG und höhere Erntemenge vorgetäuscht. Deshalb wurde das Saatgut vor der TKG-Bestimmung sehr gründlich von Mutterkorn gereinigt. Die hohe Infektionsrate der F1- und BC1-Pflanzen dürfte durch die hohe Sterilität verursacht worden sein, denn dadurch blieben die Blüten für lange Zeit unbestäubt geöffnet, was das Infektionsrisiko bekanntlich erhöht (z.B. Puranik & Mathre, 1971). Andererseits lies der starke Befall auf die gute Isolationswirkung der Zeltkonstruktion für Pollen schließen (Abbildung 1), da die Rückkreuzung mit WD bei den F1- und BC1-Pflanzen bessere Ergebnisse lieferte (Jenkin, 1955).

4. Genetische Verifizierung der Kreuzungsprodukte

Im Falle der weiten Artkreuzung von Deutschem Weidelgras und Wiesenschwingel konnte das Risiko von Fremdbestäubung auch bei Isolation der Blüten nicht ganz ausgeschlossen werden. Gleiches galt für die Rückkreuzungsschritte mit WSC-Pflanzen, sowohl im Gewächshaus mit Hilfe der Embryonenkultur, als auch verstärkt bei Freilandkreuzungen. Das machte eine genetische Verifizierung der Kreuzungsprodukte notwendig. Während der Projektlaufzeit wurden Abstammungsanalysen anhand von AFLP- und SSR-Analysen durchgeführt.

4.1. Material und Methoden

Alle genetischen Untersuchungen wurden in der AG von Dr. Günther Schweizer, LfL IPZ 1b durchgeführt. Eine genetische Verifizierung der Kreuzungsprodukte aus den Jahren 2010 bis 2012 erfolgte mittels AFLP-Analyse (verwendete Primerkombinationen: E76M48, E76M50, E76M52, E77M50, siehe Tabelle 4) nach Vos et al. (1995) und Seefeldler et al. (2006). Dabei handelte es sich um 764 Kreuzungsprodukte und 115 Elternpflanzen.

Tabelle 4: Verwendete AFLP Primerkombinationen zur Unterscheidung von WD und WSC

Restriktionsenzyme bzw. Primer	Basensequenz	Basensequenz
EcoRI		MseI
E03 =	GACTGCGTACCAATTCTG	M02 = GATGAGTC CTGAGTAAC
E76M48: E76 =	E03 + GTC	M48 = M02 + CAC
E76M50: E76		M50 = M02 + CAT
E76M52: E76		M52 = M02 + CCC
E77M50: E77 =	E03 + GTG	M50

Da eine große Pflanzenzahl zu analysieren war, wurden zur Steigerung des Durchsatzes und einer einfacheren Auswertbarkeit bei den nachfolgenden Analysen in der wissenschaftlichen Literatur (siehe Tab. 6) beschriebene SSR-Marker zur Genotypisierung eingesetzt.

Vierzehn SSR-Primerkombinationen, die bereits zur Unterscheidung von Weidelgras und Schwingel Arten genutzt worden waren (Saha et al., 2006; Studer et al., 2006; Tamura et al., 2009), wurden ausgewählt und eine Probeanalyse an 90 WD- und WSC-Genotypen durchgeführt (Tabelle 5). Dabei handelte es sich nicht nur um bereits verwendete Kreuzungseltern, sondern um möglichst viele verschiedene Sorten, um die Kreuzung

bzw. Rückkreuzung mit einem unbekanntem WD oder WSC-Genotyp auch im Fall einer Fremdbestäubung verifizieren zu können. Zehn Primerkombinationen wurden im vorliegenden Pflanzenmaterial erfolgreich etabliert (Tabelle 6). Mit fünf der Primerkombinationen konnten die beiden Eltern-Arten sehr zuverlässig unterschieden werden.

Tabelle 5: Verwendete Pflanzen zur Evaluierung geeigneter Primerkombinationen für die Unterscheidung zwischen WD- und-WSC-Genom; Anzahl der Allele je WD und WSC Sorte

Spezies	Sorte	Anzahl Genotypen	Allele bei Primerkombination				
			LM15	LM23	Os03g2 3950	Os06g4 1390	Os09g0 3610
WSC	Cosima	3	2-4	1	0	0-3	0
WSC	Cosmolit	10	3-7	1	1-3	3-4	0-8
WSC	Kolumbus	1	2	1	1	3	4
WSC	Pradel	8	2-9	1	1-2	2-4	0-7
WSC	Preval	13	1-7	1	0-1	3-4	0-7
WSC	Zuchtmaterial	19	0-10	1	0-2	0-4	0-11
WD	Aberavon	4	2-5	2	2	2-5	0-5
WD	Arabella	5	2-7	2	0-4	2-4	2-4
WD	Barata	1	0	2	0	0	0
WD	Ivana	5	2-3	2	2	2-5	0-4
WD	Lipresso	2	2-7	2	0, 2	2-3	0-4
WD	Matiz	3	0-7	2	0, 2	0-2	0-2
WD	Niata	5	2-5	2	0, 2	2-4	0-2
WD	Skiron	3	0-3	2	0, 2	0-3	0-2
WD	Weigra	1	3	2	2	2	2
WD	Zuchtmaterial	7	0-3	2	0-2	2	0-2

Tabelle 6: Übersicht der in WD- und WSC-Sorten getesteten SSR Primerkombinationen bzgl. ihrer Eignung zur Genomdifferenzierung

Primer	Für genet. Analyse der F1 und BC-Pflanzen genutzt	Potentielle Primer für weitere Analysen	Quelle	Chromosom	Anzahl Allele / Größenbereich in bp laut Quelle
LM15	x	x	Studer et al., 2006	na	WD: 4 / 142 – 150 WSC: 3 / 152 – 156
LM23	x	x	Studer et al., 2006	na	WD: 2 / 208 – 295 WSC: 1 / 196
LM26			Studer et al., 2006	na	WD: 2 / 218 – 224 WSC: 8 / 205 – 225
Os03g23950	x	x	Tamura et al., 2009	Chrom. 4	WD: 3 / na WSC: 1 / na
Os06g41390	x	x	Tamura et al., 2009	Chrom. 7	WD: 4 / na WSC: 2 / na
Os09g03610	x	x	Tamura et al., 2009	Chrom. 5	WD: 2 / na WSC: 1 / na
Os09g034910		x	Tamura et al., 2009	Chrom. 5	WD: 2 / na WSC: 3 / na
NFFAG5		x	Saha et al., 2006	na	na / na
NFFAG96		x	Saha et al., 2006	na	na / na
NFFAG111		x	Saha et al., 2006	na	na / na
NFFAG6		x	Saha et al., 2006	na	na / na
NFFAG9			Saha et al., 2006	na	na / na
NFFAG42			Saha et al., 2006	na	na / na
NFFAG88			Saha et al., 2006	na	na / na

Erläuterung: na = nicht verfügbar

Die Kreuzungsprodukte der Kreuzungen im Gewächshaus 2013 sowie Pflanzen, die aus Freilandkreuzungen 2012 entstanden, wurden mit fünf Mikrosatelliten-Primerkombinationen untersucht. Alle potenziellen BC1- und BC2-Pflanzen aus der Samenernte Kr2011Pu (angezogen in Kapitel 5.2.5 *Prüfung potentieller Rückkreuzungen aus der Samenernte des Jahres 2013 aus der Pflanzung zur Samenernte der Kreuzungen 2011 (Juwi7)*), die in den Versuchen Microdochium2014 (Kap. 8.1.2) und Frost2014 (Kap. 7.1.2), sowie Xanthomonas2014 (Kap. 9) geprüft worden sind, wurden ebenfalls untersucht. Hinzu kamen die Nachkommenschaften des Kreuzungsjahres 2014.

Parallel zur DNA-Analyse wurden die Pflanzen auf die Rollung oder Faltung des jüngsten Blattes, einem Merkmal zur phänotypischen Unterscheidung von WSC- und WD-Genotypen (Abbildung 5), evaluiert. Ziel dabei war das Auffinden einer möglichen Korrelation zwischen einer phänotypischen Ähnlichkeit mit WSC und den Ergebnissen der molekularen Markeruntersuchungen.



Abbildung 5: Schematische Darstellung der Blattanlagen von deutschem Weidelgras und Wiesenschwingel. Links WSC-typisches gerolltes jüngstes Blatt; rechts WD-typisches gefaltetes jüngstes Blatt (Zeichnung nach lebenden Pflanzen von Walter Würth, Hannover aus Diepolder & Raschbacher, 2007)

Blattproben der Einzelpflanzen wurden jeweils in ein 2,0 ml Reaktionsgefäß überführt, gefriergetrocknet und zum Zellaufschluss mithilfe einer Stahlkugel fein vermahlen (Kugelmühle Firma Retsch Model MM2000, 2 min, Amplitude 100). Die Isolation der genomischen DNA erfolgte nach der Methodik von Röder et al. (1998). Das Pflanzenmaterial wurde in 1000 µl Extraktionspuffer aufgenommen (10 % 1 M Tris-HCl, 10 % 0,5 M Na₂EDTA, 10 % 5m NaCl, 12,5 % 10 % SDS → Puffer, mit 0,38 g Natriumdisulfit / 100 ml Puffer), bei 60°C im Wasserbad inkubiert und 1000 µl Chlorophorm-Isoamylalkohol zugegeben. Nach der Zentrifugation wurde die wässrige Phase mit 1-2 µl RNAse (5 mg/ml, Roth) gemischt. Zur Fällung der DNA wurden 750 µl Isopropanol (70%) verwendet. Nach dem Zentrifugieren wurden 500 µl der ersten Waschlösung (0,2 M Natriumacetat in 76 %igem Ethanol) hinzugefügt. Anschließend folgte nach weiterer Zentrifugation die Zugabe von 250 µl einer zweiten Waschlösung (10mM NH₄-Acetat in 76 % Ethanol), Zentrifugation, Trocknung und Lösung des DNA-Pellets in 50 – 100 µl 0,1X TE (100 mM Tris + 10 mM EDTA) Puffer. Die Amplifikation der diagnostischen Fragmente mittels PCR-Reaktion wurde bei folgenden Temperaturbedingungen durchgeführt: Vorlauf bei 95°C für 2 min; 35 Zyklen: Denaturierung bei 95°C für 10 Sekunden, Annealing bei 55°C für 30 Sekunden, Extension bei 72°C für 50 Sekunden; Finalisierung bei 72°C für 15 Minuten. Der PCR-Ansatz (10 µl) bestand aus 30 ng genomischer DNA, 1x Puffer (Thermo Fisher Scientific), 1,5 mM MgCl₂ (Thermo Fisher Scientific), je 0,15 mM dNTP (Roth), 0,8 µl Primermischung (10 µM; biomers) und 0,025 U Taq Polymerase (Thermo Fisher Scientific).

Die Amplifikate wurden mit Formamid-loading dye versetzt (150 ml Formamid, 150 mg Xylencyanol FF, 150 mg Bromphenolblau, 10 ml 0,5 M EDTA pH 8), auf ein Polyacrylamid-Gel, bestehend aus 5 % Acrylamid, 7,5 M Harnstoff, 1x TBE (0,89 M Tris,

0,89 M Borsäure, 0,5 M EDTA) aufgetragen und elektrophoretisch getrennt. Nach Anfärbung der aufgetrennten DNA-Fragmente mit SYBR[®] Green (Thermo Fisher Scientific), wurden die Gele zur weiteren Auswertung eingescannt (Scanner Typhoon FLA 9500, Firma GE). Die Auswertung der Gele erfolgte visuell. Auf jedem Gel befanden sich DNA-Amplifikate der Nachkommenschaften mit den zugehörigen Eltern. Bei den Nachkommenschaften wurden Banden gesucht, die eindeutig der jeweiligen Vaterpflanze zuzuordnen waren (Beispiele: Abbildung 6 u. Abbildung 7).

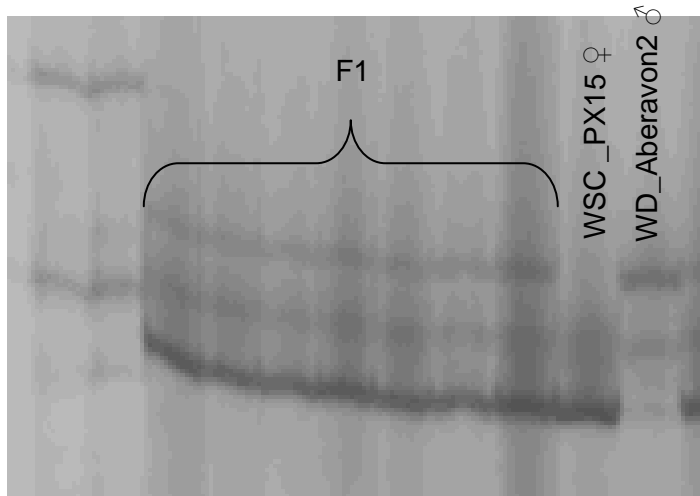


Abbildung 6: Vergleich der WSC-Mutterpflanze mit der WD-Vaterpflanze und sieben Nachkommen (F1) anhand von SSR-Primer LM23

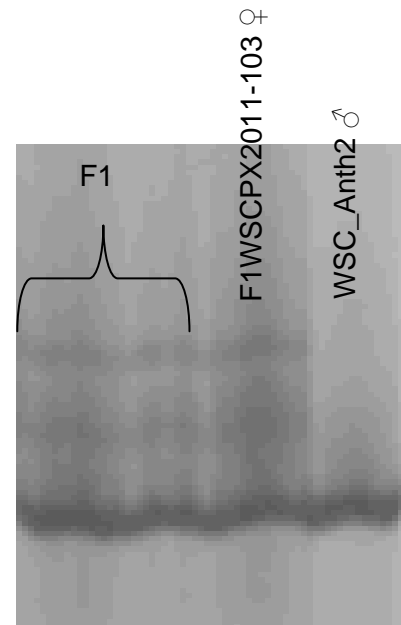


Abbildung 7: Vergleich der F1-Mutterpflanze mit der WSC-Vaterpflanze und zwei BC1-Nachkommen anhand von SSR-Primer LM23

4.2. Ergebnisse

4.2.1. Kreuzungsnachkommen 2013

Insgesamt 145 Pflanzen aus den Kreuzungen 2013 konnten mit den ausgewählten SSR-Primern als Kreuzungspflanzen (F1) verifiziert werden. Ferner konnten 16 Pflanzen aus Rückkreuzungen ebenfalls analysiert und 14 davon als erfolgreiche Rückkreuzungsergebnisse (BC1) eingestuft werden. Von den sieben analysierten BC2-Pflanzen wurden drei als erfolgreich rückgekreuzt identifiziert. Eine genaue Bestimmung der Kreuzungseltern war jedoch nicht bei allen Nachkommen möglich.

4.2.2. Saatguternte 2012 aus Freilandkreuzungen mit ausgewählten F1-Pflanzen aus verschiedenen Kreuzungsjahren

Von einem Teil der ersten Ernte 2012 aus Freilandkreuzungen mit ausgewählten F1-Pflanzen aus verschiedenen Kreuzungsjahren konnten 47 Pflanzen per AFLP analysiert werden. Von 12 der 32 als Kreuzungen verifizierten Pflanzen konnte zusätzlich der Genotyp des Vaters festgestellt werden. In den anderen Fällen musste von Fremdbestäubung mit unbekanntem WSC-Elter ausgegangen werden.

Im Zuge des Tests zur Jugendentwicklung (Kap. 5.2.4 *Prüfung potentieller Rückkreuzungen auf Merkmale der Jugendentwicklung (Juwi6)*) wurde das restliche Erntegut, aus den BC-Anlagen 2012 im Jahr 2013 ausgesät. Es entwickelten sich 88 Pflanzen, von denen zwei letal waren. Somit konnten 86 Pflanzen per SSR untersucht werden. Von 13 verifizierten BC1-Pflanzen konnte so der Pollenelter identifiziert werden, weitere 24 Pflanzen konnten als erfolgreiche Rückkreuzungen verifiziert werden, wobei der Pollendonator nicht identifizierbar war. Sieben Pflanzen wurden als F2-Generation (F1_FEL x F1_FEL) klassifiziert. Diese Pflanzen wiesen offenbar noch einen sehr hohen WSC-Genomanteil auf.

Bei der Bonitur der Blattanlage bzgl. gerolltem oder gefaltetem jüngstes Blatt konnte eine 88 %ige Übereinstimmung mit dem Ergebnis der DNA-Analyse festgestellt werden: diejenigen Pflanzen, die als erfolgreiche Rückkreuzung eingestuft wurden, hatten überwiegend gerollte Blattanlagen, wie sie auch der Wiesenschwingel aufweist.

4.2.3. Saatguternte 2013 der Isolierparzelle zur Samenernte an den Kreuzungen 2011 (Kr2011Pu)

Ausgewählte Nachkommenschaften aus der Samenernte der Pflanzung des Kreuzungserfolgs 2011 (Kr2011Pu), die im Versuch Juwi7 aufgegangen waren, wurden in den Versuchen Frost2014 (Kap. 7.1.2 *Versuch Frosttoleranz2014*), *Microdochium*2014 (Kap. 8.1.2 *Versuch Microdochium2014*) und *Xanthomonas*2014 (Kap. 9 *Resistenz gegen Xanthomonas translucens pv. graminis*) getestet. Diese Nachkommenschaften wurden ebenfalls mit den oben genannten SSR-Primern analysiert. Die Ergebnisse dieser Analysen sind in den nachfolgenden Unterkapiteln, separiert nach den Mutterpflanzen dargestellt.

4.2.3.1. Nachkommen der Einzelpflanze F1Arabella2011-143

Insgesamt 94 Nachkommen der Mutterpflanze F1Arabella2011-143 konnten mit den genannten Mikrosatelliten-Markern getestet werden. Kurz nach der Probenahme sind drei Pflanzen ausgefallen. Bei dieser Nachkommenschaft fiel auf, dass viele Pflanzen nicht von der Mutterpflanze zu unterscheiden waren, also die betreffenden Allele beider Eltern besaßen. Bei 62 Pflanzen wurden unbekannte, das heißt fremde oder neue Allele festgestellt. Wenn wenigstens drei Mikrosatelliten-Marker das gleiche Muster wie die F1

zeigten, wurden die Pflanzen als F2 gewertet. War der Nachkomme in keinem Fall von der Mutterpflanze zu unterscheiden, so wurde er als Selbstung klassifiziert. Die Mutterpflanze F1Arabella2011-143 wurde auf Blattrollung oder -faltung bonitiert und zeigte hier einen intermediären Phänotyp. Dies könnte den intermediären Phänotyp und die gefalteten Blätter von zwei BC-Pflanzen erklären. Der Anteil der F2-Pflanzen mit gerollten Blättern war dahingegen relativ groß (Tabelle 7). Insgesamt konnten bei dieser Nachkommenschaft prozentual die meisten Pflanzen als BC-Pflanzen identifiziert werden (12,5 %).

Tabelle 7: Verifizierung der Nachkommen der F1Arabella2011-143 anhand des Phänotyps der Blattanlage

	Nk(F1Arabella2011-143)	gerollt	gefaltet	intermediär	vor Blattbonitur ausgefallen
Anzahl F2-Pflanzen	51	28	13	8	2
Anzahl WD-Pflanzen	24	3	16	4	1
Anzahl Selbstungen	9	5	3	1	0
Anzahl BC-Pflanzen	12	10	1	1	0

4.2.3.2. Nachkommen von F1Aberavon2011-250

Insgesamt 97 Nachkommen dieser Mutterpflanze konnten analysiert werden. Bei 28 Pflanzen tauchten fremde Allele auf. Drei Nachkommen konnten eindeutig als BC-Pflanzen klassifiziert werden, während es sich bei 16 Individuen offenbar um F2-Pflanzen handelte. Beim Rest ist eine Fremdbestäubung mit Weidelgras zu vermuten. Alle BC-Pflanzen hatten gerollte jüngste Blätter. Obwohl die F1Aberavon2011-250 selbst gerollte Blätter aufwies, tendierten die F2-Pflanzen zu Blättern mit gefalteten Blattanlagen (Tabelle 8).

Tabelle 8: Verifizierung der Nachkommen der F1Aberavon2011-250 anhand des Phänotyps der Blattanlage

	Nk(F1Aberavon2011-250)	gerollt	gefaltet	intermediär
Anzahl F2-Pflanzen	16	1	15	0
Anzahl WD-Pflanzen	78	6	60	12
Anzahl Selbstungspflanzen	0	0	0	0
Anzahl BC-Pflanzen	3	3	0	0

4.2.3.3. Nachkommen der Pflanze F1Arabella2011-156

Von dieser Mutterpflanze konnten 155 Nachkommen mit molekularen Markern untersucht werden. Die meisten wiesen gefaltete Blattanlagen auf. Bei den genetischen Analysen zeigte sich, dass es sich bei der Pflanze F1Arabella2011-156 definitiv um eine Kreuzungspflanze gehandelt hat, was aufgrund der außergewöhnlich hohen Keimfähigkeit (75,2 %) in der Nachkommenschaft zunächst in Frage gestellt war. Nur zwei der Nachkommen wiesen bei allen fünf SSR-Markern Allele auf, die der Mutter glichen. BC1Arabella2013-2116 zeigte bezüglich LM15 noch weitere Allele, die den Elternpflanzen nicht zugeordnet werden konnten. In der BC1Arabella2013-2032 konnten bei Marker LM15 WSC-Allele nachgewiesen werden. Bei diesen zwei Individuen handelte es sich somit vermutlich um F2-Pflanzen. Bei allen anderen Nachkommen konnten nur WD-Allele und nicht zuordenbare Allele festgestellt werden. Bei der Bonitur der jüngsten Blätter auf Rollung oder Faltung wiesen auch die zwei F2-Pflanzen gefaltete Blattanlagen auf. Insgesamt hatten 99 % der Nachkommen gefaltete Blattanlagen; nur 1 % wiesen einen intermediären Phänotyp auf (Tabelle 9).

Tabelle 9: Verifizierung der Nachkommen der F1Arabella2011-156 anhand des Phänotyps der Blattanlage

	Nk(F1Arabella2011-156)	gerollt	gefaltet	intermediär
Anzahl F2-Pflanzen	2	0	2	0
Anzahl WD-Pflanzen	153	0	151	2
Anzahl Selbstungspflanzen	0	0	0	0
Anzahl BC-Pflanzen	0	0	0	0

4.2.3.4. Nachkommen der Pflanze F1WSCPX2011-22

Unter insgesamt 87 Nachkommen von F1WSCPX2011-22 hatten 34 gerollte jüngste Blätter, 44 gefaltete und 9 wurden als intermediär bonitiert. Der erwartete Anteil von BC-Pflanzen war demnach sehr hoch. Nur eine Pflanze konnte jedoch in der Markeranalyse sicher als Rückkreuzung verifiziert werden (BC1WSCPX42013-2831). Sie wies bei allen Primern teilweise die gleichen Allele wie die F1-Pflanze auf und war bei drei Primerkombinationen nicht vom WSC-Elter zu unterscheiden. Eine weitere Pflanze (BC1WSCPX42013-2832) zeigte bei drei Primerkombinationen WSC-Allele, bei einem Marker WD-Allele und fiel bei einem Marker komplett aus. BC1WSCPX42013-2858 zeigte bei zwei Markern WSC-Allele und bei dreien F1-Allele. Die Wahrscheinlichkeit, dass es sich hier ebenfalls um Rückkreuzungen handelte ist sehr hoch. Drei Pflanzen zeigten eine der F1-Pflanze identische Markersignatur (BC1WSCPX42013-2852, -2853 und -2854), diese wurden als Selbstungen gewertet. Phänotypisch hatten zwei dieser Pflanzen gerollte und eine gefaltete Blätter. 54 Pflanzen wiesen bei Marker LM15 Allele auf, die in den Elternpflanzen nicht nachweisbar waren. Dies ist entweder auf

Fremdeinstäubung durch WD oder auf ungewollte Kreuzungen der F1-Pflanzen untereinander zurückzuführen (Tabelle 10).

Tabelle 10: Verifizierung der Nachkommen der F1WSCPX2011-22 anhand des Phänotyps der Blattanlage

	Nk(F1WSCPX2011-22)	gerollt	gefaltet	intermediär
Anzahl F2-Pflanzen	53	21	26	6
Anzahl WD-Pflanzen	28	8	17	3
Anzahl Selbstungspflanzen	3	2	1	0
Anzahl BC-Pflanzen	3	3	0	0

4.2.3.5. Nachkommen der Pflanze F1Arabella2011-163

Insgesamt 119 Nachkommen dieser Pflanze wurden untersucht. Darunter befand sich eine Pflanze, die basierend auf den Markeruntersuchungen definitiv als Rückkreuzung gewertet werden konnte. Drei weitere Pflanzen wiesen bei Marker LM15 fremde Allele auf, glichen ansonsten aber der F1-Pflanze. Bei Marker Os09g03610 zeigte BC1Arabella2011-2616 noch zusätzliche Allele von WSC. Diese Pflanze wurde ebenfalls als Rückkreuzung gewertet. Die zwei anderen Pflanzen sind aufgrund des Auftretens neuer bzw. fremder Allele bei den anderen SSR-Markern nicht als Selbstung sondern als F2 eingestuft worden. Die Mutterpflanze F1Arabella2011-163 selbst wies eindeutig gerollte Blattanlagen auf, was in diesem Fall teilweise auch in die F2 weitervererbt wurde. Die BC-Pflanzen zeigten ebenfalls WSC-typische Blattanlagen (Tabelle 11).

Tabelle 11: Verifizierung der Nachkommen der F1Arabella2011-163 anhand des Phänotyps der Blattanlage

	Nk(F1Arabella2011-163)	gerollt	gefaltet	intermediär
Anzahl F2-Pflanzen	34	14	12	8
Anzahl WD-Pflanzen	83	11	50	22
Anzahl Selbstungspflanzen	0	0	0	0
Anzahl BC-Pflanzen	2	2	0	0

4.2.3.6. Nachkommen der Pflanze F1Barata2011-177

Insgesamt 166 Nachkommen der Pflanze F1Barata2011-177 konnten genetisch untersucht werden. Darunter wiesen 149 Pflanzen bei mindestens einem SSR-Marker fremde Allele auf. In allen Pflanzen blieben bei Marker LM23 die WD Allele vollständig erhalten. Damit glichen sie in ihrer genetischen Zusammensetzung der F1-Pflanze oder hatten im Vergleich dazu WSC-Allele verloren. Aus den Nachkommen von F1Barata2011-177 konnte damit keine Pflanze als erfolgreiche Rückkreuzung selektiert werden (Tabelle 12). Die Bonitur der Blattanlagen von F1Barata2011-177 zeigten einen

intermediären Typ zwischen WD und WSC mit Tendenz zur Faltung, was keine eindeutige Zuordnung ermöglichte.

Tabelle 12: Verifizierung der Nachkommen der F1Barata2011-177 anhand des Phänotyps der Blattanlage

	Nk(F1Barata2011-177)	ge- rollt	ge- faltet	inter- mediär	vor Blatt- bonitur ausgefallen
Anzahl F2-Pflanzen	96	8	77	5	6
Anzahl WD-Pflanzen	70	2	63	4	1
Anzahl Selbstungspflanzen	0	0	0	0	
Anzahl BC-Pflanzen	0	0	0	0	

4.2.3.7. Nachkommen der Pflanze BC1Lipresso2011-303

Bei den 193 Nachkommen dieser Pflanze sollte es sich um potentielle BC2-Pflanzen handeln. Drei Pflanzen wiesen einen sehr hohen WSC-Anteil auf. BC2Lipresso2013-2378 zeigte bei allen Markern WSC-Allele. WD-Allele waren mit den fünf SSR-Markern nicht mehr zu identifizieren. Die Pflanze zeigte gerollte Blattansätze. BC2Lipresso2013-2267 zeigte mit Ausnahme von Marker LM23 ebenfalls nur WSC-Allele. Bezüglich Marker LM23 zeigte dieser Genotyp drei Banden und glich damit der Mutterpflanze BC1Lipresso2011-303 oder einer F1-Pflanze (siehe Beispiel Abbildung 7). Der Phänotyp der Blattansätze wurde als intermediär zwischen WD und WSC bonitiert. BC2Lipresso2013-2277 wies bei Marker Os03g23950 fremde Allele auf. Ansonsten glich sie stark der Mutterpflanze, zeigte aber bei zwei Primerkombinationen (LM15 und Os06g41390) zusätzliche WSC-Allele. Gleichzeitig waren auch noch immer Allele von Weidelgras nachzuweisen. Das jüngste Blatt war in diesem Fall gerollt (Tabelle 13). Bei 178 Pflanzen von 193 analysierten Pflanzen, tauchten vor allem bei Marker LM15 fremde Allele auf, die nicht zugeordnet werden konnten. Insgesamt wurden drei Pflanzen sicher als BC2 eingestuft.

Tabelle 13: Verifizierung der Nachkommen der BC1Lipresso2011-303 anhand des Phänotyps der Blattanlage

	Nk(BC1Lipresso2011-303)	gerollt	gefaltet	intermediär	vor Blattbonitur ausgefallen
Anzahl Pflanzen Kreuzung mit BC1- oder F1-Pflanze	73	8	60	5	0
Anzahl WD-Pflanzen	117	2	113	0	2
Anzahl Selbstungspflanzen	0	0	0	0	0
Anzahl BC2-Pflanzen	3	1	1	1	0

Alle potentiellen Vaterpflanzen, die Mutterpflanze BC1Lipresso2011-303 sowie deren Mutterpflanze (F1Lipresso2008-2) wurden genetisch analysiert. Bei der Auswertung zeigte sich, dass BC1Lipresso2011-303 bei Marker Os03g23950 weniger WSC-Anteile als die F1Lipresso2008-2 aufwies. Das könnte ursächlich für die hohe Anzahl an Nachkommen mit gefalteten Blattanlagen sein. Mit den anderen Primerkombinationen waren diese beiden Pflanzen nicht voneinander unterscheidbar. Der mit den Markern geschätzte WSC-Anteil am Gesamtgenom schien sich von der F1- zur BC1-Generation nicht erhöht zu haben. BC1Lipresso2011-303 und F1Lipresso2008-2 waren bereits in früheren Untersuchungen mit AFLP-Markern als erfolgreiche Rückkreuzung bzw. F1 verifiziert worden. BC1Lipresso2011-303 wäre bei der Verifizierung mit den SSR-Markern aufgrund der dort festgestellten Allele als F2 eingestuft worden. Bei der AFLP-Analyse zeigten sich viele Banden, die nicht den bekannten Elternkomponenten zugeordnet werden konnten, weshalb ein eindeutiger Vater nicht identifiziert werden konnte. BC1Lipresso2011-303 selbst zeigte einen intermediären Typ der Blattanlagen, was sich in einer hohen Anzahl an Pflanzen mit gefalteten Blattanlagen in der BC2 Nachkommenschaft äußerte, die vermutlich durch eine genetische Spaltung für das Merkmal begründet ist. Somit kann nur eine der vermuteten BC2-Pflanzen als verifiziert angesehen werden (Tabelle 13).

4.3. Diskussion

Insgesamt konnten von 721 mit SSR-Markern analysierten Pflanzen 20 gesichert als BC1-Individuen identifiziert werden. Davon wiesen 17 gerollte Blattanlagen auf. Zwei Pflanzen zeigten intermediäre Blattanlagen und eine weitere gefaltete. Die Pflanze BC1Arabella2013-2477 (Blattanlagen gefaltet) und die Pflanze BC1Arabella2013-2538 (Blattanlagen gerollt) glichen der Mutterpflanze mehr als die anderen BC-Pflanzen. Bezüglich des SSR-Markers LM23 wiesen sie sowohl WD- als auch WSC-Allele auf. Es

handelt sich hier möglicherweise um einen stark heterozygoten Genotyp, dessen Phänotyp bezüglich der Blattanlage nicht eindeutig identifizierbar ist.

Die Nachkommenschaften der Mutterpflanzen F1Arabella2011-143 und F1WSCPX2011-22 wiesen in der Isolationskreuzung einen höheren Anteil an F2-Individuen als WD-Rückkreuzungen auf. Das könnte darauf hindeuten, dass diese beiden Mutterpflanzen im Feld neben partiell männlich fertilen F1-Pflanzen standen und von diesen befruchtet wurden. In der Nachkommenschaft von F1Aberavon2011-250 (3,1 %) und F1WSCPX2011-22 (3,4 %) konnten prozentual fast gleich viele BC1-Pflanzen identifiziert werden. F1Arabella2011-143 lieferte den größten Anteil an BC1-Pflanzen (12,4 %). Unter den Nachkommenschaften von F1Arabella2011-156 und F1Barata2011-177 konnten dagegen keine BC1-Pflanzen sicher nachgewiesen werden. Die F1Arabella2011-163 zeigte einen BC1-Pflanzenanteil von 1,7 %.

Weiterhin konnten die Nachkommen einer BC1-Pflanze untersucht werden. Diese BC1Lipresso2011-303 brachte 1,6% an BC2-Nachkommen hervor. Wider Erwarten erhöhte sich damit die Häufigkeit erfolgreicher Rückkreuzungen in der BC1-Generation im Vergleich zur F1-Generation nicht. Allerdings wies BC1Lipresso2011-303 einen hohen WD-Genomanteil auf. Möglicherweise hatte dies negative Auswirkungen auf die Rückkreuzungseignung mit WSC-Pflanzen und damit den prozentualen Anteil verifizierter BC2-Pflanzen.

Die Tabelle 14 gibt einen Überblick über die Einordnung der Nachkommen (Nk) bzgl. genetischer Konstitution, deren Blattanlagen-Phänotyp und der prozentualen Übereinstimmung zwischen Zuordnung der Blattanlage und Einordnung durch die SSR Marker. Aus den Analysen kann der Schluss gezogen werden, dass insbesondere der SSR-Marker LM23, der eindeutige Allele für WD und WSC aufwies, auch mit der phänotypisch zu beobachtenden Eigenschaft „Blattrollung oder -faltung des jüngsten Blattes“ korreliert war. 17 BC1-Pflanzen unter allen Nachkommenschaften waren anhand dieses Markers nicht von WSC zu unterscheiden. Insgesamt 16 Pflanzen hatten gerollte Blattanlagen und eine Pflanze zeigte intermediäre Blattanlagen.

Tabelle 14: Zuordnung durch SSR-Marker der Nachkommen von sechs F1-Pflanzen und BC1Lipresso2011-303 aus der Pflanzung der Kreuzungen 2011, sowie Phänotyp der Blattanlagen mit absoluter und prozentualer Übereinstimmung von Phänotyp und Genotyp

Übereinstimmung Zuordnung durch SSR-Marker und Bonitur der Blattbasis					
Zuordnung durch SSR-Marker	Zuordnung Blattbasis	Nachkommen der F1-Pflanzen		Nachkommen von BC1Lipresso2011-303	
		Absolut	Prozentual	Absolut	Prozentual
WD	Gefaltet	357	82,3 %	113	98,3 %
WD	Gerollt	30	6,9 %	2	1,7 %
WD	Intermediär	47	10,8%	0	0,0 %
F2	Gefaltet	145	59,4 %	60	82,2 %
F2	Gerollt	72	29,5 %	8	11,0 %
F2	Intermediär	27	11,1 %	5	6,8 %
BC	Gefaltet	1	5,0 %	1	33,3 %
BC	Gerollt	18	90,0 %	1	33,3 %
BC	Intermediär	1	5,0 %	1	33,3 %
Selbstung	Gefaltet	4	33,3 %	-	-
Selbstung	Gerollt	7	58,3 %	-	-
Selbstung	Intermediär	1	8,3 %	-	-

- = nicht untersucht

Ein Vergleich der Samenernten von 2012 zu 2013 zeigte, dass 2012 bei den Rückkreuzungen eine höhere Erfolgsrate erzielt wurde. Allerdings gingen aus dem Erntegut 2012 wesentlich weniger Pflanzen hervor. Die höhere BC-Ausbeute in den Freilandkreuzungen mit ausgewählten F1-Pflanzen aus verschiedenen Kreuzungsjahren (Kap. 4.2.2 *Saatguternte 2012 aus Freilandkreuzungen mit ausgewählten F1-Pflanzen aus verschiedenen Kreuzungsjahren*) könnte durch die Anlage der Isolierparzellen bedingt sein. Die Anpflanzung in den kleinen BC-Anlagen erfolgte im Verhältnis 1:3 (F1:WSC). In Kr2011Pu (Samenernte 2013) betrug das Verhältnis F1:WSC dagegen nur 1:0,7. Hinzu kam, dass im Jahr 2012 keine der benachbarten Weidelgraspflanzungen zur Saatgutproduktion beerntet wurde und somit nicht zur Blüte kam, was in einer geringeren Anzahl an unerwünschten WD-Rückkreuzungen als 2013 resultierte. Durch die verwendeten Isolationsplanen konnte Fremdbestäubung nicht vollständig verhindert werden, was das vereinzelte Auftreten von nicht in den Elternpflanzen vorkommenden Allelen in der Markeranalyse erklärt. Für weitere Rückkreuzungsexperimente stehen letztendlich 19 verifizierte BC1- und eine verifizierte BC2-Pflanze aus Kr2011Pu zur Verfügung.

5. Jugendentwicklung

Ein gravierender Nachteil von Wiesenschwingel-Sorten ist die langsame Jugendentwicklung. Dadurch ist die Nachsaattauglichkeit dieser Art stark eingeschränkt, da sich die Schwingel-Keimlinge in einem Mischbestand nur schlecht etablieren können. Da bei WSC keine hinreichende Variation für dieses Merkmal für eine erfolgversprechende züchterische Bearbeitung vorhanden ist, soll durch das Einkreuzen der Eigenschaft einer rascheren Jugendentwicklung aus WD eine Vergrößerung der genetischen Basis von WSC erreicht werden. Um die entstandenen Kreuzungsprodukte bereits frühzeitig auf dieses Merkmal selektieren zu können, wurden verschiedene Experimente durchgeführt. Die ersten Versuche mit WD- und WSC-Saatgut dienten der Methodenentwicklung sowie der Erfassung der Variation für Jugendentwicklung im Ausgangsmaterial. In drei Versuchsserien konnte schließlich Saatgut von F1- und BC1-Pflanzen getestet und selektiert werden. Ziel der Untersuchungen war die Etablierung einer Methodik, die es erlaubt, die genetischen Komponenten der Jugendentwicklungsmerkmale von sonstigen Einflüssen zu trennen, die beispielsweise in verschiedenen Saatgutqualitäten oder Umwelten zum Zeitpunkt des Auflaufens begründet sein können.

Den durchgeführten Versuchsserien lagen unterschiedliche Versuchsfragen bzw. Ziele zugrunde:

- Welche(s) Merkmal(e) unterscheidet bzw. unterscheiden die WD- und WSC-Sorten bezüglich der Jugendentwicklung?
- Welchen Einfluss hat die Sorte der jeweiligen Art?
- Welchen Einfluss hat das Alter des Saatguts auf die Jugendentwicklung?
- Gibt es Unterschiede zwischen einzelnen Chargen (unterschiedliche Vermehrungsflächen, Kornausbildung) aus gleichen Erntejahren einer Sorte?
- Welchen Einfluss hat die Umgebungstemperatur während der gesamten Jugendentwicklung?
- Wie ist das Erntegut von F1-Hybriden bzw. der daraus entstandenen Nachkommen im Vergleich zu WD und WSC beschaffen?
- Inwieweit ist das Merkmal Jugendentwicklung heritabel?
- Variation für das Merkmal Jugendentwicklung in den erstellten Kreuzungsnachkommen.

5.1. Material und Methoden

Für die Selektion auf frühe Jugendentwicklung wird eine effiziente Methode benötigt, die es möglichst einfach und frühzeitig gestattet genotypische Unterschiede bezüglich des Merkmals „Jugendentwicklung“ bestmöglich zu erfassen, d.h. auch Umwelteffekte abzutrennen. Da das vorliegende Untersuchungsmaterial sehr arbeitsaufwändig gewonnen wurde und auch nur in begrenzter Menge vorlag, wurde die im folgendem

dargestellte Methodenentwicklung mit zugelassenen WSC- und WD-Sorten (Präfix „Var_“) durchgeführt. Aufgrund des häufig degenerierten bis nicht existenten Endosperms war die Keimfähigkeit der Kreuzungsprodukte im Vergleich mit üblichem Saatgut oft gering. Um diesem Umstand in der Methodenentwicklung Rechnung zu tragen und die Effekte unterschiedlicher Chargenqualität in Relation zu den genetischen Unterschieden quantifizieren und berücksichtigen zu können, wurde Saatgut unterschiedlichen Alters und mit unterschiedlichem TKG verwendet und die Ergebnisse verglichen.

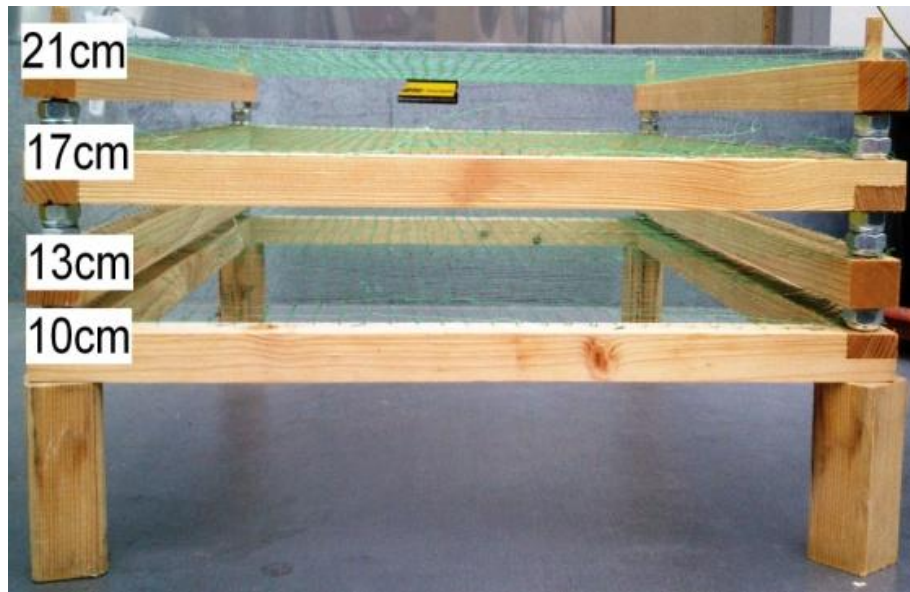


Abbildung 8: Rahmenkonstruktion zur einfachen Erfassung des Längenwachstums von Graskeimlingen (Innenmaße: HxBxT: 21 cm x 33 cm x 48,5 cm)

Während der Projektlaufzeit wurden insgesamt sieben Experimente zur Jugendentwicklung durchgeführt. Vorversuche (Juwi1 – Juwi2) mit Sortenmaterial wurden genutzt, um die technischen Gegebenheiten anzupassen. Um die Wachstumsgeschwindigkeit einfach und schnell zu erfassen, wurden Holzrahmen verwendet, auf die Größe der Aussaatschalen (Länge x Breite x Höhe: 48,5 cm x 33 cm x 7 cm) angepasst und in vier verschiedenen Höhen (10 cm, 13 cm, 17 cm, 21 cm) mit Nylonnetzen (Maschenweite 1 cm x 1 cm) bespannt (Abbildung 8). Unter Berücksichtigung des Substrates betragen die erfassten Wuchshöhen: 3 cm (WH1), 6 cm (WH2), 10 cm (WH3), 14 cm (WH4). Mit Ausnahme der Versuchsreihe Juwi4 wurde die Temperatur auf Tag/Nacht 16/18°C und zusätzliche Beleuchtung von 6:30 Uhr bis 18:30 Uhr eingestellt. Im Verlauf des Versuchs wurde dann das Datum erfasst, an denen die oberste Blattspitze einer Pflanze die jeweiligen Stufen erreichte. Als weitere Merkmale zur Beschreibung der Jugendentwicklung wurde die Dauer zwischen Aussaat und Auflaufen, sowie die Dauer zwischen Aussaat und Erscheinen des ersten Bestockungstriebs erfasst. Ebenso wurden das Erscheinen der Blätter dokumentiert (BBCH11 – BBCH20). Im Laufe der Versuchsreihe wurde aufgrund des

Arbeitsaufwandes und einer hohen Korrelation mit der Wachstumsgeschwindigkeit auf die Dokumentation des BBCH Makrostadiums 1 verzichtet und nur noch das Auflaufdatum (BBCH09), das Erscheinen des 1. Bestockungstriebes (BBCH21) und das Längenwachstum in den vier Stufen erfasst. Als Substrat wurde Anzuchterde der Firma Floragard (Oldenburg) mit Sand gemischt (Verhältnis 70 l:10 l). In den Versuchsreihen Juwi3, Juwi4 und Juwi5 wurden die Faktoren Saatgutalter und Keimtemperatur sowie deren Einfluß auf Keimgeschwindigkeit und Jugendentwicklung untersucht. In den Versuchsreihen Juwi6, Juwi7 und Juwi8 konnte Erntegut von F1- und BC1-Pflanzen untersucht werden. Die Karyopsen der einzelnen Sorten wurden in Reihen gesät, mit je 11 Pflanzen pro Reihe. Jede Schale fasste 7 Reihen, wovon 2 als Rand gesät wurden und nicht mit in die Verrechnung einfließen. Als Rand diente Saatgut der Sorte Niata (WD). Das Erntegut der F1- und BC1-Pflanzen wurde flächig in den Aussaatschalen ausgestreut, da von einer niedrigen Keimfähigkeit ausgegangen wurde. Getestet wurde das Erntegut von ausgewählten Einzelpflanzen der Kreuzungserfolge 2007 bis 2009 (Erntejahr 2012), sowie das gesamte Erntegut des Kreuzungserfolg 2011 aus dem Erntejahr 2013 (302 Saatgutproben). Der Versuchsaufbau in Juwi3, Juwi4 und Juwi5 war ein randomisiertes Blockdesign, in den Versuchen Juwi6, Juwi7 und Juwi8 ein unwiederholtes Blockdesign. Die Auswertung erfolgte mit dem Statistikprogramm R (R Core Team, 2014). Zur statistischen Absicherung wurden ANOVAs und der LSD-Test des Pakets agricolae durchgeführt (Mendiburu, 2014).

Die Anzahl der Prüfglieder und Versuchsvarianten sind in Tabelle 15 zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 15: Übersicht über alle durchgeführten Versuche zum Merkmal Jugendentwicklung (Juwi3 bis Juwi8)

Versuchs-	Art	Prüfglied	Eingangsjahr/Erntejahr	Anzahl Karyopsen pro Wiederholung	Wiederholung	Versuchsdauer	Versuchsfrage und Durchführung
Juwi3	WSC	Cosmolit	2002	33	4	14.01.2013-04.03.2013	Einfluss des Saatgutalters auf die Jugendentwicklung
	WSC	Cosmolit	2006	33	4		
	WSC	Cosmolit	2008	33	4		
	WSC	Cosmolit	2011	33	4		
	WSC	Cosmolit	2012	33	4		
			Charge 1				
	WSC	Cosmolit	2012	33	4		
			Charge 2				
	WD	Weigra	2000	33	4		
		tiefgefroren					
	WD	Weigra	2005	33	4		
	WD	Weigra	2007	33	4		
	WD	Weigra	2008	33	4		
Juwi4	WSC	Cosmolit	2006	55	6	08.04.2013 19.05.2013	Einfluss verschiedener Temperaturen (20°C und 9°C) auf die Jugendentwicklung
	WSC	Cosmolit	2008	55	6		
	WD	Weigra	2005	55	6		
	WD	Weigra	2008	55	6		
Juwi5	WSC	Cosmolit	2012	33	4	01.08.2013-25.09.2013	Einfluss von Saatgutalter und Sorte auf die Jugendentwicklung
			Charge 1				
	WSC	Cosmolit	2008	33	4		
	WSC	Cosima	2012	33	4		
	WSC	Cosima	2011	33	4		
	WSC	Cosima	2010	33	4		
	WD	Weigra	2005	33	4		
	WD	Weigra	2008	33	4		
	WD	Ivana	2010	33	4		
			Charge 1				
	WD	Ivana	2010	33	4		
		Charge 2					
	WD	Ivana	2008	33	4		
Juwi6	WSC	Cosmolit	2008	22	3	23.10.2013-23.12.2013	Beschaffenheit des Ernteguts von 36 F1-Pflanzen im Vergleich zu WD und WSC hinsichtlich der Jugendentwicklung. Alle Pflanzen zusammen in einer Koje
	WSC	Kolumbus	2009	22	3		
	WSC	Laura	2009	22	3		
	WSC	Barvital	2009	22	3		
	WSC	Liherold	2009	22	3		
	WSC	Preval	2009	22	3		
	WSC	Pradel	2009	22	3		
	WD	Arolus	2009	22	3		

Fortsetzung Tabelle 15

Versuchs	Art	Prüfglied	Eingangsjahr/Erntejahr	Anzahl Karyopsen pro Wiederholung	Wiederholung	Versuchsdauer	Versuchsfrage und Durchführung
	WD	Ivana	2008	22	3		
	WD	Marika	2009	22	3		
	WD	Hansi	2009	22	3		
	WD	Respect	2009	22	3		
	WD	Niata	2009	22	3		
	WD	Weigra	2008	22	3		
	WD	Rodrigo	2009	22	3		
	WD	Arabella	2009	22	3		
	WD	Animo	2009	22	3		
	WD	Aberavon	2009	22	3		
	WD	Kabota	2009	22	3		
	WD	Matiz	2009	22	3		
	Ernte gut F1	ausgewählte Pflanzen aus Kreuzungserfolg 2007 - 2009	2012	Streusaat	1		
	WSC	Cosmolit	2009	33	3		Jugendentwicklung der Hybriden im Vergleich zu WD- und WSC-Sorten. Erntegut von 151 F1- und BC1-Einzelpflanzen (Teil 1)
	WSC	Pradel	2009	33	3		
	WD	Ivana	2009	33	3		
	WD	Arabella	2009	33	3		
	WD	Weigra	2009	33	3		
Juwi7	Ernte gut F1	Kreuzungserfolg 2011	2013	Streusaat	1	30.07.2014 - 08.09.2014	
	WSC	Cosima	2012 groß	22	3		Beurteilung der Hybriden hinsichtlich Jugendentwicklung, Einfluss des TKGs von Sorten auf die Jugendentwicklung. Erntegut von 151 F1- und BC1-Einzelpflanzen (Teil 2)
	WSC	Cosima	2012 klein	22	3		
	WSC	Cosmolit	2012/2 groß	22	3		
	WSC	Cosmolit	2012/2 klein	22	3		
	WSC	Cosmolit	2009	22	3		
	WD	Ivana	2010/1 groß	22	3		
	WD	Ivana	2010/1 klein	22	3		
	WD	Ivana	2009	22	3		
	WD	Weigra	2008 groß	22	3		
	WD	Weigra	2008 klein	22	3		
Juwi8	Ernte gut F1	Kreuzungserfolg 2011	2013	Streusaat	1	13.10.2014-10.12.2014	

5.2. Ergebnisse

Ziel der Versuchsreihe zur Jugendentwicklung war es, die wesentlichen Einflussfaktoren zu identifizieren, um diese experimentell zu bestimmen und von der erblichen Komponente des Zielmerkmals abzugrenzen. Untersucht wurden dazu der Einfluss des Saatgutalters anhand verschiedener Erntepartien, die unter unterschiedlichen Bedingungen abgereift sind, sowie der Einfluss der Umgebungstemperatur bei der Keimung auf die Jugendentwicklung. Die Ergebnisse wurden mit Hilfe von Boxplots dargestellt. Eine Definition der Boxplots zeigt Abbildung 9.

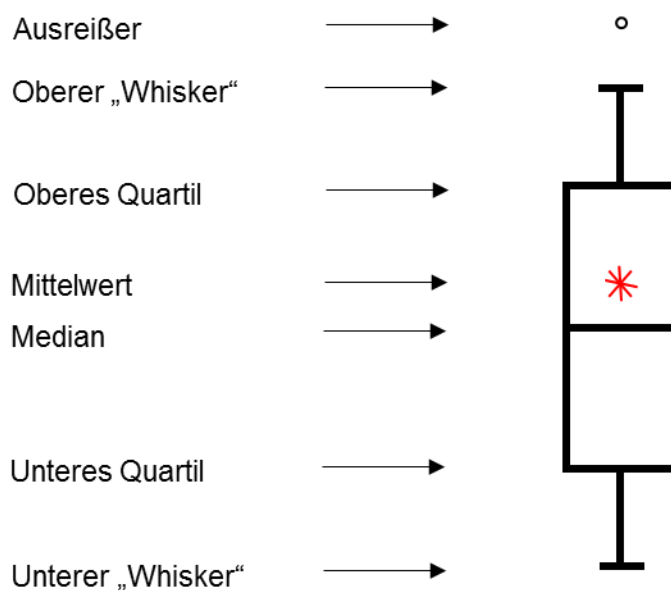


Abbildung 9: Definition der Boxplots mit Median, Mittelwert und Quartilen. „Whisker“ zeigen das Maximum bzw. das Minimum der Verteilung. Wenn Datenpunkte mehr als das 1,5-fache des Interquartilabstands vom Median abweichen, werden diese als Ausreißer dargestellt

5.2.1. Einfluß der Saatgutlagerungsdauer auf die Keimfähigkeit und Jugendentwicklung (Juwi3)

Im Rahmen des Versuchs Juwi3 wurde der Einfluß der Lagerungsdauer des Saatgutes auf die Keimfähigkeit und Jugendentwicklung anhand einer Deutschen Weidelgras- (Var_WD_Weigra) und einer Wiesenschwingel-Sorte (Var_WSC_Cosmolit) untersucht. Zum Einsatz kam dabei Saatgut, das zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung von einem Jahr und bis zu 11 Jahren in einem ungekühlten offenen Lagerraum aufbewahrt wurde. Ausnahme war das Var_WD_Weigra Saatgut aus dem Jahr 2000, das bis zur Versuchsdurchführung bei -20 °C gelagert worden war. Bei beiden Arten konnte festgestellt werden, dass wie erwartet, mit zunehmender Lagerdauer die Keimfähigkeit abnahm. Es gab einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Pflanzenart und dem Alter des Saatgutes. Im Mittel hatten die Var_WD_Weigra Prüfglieder eine Keimfähigkeit von 95 %, die Var_WSC_Cosmolit Prüfglieder von 91 %. Das Prüfglied Var_WSC_Cosmolit2002 besaß mit 63 % die niedrigste Keimfähigkeit, Var_WSC_Cosmolit2011 mit 99 % die höchste. Var_WD_Weigra2000 hatte die zweithöchste Keimfähigkeit was darauf hinweist, dass bei -20 °C eine Langzeitlagerung von Gräsersaatgut möglich ist. Die übrigen Prüfglieder wiesen keine signifikanten Unterschiede in der Keimfähigkeit auf (91–97 %). Ein signifikanter Zusammenhang zwischen Rückgang der Keimfähigkeit und steigender Lagerungsdauer war weder bei WD noch bei WSC erkennbar (LSD-Test). Tendenziell nahm die Keimfähigkeit mit dem Anstieg der Lagerungsdauer ab.

Signifikante Unterschiede gab es für die Dauer zwischen Aussaat und Aufgang. Var_WSC_Cosmolit2002 wies im Mittel die längste Zeitspanne (10 Tage) auf, während Var_WD_Weigra2008 (6 Tage) am schnellsten aufging. Die jüngsten Var_WSC_Cosmolit Prüfglieder (2011, 2012/1 und /2) liefen ebenso schnell auf wie das älteste WD Prüfglied Var_WD_Weigra2005 (7 – 8 Tage). Die Auflaufdauer wurde folglich überwiegend von der Art bzw. Sorte und dem Alter des Saatgutes beeinflusst. Von Auflaufen bis WH1 konnte keine altersabhängige Gruppierung von Var_WD_Weigra (Mittelwert 4 Tage) und Var_WSC_Cosmolit (Mittelwert 4 Tage) festgestellt werden. Der Zeitraum vom Auflaufen bis WH1, 2, 3 und 4 wurde signifikant vom Alter des Saatgutes beeinflusst (Mittelwert bis WH4: Var_WSC_Cosmolit 16 Tage, Var_WD_Weigra 15 Tage). Damit wurden genotypische Unterschiede überlagert. Erst der Zeitraum vom Auflaufen bis zum Beginn der Bestockung (BBCH21) wurde primär von der Sorte und nicht signifikant vom Alter beeinflusst (Mittelwert: Var_WD_Weigra 25 Tage, Var_WSC_Cosmolit 29 Tage) (LSD-Test, $p < 0,05$).

5.2.2. Einfluss der Umgebungstemperatur auf die Jugendentwicklung (Juwi4)

Für diesen Versuch wurden Saatgutproben der Sorten Var_WSC_Cosmolit und Var_WD_Weigra aus jeweils zwei unterschiedlichen Erntejahren bei zwei verschiedenen Temperaturen im Gewächshaus ausgesät. Zieltemperaturen der beiden

Gewächshauskammern waren Mittelwerte von 9°C bzw. 19°C. Obwohl der Versuch im zeitigen Frühjahr 2013 durchgeführt wurde, wurden aufgrund der warmen Außentemperatur tagsüber diese Werte regelmäßig überschritten. Im Mittel wurden 15°C bzw. 19°C erreicht, die Höchstwerte in der warmen Koje lagen bei 29°C, in der kühleren bei 26°C. Die Temperaturunterschiede zwischen beiden Behandlungen waren demnach geringer als ursprünglich anvisiert.

Die Zeitspanne zwischen Aussaat und Auflaufen waren tendenziell bei den Pflanzen in warmer Umgebungstemperatur kürzer (Mittelwert „warm“: 7 Tage; Mittelwert „kühl“: 9 Tage). Im Mittel brauchte die Sorte Var_WD_Weigra 8 Tage im kühleren und 6 Tage im wärmeren Temperaturregime bis zum Aufgang. Bei Var_WSC_Cosmolit war der Auflauftermin 1–2 Tage später (kühl: 10 Tage, warm: 7 Tage). Allerdings gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Prüfglied Var_WD_Weigra2008 bei niedriger und Var_WSC_Cosmolit2006, sowie Var_WSC_Cosmolit2008 bei höherer Temperatur (Abbildung 10). Bei allen Prüfgliedern hatte die Temperatur einen signifikanten Einfluss auf die Wachstumsgeschwindigkeit und die Blattneubildung. Beim Zeitraum Auflaufen bis Bestockung wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Temperaturen festgestellt. Der erste Bestockungstrieb erschien bei den WD_Weigra Prüfgliedern unabhängig von der Temperatur etwa drei Tage früher als bei den WSC-Prüfgliedern (Var_WD_Weigra2005: 18 Tage, Var_WD_Weigra2008: 18 Tage).

Der Zeitraum vom Auflaufen bis zur Bestockung wurde mehr von der Pflanzenart als von der Temperatur beeinflusst, auch konnte kein Einfluß des Saatgutalters auf die Dauer bis zum Auftreten des ersten Bestockungstriebe festgestellt werden. Im Längenwachstum war keine Differenzierung zwischen den beiden Arten feststellbar, wohl aber zwischen den beiden Temperaturstufen.

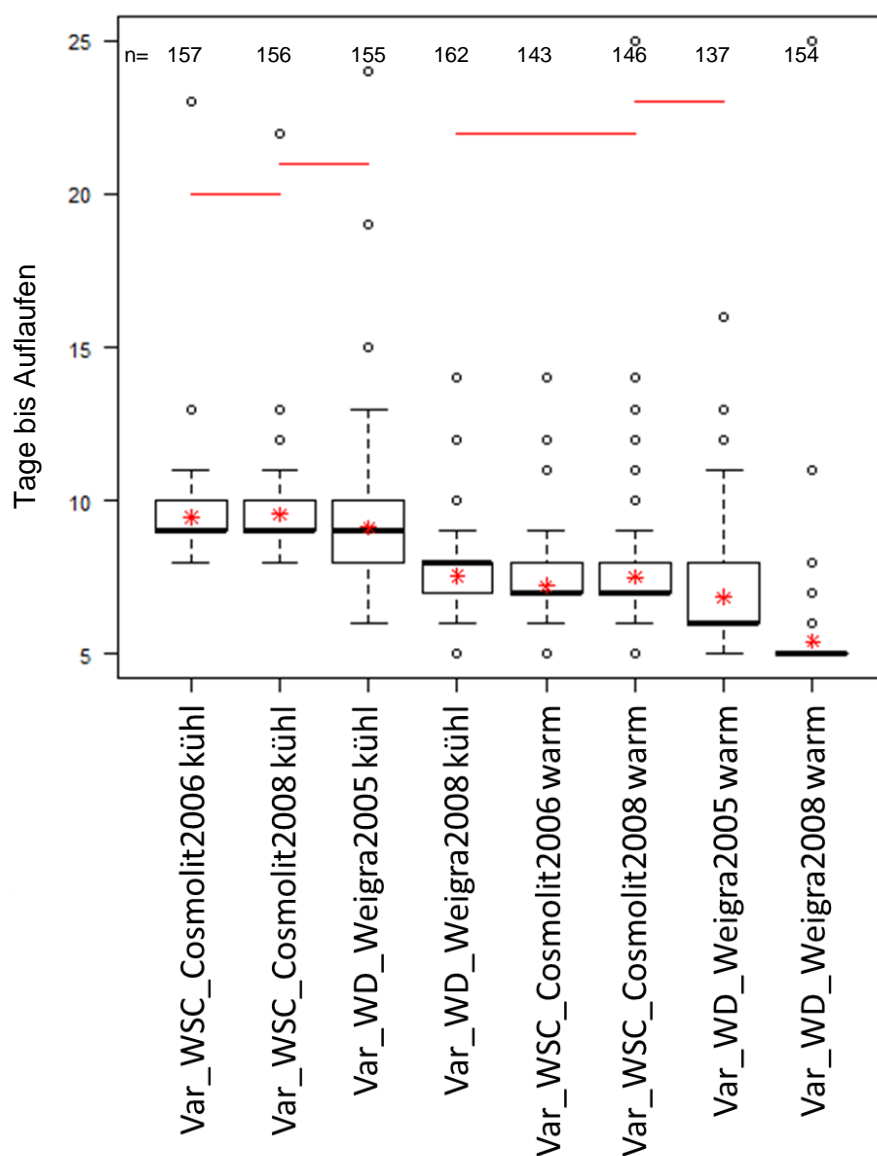


Abbildung 10: Einfluss der Temperatur auf die Keimgeschwindigkeit im Versuch Juwi4 (Tage bis Auflaufen) bei Var_WD_Weigra und Var_WSC_Cosmolit. Boxplots unter der gleichen, horizontalen Linie sind nicht signifikant verschieden (LSD-Test, $p < 0,05$)

5.2.3. Einfluss der Überlagerung auf Weidelgras- und Wiesenschwingel-Sorten (Juwi5)

Im Gegensatz zu Juwi3 und Juwi4 wurden in diesem Ansatz je zwei Sorten von Deutschem Weidelgras (WD) und Wiesenschwingel (WSC) unterschiedlicher Lagerungsdauer untersucht. Es wurden die Sorten Var_WD_Ivana und Var_WD_Weigra sowie die Sorten Var_WSC_Cosmolit und Var_WSC_Cosima verschiedener Erntejahre getestet.

Vom Auflaufen bis zum Erscheinen des zweiten Blattes dauerte es im Mittel 6 bis 7 Tage. Es gab signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Prüfgliedern. Die Sorte

Var_WSC_Cosmolit2008 bildete am schnellsten das zweite Blatt aus, während Var_WD_Weigra2008 und Var_WD_Ivana2010/2 als letzte das zweite Blatt bildeten. Weder das Saatgutalter noch die Pflanzenart schienen hier einen eindeutigen Einfluss zu haben. Das Stadium BBCH13 wurde im Mittel 13 bis 14 Tage nach dem Auflaufen erreicht. Auch hier waren keine Unterschiede zwischen den Arten oder Einfluss des Saatgutalters erkennbar.

Zwischen dem Aufgang und der Bestockung bestanden signifikante Unterschiede zwischen den Sorten Var_WD_Ivana (je nach Prüfglied im Mittel 18-19 Tage) und Var_WD_Weigra (je nach Prüfglied 22–24 Tage), unabhängig vom Saatgutalter. Die WSC-Prüfglieder waren in der Entwicklung signifikant langsamer: Var_WSC_Cosmolit benötigte 27 Tage in beide Altersstufen, Var_WSC_Cosima im Mittel 28 Tage bei jungem Saatgut und 30 Tage bei älterem Saatgut. Ein klarer Sortenunterschied konnte jedoch nicht festgestellt werden. Bei den WD-Prüfgliedern wurde, wie die Mittelwerte zeigen, eine größere Variabilität von ca. 5 Tagen festgestellt, als bei den WSC-Prüfgliedern (ca. 3 Tage). Wieder konnte kein Einfluss des Alters festgestellt werden. Bei den Prüfgliedern Var_WD_Weigra und Var_WSC_Cosmolit nahm jedoch die Varianz mit dem Saatgutalter zu (Var_WD_Weigra2008: 28; Var_WD_Weigra2005: 44; Var_WSC_Cosmolit2012/1: 42; Var_WSC_Cosmolit2008: 51).

Beim Längenwachstum erreichte die Sorte Var_WD_Ivana2008 (Mittelwert 5 Tage) am frühesten die 2. Stufe (WH2), Var_WD_Ivana2010/1 und Var_WD_Ivana2010/2 unterschieden sich davon nicht signifikant. Die Prüfglieder von Var_WSC_Cosima hatten ein signifikant langsameres Längenwachstum und erreichten WH2 im Mittel erst nach 8–9 Tagen. Im Durchschnitt war bei allen WD-Prüfgliedern das Längenwachstum schneller (5–6 Tage) als bei den WSC-Prüfgliedern (7–9 Tage) (Abbildung 11). In den Zeiträumen von Aufgang bis WH1, WH3 und WH4 war keine eindeutige Differenzierung der Arten mehr möglich.

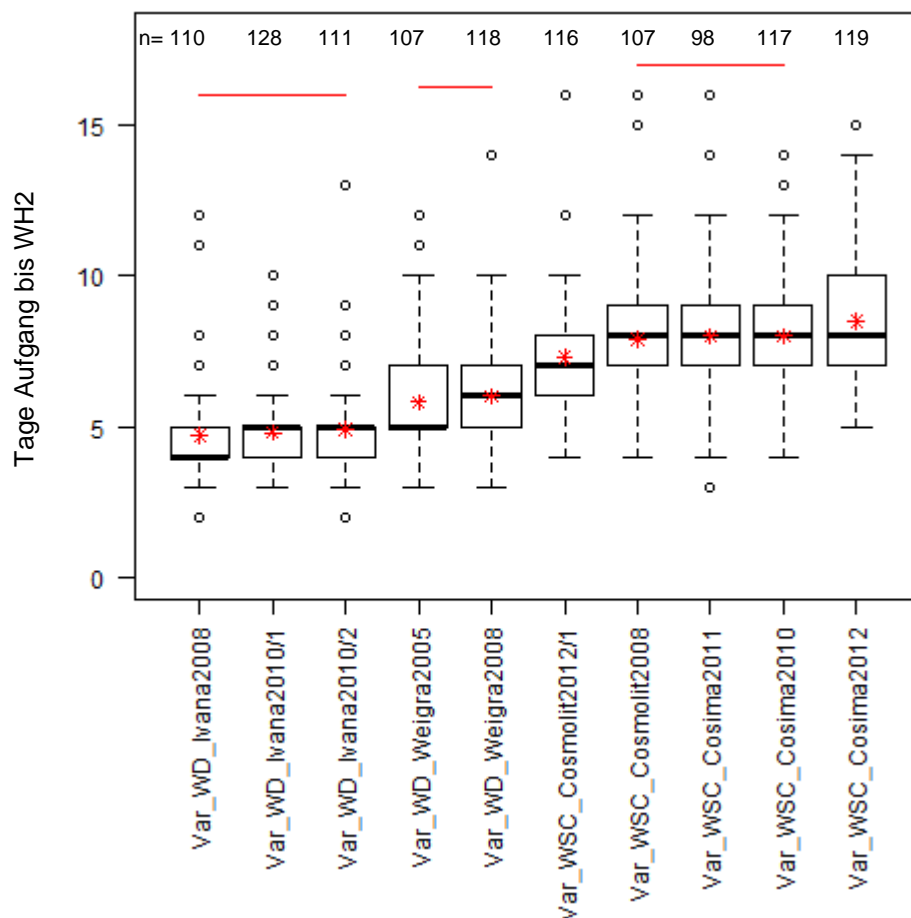


Abbildung 11: Vergleich der WD- und WSC-Prüfglieder bezüglich Anzahl Tage Auflaufen bis WH2 (Versuch Juwi5)*

*Prüfglieder unter der jeweils gleichen horizontalen Linie sind nicht signifikant verschieden (ANOVA und LSD-Test, $p < 0,05$). Sterne kennzeichnen die Mittelwerte.

Das Alter des Saatgutes hatte in diesem Versuch kaum einen Einfluss auf das Längenwachstum. Die klarsten Unterschiede zwischen den Arten - unabhängig vom Prüfglied - lieferte der Zeitraum zwischen Auflaufen und Bestockung. Für die Selektion auf schnelle Jugendentwicklung sind den bisherigen Versuchen zufolge die BBCH-Stadien 09 und 21 sowie das Längenwachstum zu WH4 essentiell. WH1 bis WH3 müssen nicht erfasst werden, allerdings erleichterte die Methodik durch das Netz die Erfassung des Erreichens von WH4.

5.2.4. Prüfung potentieller Rückkreuzungen auf Merkmale der Jugendentwicklung (Juwi6)

Für dieses Experiment wurden sieben Wiesenschwingel-Sorten und 13 Weidelgras-Sorten anhand der Boniturnoten des Bundessortenamtes für MBANF und ZPAESCH des gleichen Lieferjahres (2009) ausgewählt. Das Saatgut wurde im Jahr 2008 von den jeweiligen Saatgutproduzenten geerntet und 2009 an die LfL geliefert. Hinzu kam das

Erntegut von 36 F1-Hybriden (Kreuzungserfolg 2007-2010) aus dem Erntejahr 2012 bzw. den BC-Anlagen der Freilandkreuzungen (vgl. Kapitel 3.2.1 *Kreuzungen im Freiland: Material und Methoden*, Seite 11). Es wurden hier erstmalig potentielle Rückkreuzungen auf Merkmale der Jugendentwicklung getestet. Insgesamt 91 Pflanzen gingen auf und wurden nach dem Versuch anhand von AFLP Markern genetisch untersucht. Hierbei konnten 42 Pflanzen als erfolgreiche Rückkreuzungen verifiziert werden.

Für das Merkmal Tage bis zum Auflaufen gab es keinen generellen Unterschied zwischen WD- und WSC-Sorten. Es gab früh und spät auflaufende WSC-Sorten, ebenso bei den WD-Sorten. Im Mittel waren die WD-Sorten jedoch schneller als die WSC-Sorten (Tabelle 16).

Für den Zeitraum Aufgang bis Bestockung war nur zwischen den Arten WD (Mittelwert 33 Tage) und WSC (Mittelwert 39 Tage) ein signifikanter Unterschied feststellbar. Einzelne WD- und WSC-Sorten zeigten ein abweichendes Verhalten bezüglich Entwicklungsgeschwindigkeit und Längenwachstum.

Zusammenfassend ergibt sich für alle Sorten der Arten Deutsches Weidelgras und Wiesenschwingel folgendes Bild: WD-Sorten keimten im Mittel signifikant schneller, erreichten nach dem Auflaufen alle vier erfassten Höhenstufen in kürzerer Zeit, und auch die Bestockung erfolgte im Mittel in kürzerer Zeit.

Die verifizierten BC1-Pflanzen liefen im Mittel signifikant schneller auf, als die WSC-Pflanzen. Beim Zeitraum Aufgang bis Bestockung zeigen die Mittelwerte, dass die BC1-Pflanzen (38 Tage) mit den WSC-Pflanzen (40 Tage) signifikant langsamer bestockten als die WD-Pflanzen (33 Tage). Bei den BC1-Pflanzen war aber bezüglich des Bestockungszeitpunktes eine größere Variabilität erkennbar als bei den WSC-Pflanzen (Abbildung 12). Die einzelnen Höhenstufen bei der Erfassung des Längenwachstums wurden von den BC1-Pflanzen im Mittel immer als letztes erreicht, aber auch hier ist eine hohe Variabilität vorhanden.

Tabelle 16: Zeitraum von der Aussaat bis zum Aufgang und zur Bestockung bei verschiedenen WD- und WSC-Sorten; verschiedene Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Versuch Juwi6, LSD-Test, $p < 0,05$)

Art	Sorte	Aussaat bis Aufgang [Tage]	Art	Sorte	Aufgang bis Bestockung [Tage]
WSC	Laura	19 a	WSC	Laura	45 a
WSC	Barvital	18 a	WSC	Kolumbus	44 a
WD	Respect	17 ab	WSC	Cosmolit	42 a
WD	Hansi	16 bc	WSC	Barvital	41 ab
WSC	Pradel	15 cd	WSC	Preval	40 ab
WSC	Kolumbus	13 de	WD	Arabella	39 ab
WD	Niata	12 e	WSC	Pradel	37 abc
WD	Kabota	11 ef	WD	Aberavon	36 abc
WD	Aberavon	10 fg	WSC	Liherold	35 abc
WSC	Preval	9 gh	WD	Weigra	35 abc
WD	Arabella	9 gh	WD	Matiz	34 abc
WD	Marika	9 ghi	WD	Niata	34 abc
WD	Matiz	9 ghij	WD	Respect	34 abc
WSC	Liherold	9 ghij	WD	Hansi	34 abc
WSC	Cosmolit	8 hijk	WD	Animo	33 bc
WD	Weigra	8 hijk	WD	Ivana	33 bc
WD	Arolus	7 ijk	WD	Marika	32 c
WD	Animo	7 jk	WD	Arolus	32 c
WD	Ivana	7 jk	WD	Kabota	31 c
WD	Rodrigo	7 k	WD	Rodrigo	28 c

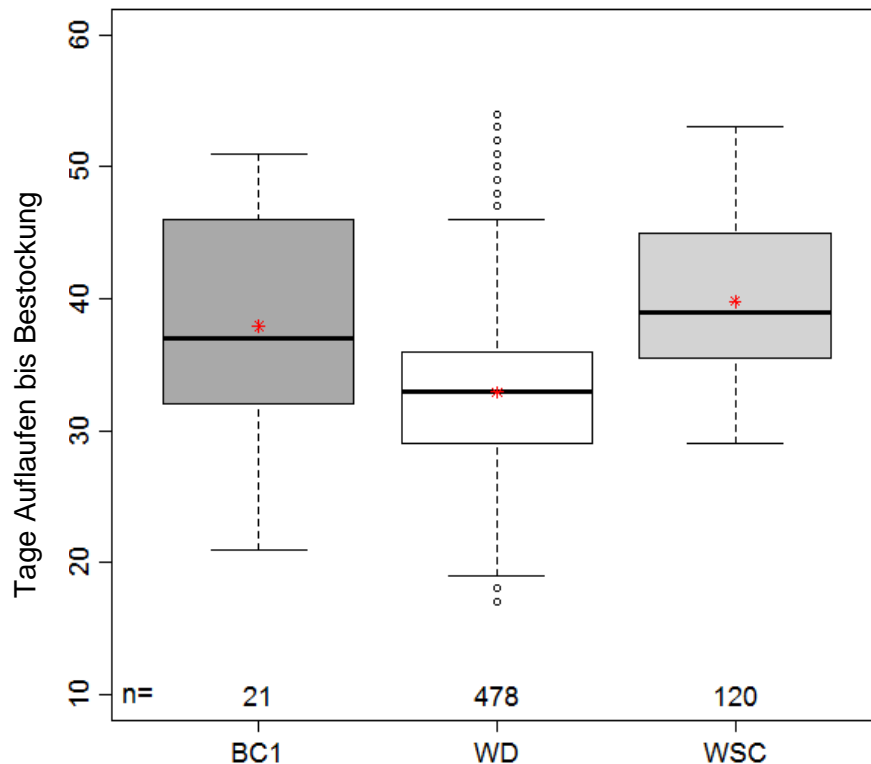


Abbildung 12: Vergleich von Deutschem Weidelgras (13 Sorten) und Wiesenschwingel (7 Sorten) mit den verifizierten BC1-Pflanzen bezüglich des Zeitraums Auflaufen bis Bestockung (Versuch Juwi6) *

* Sternchen geben die Mittelwerte an.

5.2.5. Prüfung potentieller Rückkreuzungen aus der Samenernte des Jahres 2013 aus der Pflanzung zur Samenernte der Kreuzungen 2011 (Juwi7)

In diesem Versuch wurden drei WD-Sorten (Var_WD_Ivana, Var_WD_Weigra, Var_WD_Arabella) und zwei WSC-Sorten (Var_WSC_Pradel und Var_WSC_Cosmolit) aus dem Jahr 2009 untersucht und dienten vornehmlich als Referenz für das Saatgut von 151 Kr2011Pu-Pflanzen aus der Samenernte 2013. Von insgesamt 302 Pflanzen wurde Saatgut geerntet. Aufgrund des Platzbedarfs wurde nach Mutterpflanzen randomisiert und das Saatgut auf die Anlagen Juwi7 und Juwi8 verteilt.

Das Auflaufen dauerte bei Var_WSC_Pradel signifikant am längsten. Die Mittelwerte betragen für Var_WSC_Pradel 14 Tage, für Var_WSC_Cosmolit 8 Tage, für Var_WD_Arabella, Var_WD_Ivana und Var_WD_Weigra 8 Tage. Beim Wachstum bis zu WH1 waren die WD-Sorten Var_WD_Ivana (2 Tage) und Var_WD_Weigra (3 Tage) am schnellsten, während Var_WD_Arabella (3 Tage) und Var_WSC_Cosmolit (4 Tage) immer noch signifikant schneller waren als Var_WSC_Pradel (8 Tage). Var_WD_Arabella und Var_WSC_Cosmolit waren diesbezüglich nicht verschieden. Beim

Erreichen der WH2 unterschieden sich wiederum Var_WD_Weigra und Var_WD_Ivana (6 und 5 Tage) signifikant von den übrigen Prüfgliedern.

Vom Auflaufen bis zur Bestockung entwickelte sich Var_WD_Ivana (18 Tage) und Var_WD_Weigra (19 Tage) signifikant schneller als Var_WSC_Cosmolit (21 Tage). Var_WSC_Pradel bestockte ebenso schnell wie die WD-Prüfglieder. Viele Versuchsglieder zeigten jedoch während der Versuchslaufzeit noch keine Bestockung, so dass dieses Merkmal auch nicht durchgehend erfasst werden konnte. Betrachtet man die Keimfähigkeit von Var_WSC_Pradel (38,4 %) und das Längenwachstum zu WH4 (Mittelwert 19 Tage) im Vergleich zum Längenwachstum von Var_WSC_Cosmolit (Mittelwert 15 Tage) so wurde ersichtlich, dass es sich hier offenbar um eine Charge mit schlechter Saatgutqualität gehandelt hat. Betrachtet man nur den Zeitraum vom Aufgang bis zur Bestockung war das so jedoch nicht mehr erkennbar.

Die WD- und WSC-Sorten dienten zur weiteren Absicherung der Methodik und als Referenz für das Saatgut der Hälfte der Pflanzen die in Kr2011Pu im Jahr 2013 beerntet worden waren. Wie oben beschrieben konnte aus Platzgründen nicht das komplette Saatgut in einem Versuch beobachtet werden. Die andere Hälfte des Saatguts wurde in Juwi8 (Kap. 5.2.6) untersucht. Es handelte sich um Erntegut von 119 F1- und 32 BC1-Pflanzen. Das Saatgut sollte hinsichtlich Keimfähigkeit, Anteil der Pflanzen, die Rückkreuzungen mit WSC waren und dann auf ihre Jugendentwicklung hin untersucht werden. Ziel war die Detektion von Rückkreuzungen mit vergleichbarer Jugendentwicklung wie WD, um diese Pflanzen für weitere Züchtungsschritte selektieren zu können.

Mit Hilfe von SSR-Markern konnten von 112 getesteten vermeintlichen Rückkreuzungspflanzen fünf als BC1 verifiziert werden, von den 36 potentiellen BC2-Pflanzen jedoch keine. Insgesamt waren in dieser Versuchsreihe 4.294 Pflanzen aufgegangen, weshalb aus Kapazitätsgründen des DNA-Labors nicht alle Pflanzen mit Markern überprüft werden konnten. Jedoch konnte anhand der durchgeführten Markeranalysen festgestellt werden, dass zwischen dem im Labor ermittelten genetischen Status und der phänotypischen Ausprägung der Blattanlagen (jüngstes Blatt gefaltet wie bei WD, jüngstes Blatt gerollt wie bei WSC) eine hohe Korrelation bestand (Kap. 4 Genetische Verifizierung der Kreuzungsprodukte). Aus diesem Grund wurden die restlichen Pflanzen phänotypisch selektiert und Pflanzen, deren jüngste Blätter gerollt waren, wurden als erfolgreiche Rückkreuzung gewertet.

Im Mittel liefen die BC1- und BC2-Pflanzen mit gerollten Blattanlagen schneller auf als die zum Vergleich mitgetesteten WD- und WSC-Vergleichssorten (Abbildung 13). Die WD-Pflanzen erreichten alle erfassten WH-Stufen am schnellsten, Wiesenschwingel zeigte im Versuch im Mittel das langsamste Wachstum, die BC1- und BC2-Pflanzen zeigten sich intermediär.

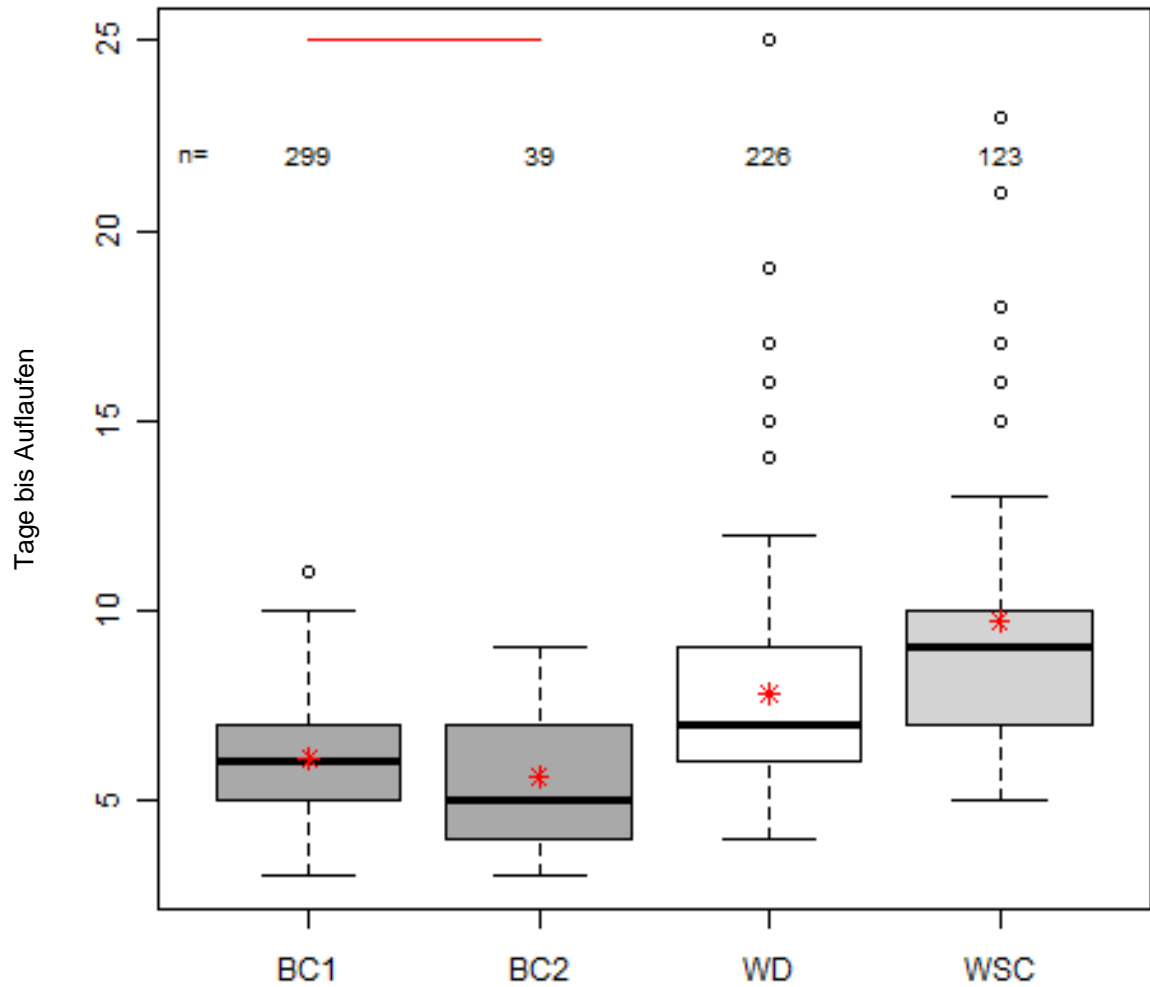


Abbildung 13: Vergleich der BC1- und BC2-Pflanzen mit gerollten Blattanlagen mit WD- und WSC-Sorten bezüglich des Zeitraums Aussaat bis Auflaufen (Versuch Juwi7, LSD-Test, $p < 0,05$)*

* Sternchen geben die Mittelwerte an. Boxplots unter den gleichen horizontalen Linien sind nicht signifikant verschieden.

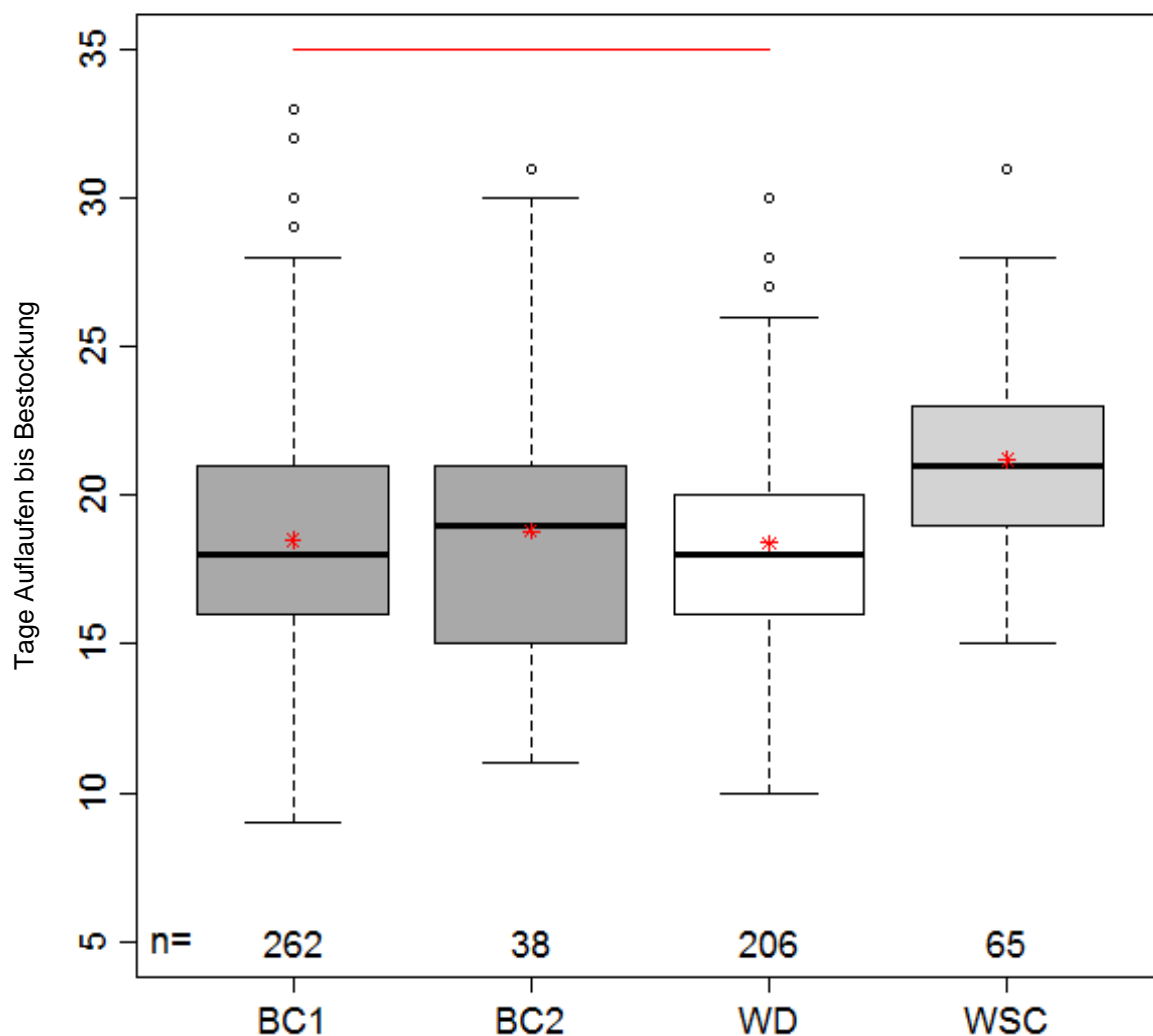


Abbildung 14: Vergleich der BC1- und BC2-Pflanzen mit gerollten Blattanlagen mit WD und WSC bezüglich Zeitraum Auflaufen bis zur Bestockung (Versuch Juwi7, LSD-Test, $p < 0,05$)*

* Sternchen geben die Mittelwerte an. Boxplots unter den gleichen horizontalen Linien sind nicht signifikant verschieden.

Die Abbildung 14 zeigt, dass die BC1- und BC2-Pflanzen bezüglich des Zeitraums Auflaufen bis Bestockung von den WD-Pflanzen nicht signifikant verschieden waren. Die WSC-Pflanzen waren signifikant langsamer. Die Anzahl derjenigen WSC-Pflanzen bei denen die Bestockung bonitiert werden konnte war wesentlich kleiner (65), als die der Pflanzen, die insgesamt aufgelaufen waren (123). Solche gravierenden Unterschiede waren bei den BC1- und BC2-Pflanzen nicht vorhanden. Hinzu kommt, dass die BC1- und BC2-Pflanzen eine höhere Variabilität aufwiesen als die WSC-Pflanzen (Abbildung 15). Die Ergebnisse zeigen, dass anhand der Kreuzung von WD mit WSC die Variabilität erhöht werden konnte. Durch den höheren WSC-Genomanteil in den BC2-Pflanzen entwickelten sich diese tendenziell wieder etwas langsamer als die BC1-Pflanzen. Zu den schnellsten Pflanzen gehörten sowohl BC1(WSC_PX), BC1(WD_Iduna) als auch

BC2(WD_Lipresso). Es traten mithin in den verschiedenen Familien jeweils einzelne Pflanzen auf, die eine schnelle Bestockung zeigten und daher für weitere Rückkreuzungsschritte prädestiniert waren.

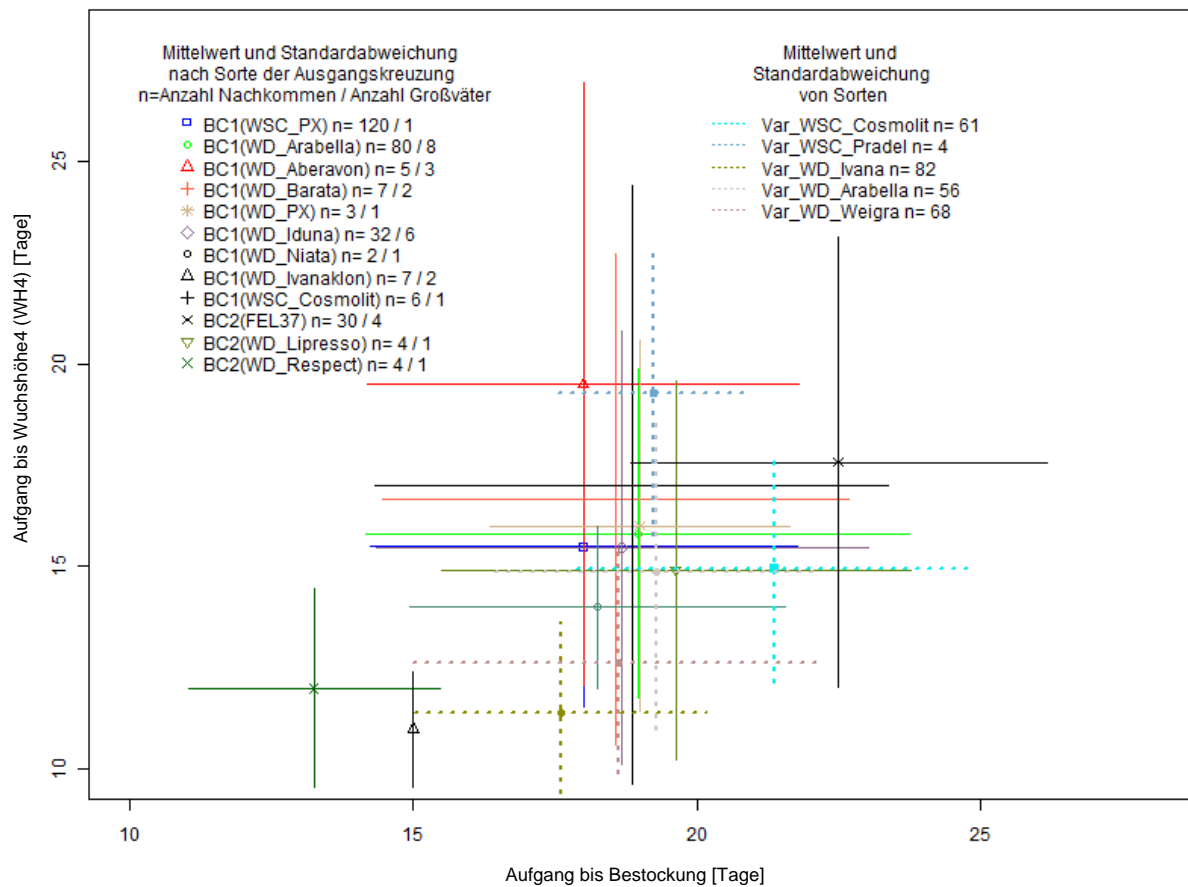


Abbildung 15: Aufgang bis WH4 und Aufgang bis Bestockung aller Familien mit gerollten Blattanlagen im Vergleich zu den getesteten WD und WSC-Sorten (Versuch Juwi 7)

5.2.6. Einfluss der Saatgutqualität auf Merkmale der Jugendentwicklung (Juwi8)

In diesem Experiment sollte der Einfluss der Saatgutqualität in Form des Tausendkorngewichts (TKG) auf Merkmale der Jugendentwicklung untersucht werden. Saatgut der untersuchten Sorten wurde mit Hilfe eines Lochsiebs (Lochbreite 1,3 mm) in zwei Fraktionen unterschiedlicher Korngröße unterteilt und jeweils das TKG bestimmt (Tabelle 17). Insgesamt hatte die kleinere Fraktion von Var_WSC_Cosima2012 das geringste TKG im Vergleich zu den anderen Prüfgliedern.

Tabelle 17: Durchschnittliches Tausendkorngewicht (TKG) der Prüfglieder des Sortenversuchs Juwi8

Name	TKG Ø [g]
Var_WSC_Cosima2012groß	1,71
Var_WSC_Cosima2012klein	1,35
Var_WSC_Cosmolit2009 Gesamtmuster	2,00
Var_WSC_Cosmolit2012/2groß	2,25
Var_WSC_Cosmolit2012/2klein	1,66
Var_WD_Ivana2009 Gesamtmuster	1,90
Var_WD_Ivana2010/1groß	2,46
Var_WD_Ivana2010/1klein	1,88
Var_WD_Weigra2008groß	2,10
Var_WD_Weigra2008klein	1,65

Die unseparierten Varianten Var_WD_Ivana2009 und Var_WSC_Cosmolit2009 hatten ähnliche Auflaufzeiten (Mittel 9 Tage), während die anderen Prüfglieder alle signifikant schneller aufgingen (6–7 Tage). Obwohl zum Zeitpunkt des Experiments die Prüfglieder Var_WD_Ivana2009 und Var_WSC_Cosmolit2009 noch nicht so lange gelagert worden waren wie die Var_WD_Weigra Prüfglieder, liefen letztere schneller auf.

Die Höhe des TKGs schien nur eine marginale Auswirkung auf den Zeitraum Aussaat bis Aufgang zu haben. Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen TKG „groß“ (Mittelwert 6 Tage) und „klein“ (Mittelwert 6 Tage) festgestellt. Lediglich die unseparierten Varianten (Mittelwert 9 Tage) liefen signifikant langsamer auf, wobei dieser Umstand auf das unterschiedliche Alter des Saatgutes zurückzuführen ist (Abbildung 16). Die Entwicklung von Auflaufen bis Beginn der Bestockung durchliefen alle WD-Varianten (Mittelwert 25 Tage) schneller als die WSC-Varianten (Mittelwert 38 Tage). Es gab WSC Prüfglieder, die ebenso schnell bestockten, wie WD Prüfglieder. Die Varianten mit höherem TKG bestockten im Mittel in kürzerer Zeit (groß: 28 Tage, klein: 33 Tage), allerdings waren die Unterschiede nicht signifikant.

Bei der Dauer zwischen Auflaufen und den verschiedenen Wuchshöhen erreichten die Varianten mit großem TKG (3 Tage) WH1 vor den unseparierten und dem „kleinen“ TKG (4 Tage). Auch die verschiedenen Wuchshöhenstufen wurden jeweils von den Varianten mit großem TKG vor den Varianten mit kleinem TKG erreicht (Tabelle 18).

Bezüglich der Wachstumsgeschwindigkeit konnte für alle vier erfassten Pflanzenhöhen ein Einfluss des TKGs nachgewiesen werden (Tabelle 18). Teilweise gab es Überlappungen: Var_WSC_Cosmolit2012/2groß bestockte ebenso schnell wie die meisten WD-Prüfglieder. Beim Erreichen der WH3 unterschieden sich die WD- und WSC-Prüfglieder signifikant. Var_WSC_Cosima2012klein zeigte stets das langsamste Längenwachstum.

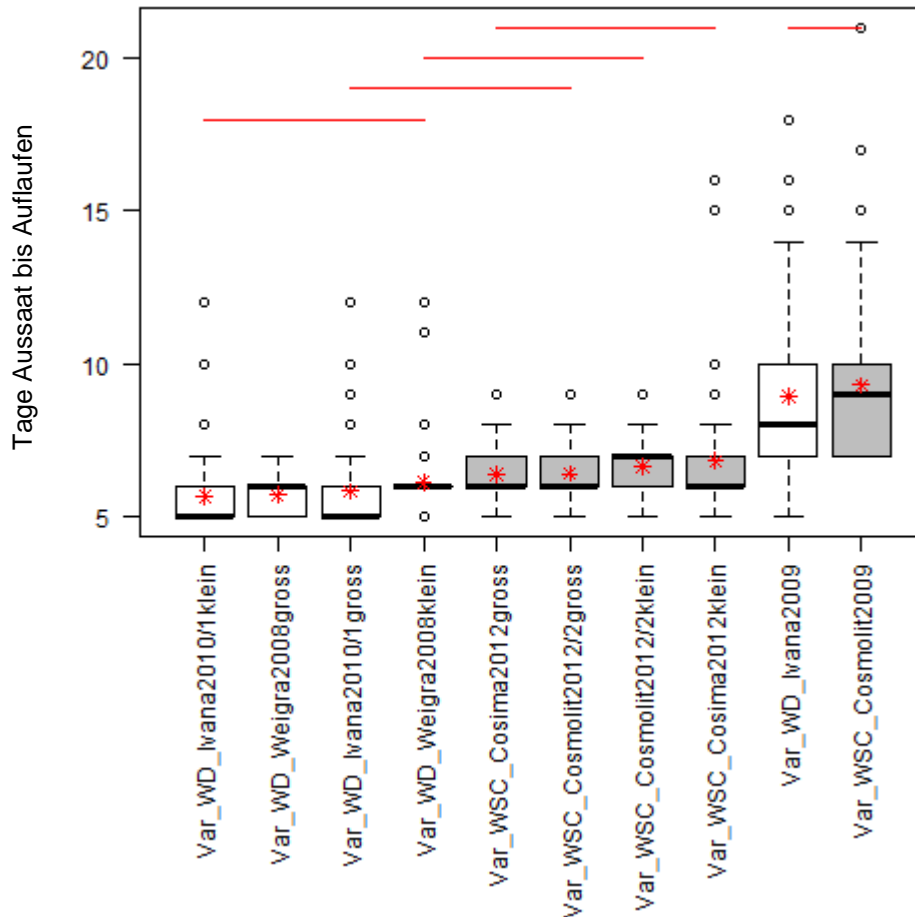


Abbildung 16: Zeitraum von der Aussaat bis zum Auflaufen der WD- und WSC-Sorten unterschiedlichen Alters bei zwei TKG Stufen (Versuch Juwi8)*

* Boxplots unter den gleichen horizontalen Balken sind nicht signifikant verschieden (ANOVA, LSD-Test, $p < 0,05$).

Tabelle 18: Einfluss des TKGs auf die Wachstumsgeschwindigkeit (Tage), ausgedrückt in unterschiedlicher Wuchshöhe (Juwi8)

	WH1 [Tage]	WH2 [Tage]	WH3 [Tage]	WH4 [Tage]
WSC_klein	5	10	15	19
WSC_groß	4	8	13	17
WD_klein	3	7	12	15
WD_groß	3	6	11	13

WH1-4 = Wachstumsstufen 3, 6, 10, 14 cm

Neben den Sorten wurde in diesem Versuch auch die zweite Charge des Erntegutes von Kr2011Pu Erntejahr 2013 getestet; es handelte sich um das Erntegut von 120 F1- und 31 BC1-Pflanzen (Charge 1 siehe Kap. 5.2.5 Prüfung potentieller Rückkreuzungen aus der Samenernte des Jahres 2013 aus der Pflanzung zur Samenernte der Kreuzungen 2011 (Juwi7); Seite 45). Die phänotypische Selektion auf erfolgreiche

Kreuzungsnachkommen in BC1 und BC2 wurde analog zu Juwi7 anhand gerollter Blattanlagen durchgeführt.

Zwischen den verschiedenen Prüfglieder gab es bei diesem Versuch kaum Unterschiede bezüglich der Dauer bis zum Auflaufen (Abbildung 17). Die Zeitspanne vom Auflaufen bis WH4 war bei den BC1-Pflanzen signifikant am längsten (Mittelwert 20 Tage), während WD am schnellsten wuchs (Mittelwert 14 Tage). WSC war um ca. 3 Tage langsamer und die BC2-Pflanzen noch einmal ca. 2 Tage (Abbildung 18). Vom Aufgang bis zur Bestockung dauerte es 25 (Mittelwert WD) bis 38 Tage (Mittelwert WSC). Die BC-Generationen zeigten eine intermediäre Bestockungszeit. Signifikanzen konnten aufgrund von Blockunterschieden nicht identifiziert werden. Eine hohe Variation innerhalb der einzelnen Familien (Aufteilung nach Mutter-Sorte, die für die Initialkreuzung verwendet wurde; die Anzahl Großväter repräsentiert die verschiedenen Pollenspender-Genotypen) führte zu keinen signifikanten Unterschieden zwischen den Familien. Dies bestätigte die vorhergehenden Versuche und zeigt gleichzeitig, dass durch die Artkreuzungen eine große Variation geschaffen wurde, die eine sehr gute Basis für weitere Selektionen darstellt (Abbildung 19).

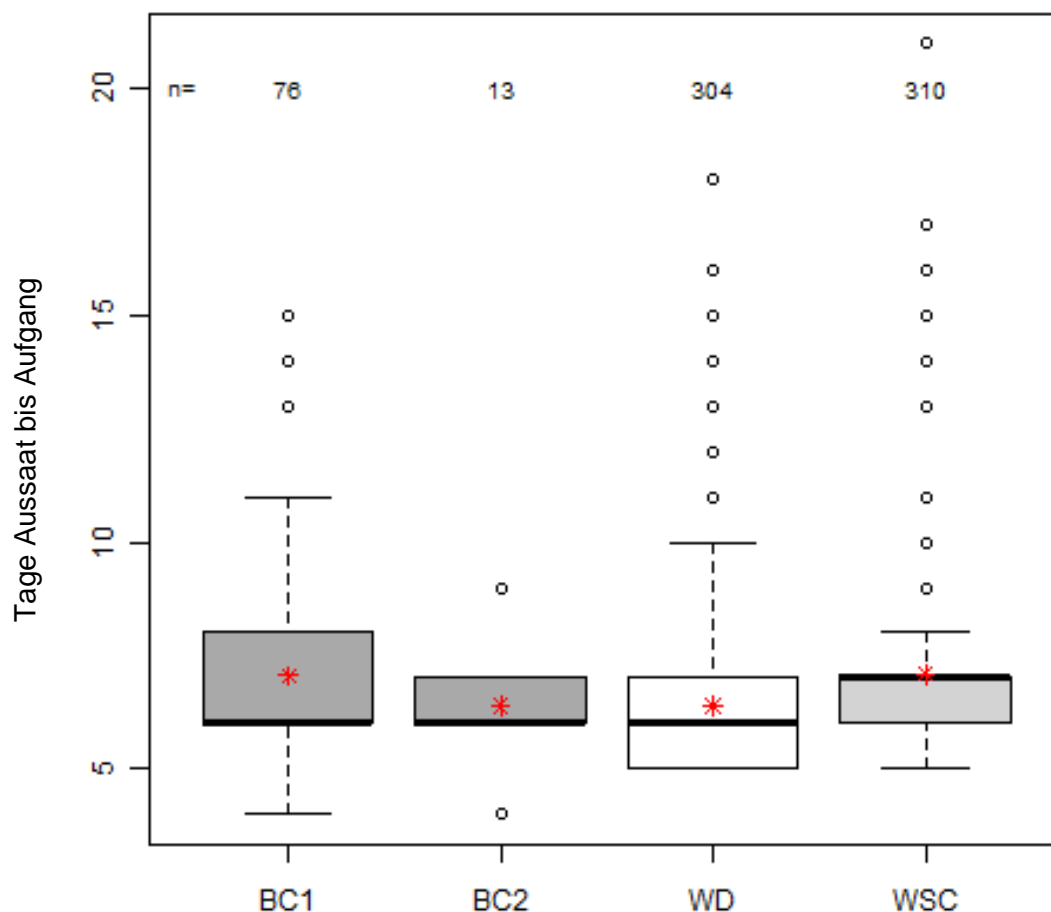


Abbildung 17: Vergleich des Zeitraums Aussaat bis Aufgang von WD, WSC, BC1 und BC2 (Versuch Juwi8)*

* Sternchen kennzeichnen den Mittelwert

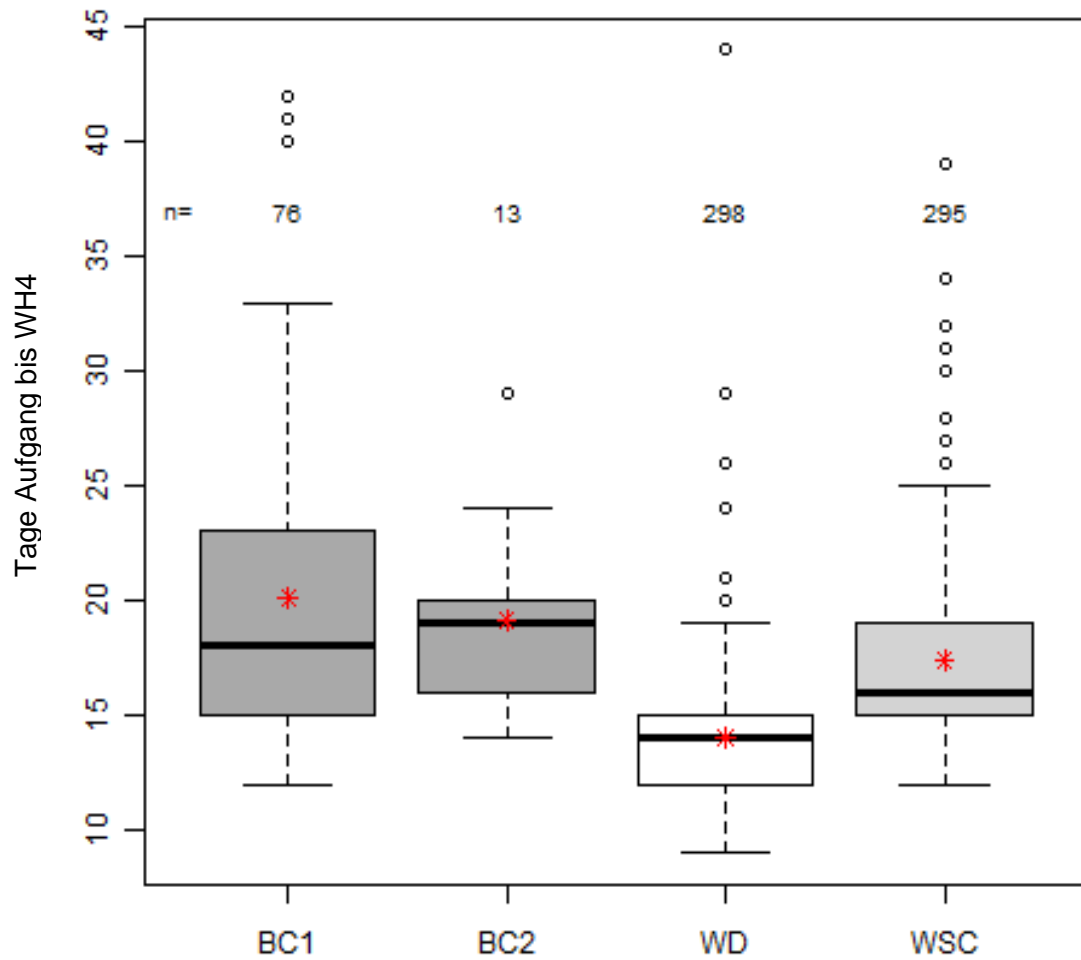


Abbildung 18: Vergleich des Zeitraums Aufgang bis WH4 von WD, WSC, BC1 und BC2 (Versuch Juwi8)*

* Sternchen kennzeichnen den Mittelwert

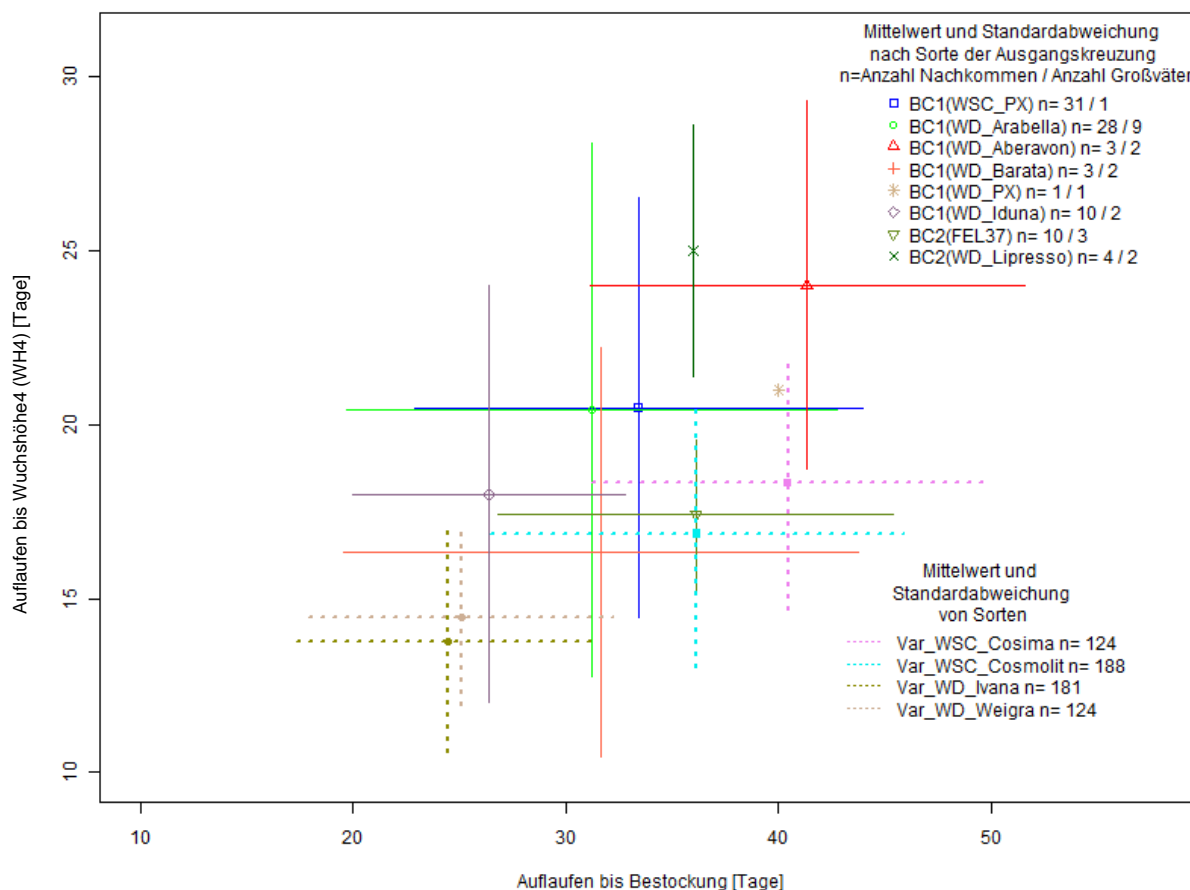


Abbildung 19: Korrelation zwischen der Zeit vom Auflaufen bis WH4 und vom Aufgang bis zur Bestockung; Pflanzen mit gerollten Blattanlagen aufgeteilt nach Familien im Vergleich zu WD- und WSC-Sorten (Versuch Juwi 8)

Bei diesem Versuch wurde im Frühjahr 2015 die Frischmasse nach dem dritten Schnitt erfasst. Wurden alle aufgelaufenen Pflanzen mit einbezogen, so zeigte sich immer eine signifikante negative Korrelation ($p < 0,05$) zwischen Frischmasse und den Parametern Aussaat bis Auflaufen, Auflaufen bis WH4 und Aufgang bis Bestockung. Die engste Korrelation bestand zwischen Frischmasse und Auflaufen bis WH4 ($r = -0,3$).

Wurden nur die gerollten Nachkommen untersucht, so konnte kein Zusammenhang zwischen Aussaat bis Aufgang und der Frischmasse festgestellt werden. Die Zeit vom Auflaufen bis zur Bestockung war negativ mit dem Frischmasseertrag korreliert ($r = -0,27$). Die Korrelationen des Längenwachstums (Auflaufen bis WH4 $r = -0,42$; Abbildung 20) und der Frischmasse waren enger, als beim Vergleich aller Nachkommen.

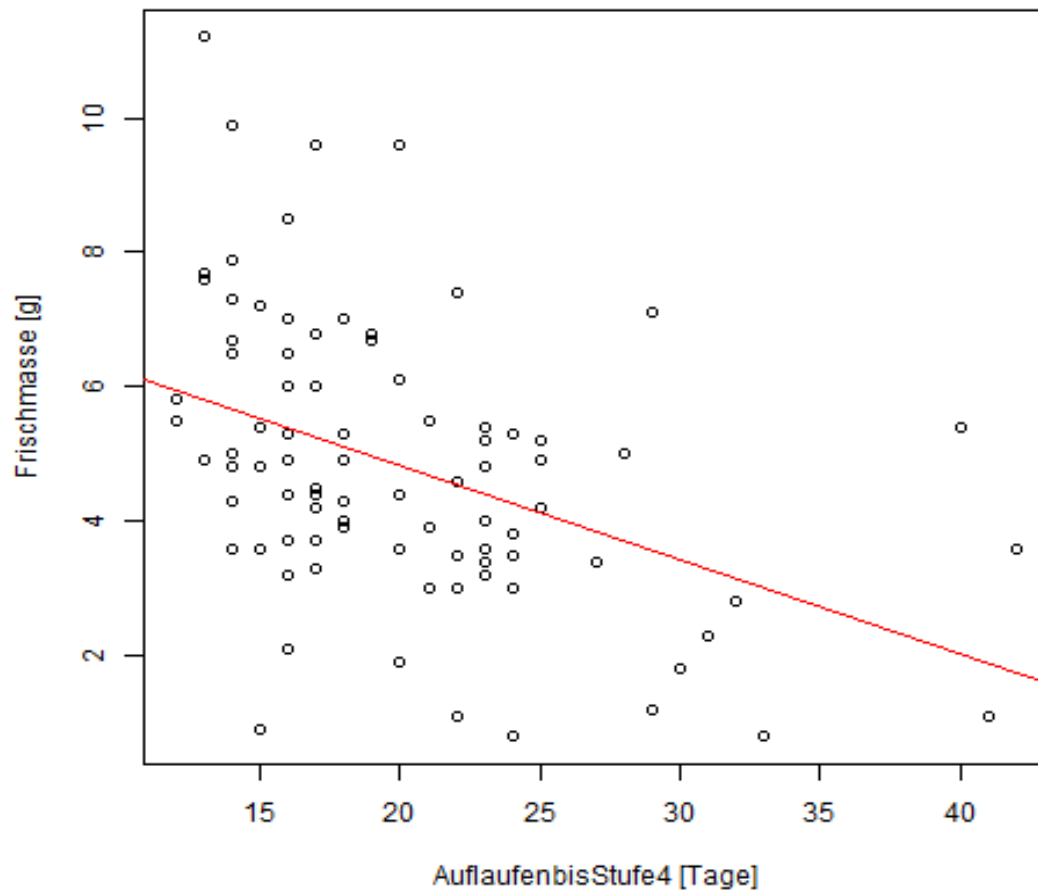


Abbildung 20: Korrelation ($r = -0,42$) zwischen der Frischmasse (g) und dem Zeitraum vom Auflaufen bis WH4 aller Nachkommen mit gerollten Blattanlagen (Versuch Juwi8, $p < 0,05$)

In den Versuchen Juwi7 und Juwi8 wurde zum Zwecke der Vergleichbarkeit das gleiche Saatgut für die Prüfglieder Var_WD_Ivana2009 und Var_WSC_Cosmolit2009 verwendet. Die Tabelle 17 zeigt die drei wichtigsten Merkmale in Juwi7 und Juwi8. In beiden Versuchen blieb die Reihenfolge des Aufgangs der Pflanzen gleich, ebenso beim Merkmal Auflaufen bis WH4 und Auflaufen bis Bestockung. Die Pflanzen benötigten aber in Juwi8 (Gesamtmittelwert: 32 Tage) länger bis zur Bestockung als im Falle von Juwi7 (Gesamtmittelwert: 19 Tage). Dies könnte verschiedene Gründe haben: Der Versuch Juwi8 lief vom 13.10.2014 bis 10.12.2014, während Juwi7 bereits im Sommer bis Spätsommer (30.07.–08.09.2014) durchgeführt wurde. Wie in Juwi4 ersichtlich wurde, konnte bei höherer Außentemperatur die angestrebte Gewächshaustemperatur nicht immer gehalten werden, was allgemein eine schnellere Entwicklung begünstigte. Einen Einfluss könnte auch das Außenlicht gehabt haben: Die Pflanzen wurden zwar gleich lang beleuchtet, aber das Lichtangebot war in den Sommermonaten durch das zusätzliche natürliche Sonnenlicht wesentlich größer. Trotzdem blieben bei dem

Vergleich der beiden Versuchsserien die Abstufungen zwischen den Materialgruppen stets gleich, was darauf hinweist, dass die Ergebnisse ggf. auch bei unterschiedlichen Umweltbedingungen reproduziert werden können.

Tabelle 19: Vergleich der Leistung der BC1- und BC2-Pflanzen mit den Standards in den Versuchen Juwi7 und Juwi8*

	Juwi7		n	Juwi8		n
Prüfglied	Aussaat	bis		Aussaat	bis	
	Auflaufen **			Auflaufen		
Var_WSC_Cosmolit2009	8 a		85	9 a		59
Var_WD_Ivana2009	8 a		85	9 a		54
BC1	6 b		299	7 b		76
BC2	6 b		39	6 b		13
Prüfglied	Auflaufen	bis		Auflaufen	bis	
	Bestockung			Bestockung		
Var_WSC_Cosmolit2009	21 a		61	36 a		45
Var_WD_Ivana2009	18 b		83	26 b		44
BC1	19 b		262	32 ab		62
BC2	19 b		38	36 a		12
Prüfglied	Auflaufen	bis		Auflaufen	bis	
	WH4			WH4		
Var_WSC_Cosmolit2009	15 a		78	17 ab		58
Var_WD_Ivana2009	11 b		85	14 b		54
BC1	16 a		292	20 a		76
BC2	15 a		39	19 a		13

* ANOVA und LSD-Test, $p < 0,05$. ** signifikante Wechselwirkung zwischen Pflanzenart und Block

5.3. Diskussion

Wie gemäß allgemeiner Erfahrung in der Saatgutuntersuchung zu erwarten war, wurde die Zeitdauer „Aussaat bis Aufgang“ neben der Pflanzenart vornehmlich vom Alter des Saatgutes bestimmt. Je länger das Saatgut bei Raumtemperatur gelagert wurde, umso mehr verzögerte sich das Auflaufen. Dabei nahm die Varianz mit steigendem Alter sehr stark zu. Für eine Konservierung über längere Zeit ist daher eine Lagerung bei -20 °C zu empfehlen. Wie an einer getesteten Probe zu sehen war, wurde bei Tiefkühlagerung kaum ein negativer Effekt auf die Auflaufgeschwindigkeit festgestellt. Dagegen hatte das TKG in den hier vorgestellten Versuchen wenig Einfluss auf die Auflaufgeschwindigkeit. Das Einzelkorngewicht, das durch Sorten- und Jahreseffekte sowie durch pflanzenbauliche Maßnahmen variieren kann, hatte in anderen Versuchen Einfluss auf

die Keimfähigkeit von tetraploidem *L. multiflorum*. Zudem wurden in den ersten vier Entwicklungswochen Einflüsse auf Sproß- und Wurzelmasse beobachtet (Hampton, 1986).

Im vorliegenden Versuch hatte das TKG einen Einfluss auf die Jugendentwicklung nach dem Auflaufen. Ein höheres TKG beeinflusst das Wachstum in der Jugendphase tendenziell positiv, während ein kleines TKG generell mit einer schlechteren Jugendentwicklung verbunden ist. Ursächlich dafür dürfte die bessere Verfügbarkeit von Nährstoffen für die Jungpflanze sein. Dass dieser Effekt bei Aufgang der Pflanzen noch nicht erkennbar war, lag vermutlich an dem allgemein zügigen Auflaufen und damit zu großen zeitlichen Abständen zwischen den Beobachtungen.

Die Temperatur hatte einen starken Einfluss auf den Zeitraum Aussaat – Aufgang und das Längenwachstum. Andere Untersuchungen zeigten, dass sowohl Keimdauer als auch Längenwachstum verschiedener landwirtschaftlicher Kulturen (u. a. Deutsches Weidelgras) von der Temperatur beeinflusst wurden (Robson, 1974; Peacock, 1975; Angus et al., 1980; Ferris et al., 1996). Der Beginn der Bestockung schien im vorliegenden Versuch relativ temperaturunabhängig zu sein. Da allein beim Merkmal Aufgang – Bestockung kein signifikanter Temperatureffekt vorhanden war, kann dieses Merkmal in dem betrachteten Temperaturbereich als temperaturunabhängig angesehen werden. Jedoch konnten aufgrund der klimatischen Gegebenheiten die angestrebten kühlen Bedingungen von 9 °C zum Auflaufzeitpunkt nicht eingehalten werden. Wie Mozafar & Oertli (1992) berichteten, bildeten sich bei Gerste bei Temperaturen zwischen 15 und 20 °C die meisten Bestockungstriebe und die höchste Trockenmasse. Höhere und niedrigere Temperaturen führten zu einer geringeren Anzahl an Bestockungstrieben. Um ein optimales Pflanzenwachstum zu gewährleisten sind daher moderate Temperaturen bei der Anzucht zu bevorzugen.

Bei der Bewertung gesunder Pflanzen bezüglich ihrer Jugendentwicklung ist folglich die kombinierte Betrachtung von Längenwachstum und Bestockung zur Differenzierung der Genotypen sinnvoll. Eine klare Differenzierung zwischen den beiden Grasarten über mehrere Sorten war nicht möglich. Es gab durchaus WSC-Prüfglieder die ebenso schnell aufliefen wie WD-Prüfglieder, so dass auch bezüglich der Kreuzungsprodukte ggf. keine eindeutige Differenzierung und Selektion möglich ist. Im Mittel zeigten die WD-Sorten allerdings ein schnelleres Wachstum. Es ist bekannt, dass die Neigung zur Bestockung innerhalb des Deutschen Weidelgrases stark variiert, nicht nur bei Rasen- sondern auch bei Futtertypen. Grund hierfür könnte sein, dass manche Genotypen den ersten Bestockungstrieb sehr schnell bilden, während andere später bestocken, dafür aber mehr Triebe über einen längeren Zeitraum bilden. Das erklärt die festgestellte hohe Sorten-Varianz (Van Minnebruggen et al., 2014). Die Blattlänge dürfte bei WD-Populationen Einfluss auf die Vielschnittverträglichkeit haben. Populationen, die auf längere Blätter hin selektiert worden waren, bildeten bei Untersuchungen mit häufigem Schnitt mehr Trockenmasse (Hazard et al., 1996).

Versuche zur Jugendentwicklung sollten unter moderaten Temperaturen stattfinden; in den durchgeführten Versuchen: 18/16°C (Tag/Nacht). Zu warme Umgebungstemperatur verursacht ein zu schnelles Wachstum der Pflanzen und die Unterschiede zwischen den Sorten/Genotypen können dann visuell nicht mehr erfasst werden, bzw. die zeitlichen Abstände zwischen den Boniturterminen müssen verringert werden, um Unterschiede feststellen zu können. Eventuell wäre die Gewächshaustemperatur in den Sommermonaten nach Möglichkeit weiter zu reduzieren, was aber hier aufgrund hoher Außentemperaturen und starker Sonneneinstrahlung nicht möglich war. Ein Vergleich der Versuche Juwi7 und Juwi8 zeigt, dass die Sonneneinstrahlung die Bestockung und damit die gesamte Versuchsdauer beeinflussen kann (Tabelle 19). Die Abstufungen zwischen den Prüfgliedern blieb aber insgesamt erhalten. Absolute Vergleiche zwischen den einzelnen Prüfgliedern in verschiedenen Versuchen sind daher schwierig und sollten immer die Jahreszeit der Versuchsdurchführung mitberücksichtigen. Zudem sind zur Orientierung in jedem Versuch Referenzsorten mit zu prüfen. Die Auswertung der Versuche mit den BC1- und BC2-Nachkommenschaften wurde durch die sehr unterschiedliche Pflanzenanzahl pro Mutterpflanze beeinträchtigt. Bei Mutterpflanzen mit vielen Nachkommen und verifizierten BC-Nachkommen wiesen die Nachkommen wie erwartet eine sehr hohe Variabilität auf. Die Nachkommenschaften spalteten erwartungsgemäß stark auf. Es gab zwar signifikante Unterschiede zwischen den Nachkommenschaften einzelnen Mutterpflanzen, dies kann aber aufgrund der variierenden Pflanzenzahl nur als Tendenz gewertet werden. Da die Nachkommenschaften Nk(F1WD_Arabella) und Nk(F1WSC_PX) am größten waren und auch eine ausreichende Varianz aufwiesen, war die Wahrscheinlichkeit innerhalb dieser Populationen Pflanzen mit rascher Jugendentwicklung zu finden, am größten. Die vorliegenden Ergebnisse belegen, dass die Varianz für die Merkmale Bestockung und auch Längenwachstum durch die Hybridisierung WD x WSC im Vergleich zu den WSC-Sorten erhöht werden konnte. Damit wurden die Selektionsmöglichkeiten auf schnelle Jugendentwicklung verbessert. Die Erfassung des Frischmasseertrags in Juwi8 bestätigte die Korrelation zwischen dem Massenwachstum und den Zeitraum Aufgang bis Stadium WH4 bzw. bis zur Bestockung.

6. Wurzelwachstum

Ein ausgeprägtes Wurzelwachstum wirkt sich auch bei Gräsern positiv auf die Trockenstresstoleranz aus. Tiefreichende Wurzeln können beispielsweise bei Trockenperioden Wasser in tieferen Bodenschichten erreichen und auf diese Weise das Auftreten von Wachstumsdepressionen vermeiden. Von Schwingelarten ist bekannt, dass deren Wurzelsystem tiefer in den Boden eindringt, als das Wurzelsystem von Weidelgräsern (zusammengefasst bei Borstel et al., 2008; Durand et al., 2007). Aus diesem Grund gilt Weidelgras als trockenanfälliger. Ziel der Versuche zum Wurzelwachstum war daher, zu überprüfen, welche Auswirkungen die Introgression von WD-Genomanteilen auf die Ausbildung des Wurzelsystems hat und diese ggf. in sonst verbesserten Wiesenschwingel zu einer höheren Trockenstressanfälligkeit verursacht durch eine insgesamt geringere Wurzelmasse führen könnten.

6.1. Material und Methoden Versuch Wurzel2014

Zu Beginn der Wurzeluntersuchungen wurden mehrere Vorversuche durchgeführt, wobei der Arbeitsaufwand, die Zugänglichkeit des Wurzelsystems und die Praxistauglichkeit untersucht wurden. Mit der daraus resultierenden Methodik wurde schließlich in KW 51/2014 mit Sortenmaterial sowie Saatgut ausgewählter F1-Pflanzen ein Versuch angelegt und im Februar 2015 beendet.

Als Behälter für das Wurzelsubstrat dienten handelsübliche Plexiglas-Hohlkammerplatten (Höhe x Breite x Länge: 25,0 cm x 1,5 cm x 3,0 cm), die einerseits durch die Kammerstruktur bereits eine vorgegebene Unterteilung aufwiesen, zum anderen aufgrund der Transparenz des Materials eine direkte Beobachtung des Wurzelsystems zuließen. Das untere Ende wurde jeweils mit Steckziegeln, wie sie auch in der Floristik verwendet werden abgedichtet (Höhe ca. 5 cm). Die Hohlkammern wurden dann mit Substrat (schwarzer Zierkies Korngröße 1-3 mm) gefüllt. Vorteile des Zierkieses im Vergleich zu anderen Substraten waren die gute Auswaschbarkeit der Wurzeln, die visuelle Auswertbarkeit während der Wachstumsphase sowie das gute Wachstum der Pflanzen. Ausgesät wurde in eine dünne Schicht Pflanzerde, die als oberste Schicht auf dem Zierkies aufgebracht wurde. Als Nährlösung diente Murashige & Skoog Medium (Firma Duchefa nach Murashige & Skoog, 1962), wobei 10 Liter Wasser mit 44,06 g Murashige & Skoog Medium versetzt wurden. Diese Nährlösung wurde nach Bedarf zur Bewässerung der Pflanzen verwendet (Abbildung 21). Durch das direkte Aneinanderstellen der einzelnen Platten in einer Kunststoffkiste wurde der Lichteinfluss auf die Wurzelbildung minimiert.

Für den Versuch Wurzel2014 wurde Saatgut der Dt. Weidelgras-Sorte Ivana (Var_WD_Ivana) und den Wiesenschwingel-Sorten Cosima (Var_WSC_Cosima) und Cosmolit (Var_WSC_Cosmolit) sowie das Erntegut der F1-Pflanze F1Arabella2011-156 [Nk(F1Arabella2011-156)], das in Juwi7 (Kap. 5.2.5) die höchste Keimfähigkeit gezeigt

hat, verwendet. Die 13 Hohlkammerplatten waren in jeweils 10 Kammern unterteilt. Ziel war, dass je Prüfglied 26 Pflanzen für die Analysen zur Verfügung stehen sollten. Insgesamt standen 130 Pflanzen in dem komplett randomisierten Versuch.

Die Wurzel- und Sproßlänge wurde zu fünf Terminen erfasst (16.01.2015, 30.01.2015, 04.02.2015, 13.02.2015, 20.2.2015). An Termin 1 und Termin 3 wurden die Pflanzen außerdem auf eine Höhe von ca. 3,5 cm zurückgeschnitten und Frisch- und Trockenmasse des Schnittgutes bestimmt. Der Versuch wurde am 26.02.2015 (Termin 6) beendet, die Pflanzen aus dem Medium gezogen, Wurzel- und Sproßlänge erfasst, Sproß und Wurzel an der Sproßbasis getrennt und jeweils Frisch- und Trockenmasse bestimmt (Trocknung für 24 h bei 40 °C).

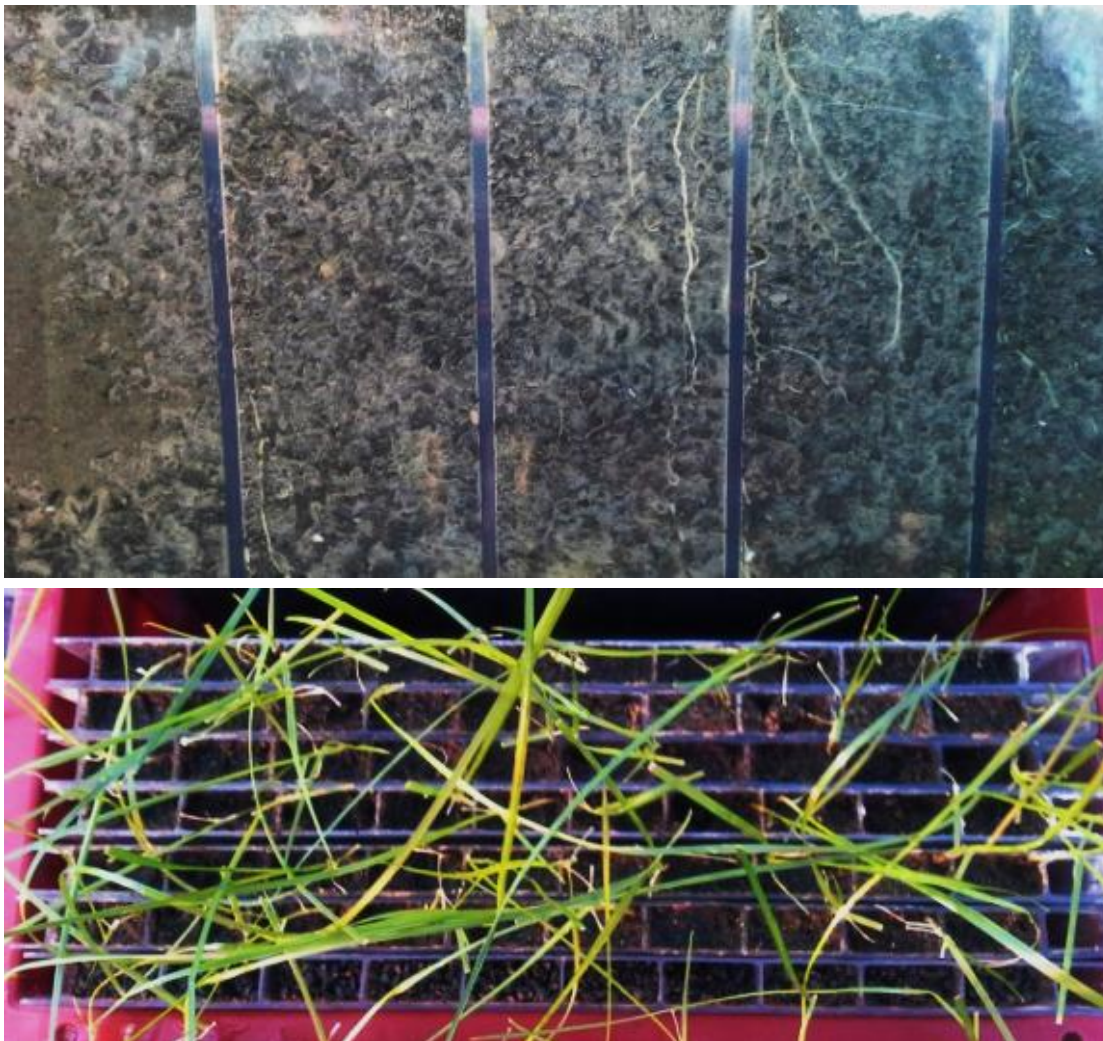


Abbildung 21: Plexiglas-Hohlkammerplatte; oben: Seitenansicht, sichtbare Wurzeln; unten: Kammern von oben (Versuch Wurzel2014)

6.2. Ergebnisse Versuch Wurzel2014

Ein Vergleich der beiden Grasarten WD und WSC mit der Nachkommenschaft Nk(F1Arabella2011-156) zeigt, dass die potentiellen BC1-Pflanzen zu Termin 1 im Mittel am meisten Frischmasse produzierten, während Wiesenschwingel (Var_WSC_Cosima und Var_WSC_Cosmolit zusammengefasst) zusammen im Mittel die geringste Blattmasse produzierte. Das Deutsche Weidelgras (Var_WD_Ivana und Var_WD_Arabella zusammengefasst) lag mit 17,9 mg im Durchschnitt zwischen den beiden Gruppen, unterschied sich jedoch von WSC und Nk(F1Arabella2011-156) signifikant. Bei der Erfassung der oberirdischen Biomasse zu Versuchsende lieferte WSC signifikant weniger Biomasse als WD und die Nk(F1Arabella2011-156) mit 169,5 mg; das ist kein signifikanter Unterschied zu WD. Bei Betrachtung der Trockenmasse blieb die Reihung gleich, wobei sich beim ersten Schnitt WD und WSC nicht signifikant voneinander unterschieden; die Nk(F1Arabella2011-156) erzielte 3,2 mg TM (Abbildung 22, Tabelle 36 Anhang). Ein Vergleich des Trockensubstanzgehalts (% TS) zeigte eine umgekehrte Reihenfolge. Wiesenschwingel hatte immer einen signifikant höheren TS-Gehalt als WD. Die Nk(F1Arabella2011-156) wies intermediäre TS-Gehalte auf, unterschied sich aber weder von WD noch von WSC signifikant (Tabelle 36 Anhang).

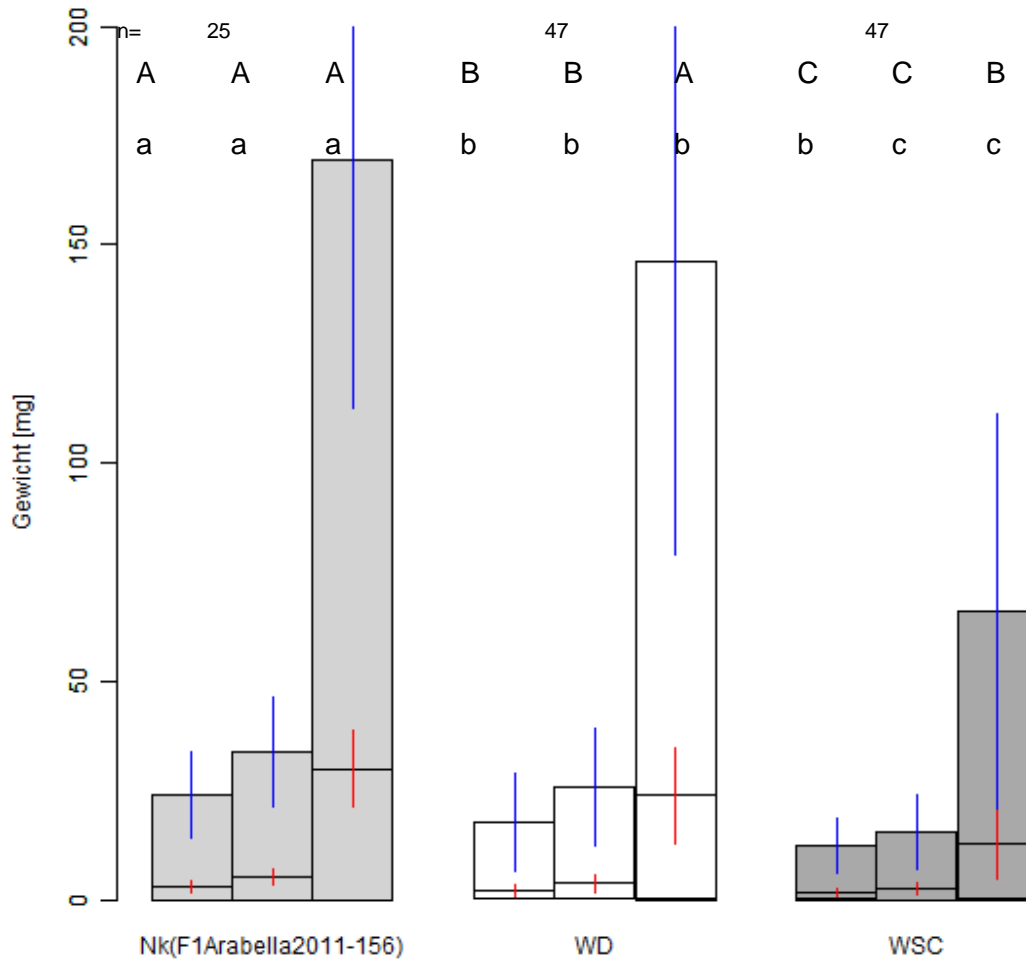


Abbildung 22: Mittelwerte der Frisch- und Trockenmasse der Blätter von Nk(F1Arabella2011-156), WD (Var_WD_Ivana und Var_WD_Arabella zusammengefasst) und WSC (Var_WSC_Cosima und Var_WSC_Cosmolit zusammengefasst) zu den Terminen 1, 3 und 6 (Balken 1, 2, 3) (Versuch Wurzel2014)*

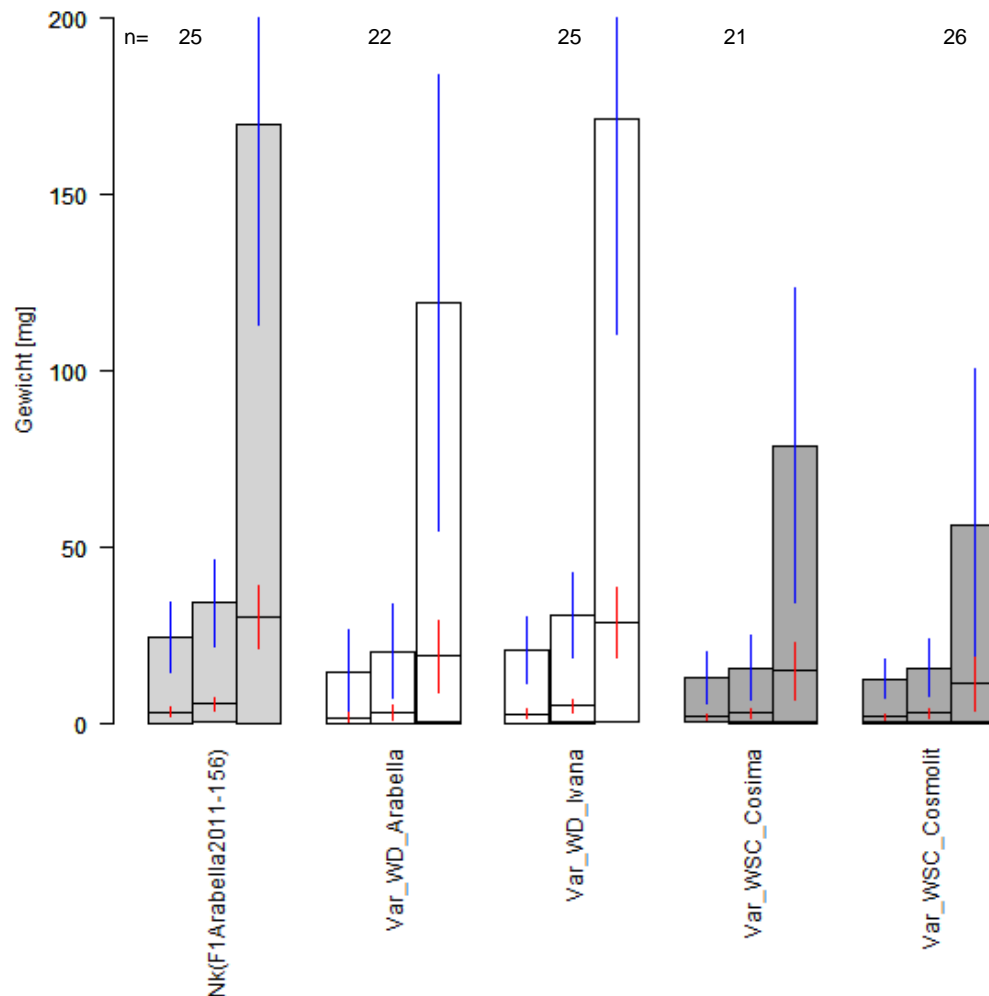


Abbildung 23: Mittelwerte der Frisch- und Trockenmasse der Blätter der Nk(F1Arabella2011-156) im Vergleich zu den WD-Sorten Arabella und Ivana und den WSC-Sorten Cosima und Cosmolit zu den Terminen 1, 3 und 6 (Versuch Wurzel2014) *

* Vertikale blaue Linien oben geben die Standardabweichung des Frischgewichts an, vertikale rote Linien unten die des Trockengewichts. Verschiedene Großbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den mittleren Frischmassen zu einem Termin, verschiedene Kleinbuchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den mittleren Trockenmassen zu einem Termin.

Die Familie Nk(F1Arabella2011-156) wurde auch mit den einzelnen Sorten verglichen. Die oberirdische Frischmasse war bei den Nk(F1Arabella2011-156) und Var_WD_Ivana generell am höchsten. Die Frischmasse von Var_WSC_Cosima und Var_WSC_Cosmolit war stets am geringsten, während Var_WD_Arabella auf mittlerem Niveau lag. Die oberirdische Trockenmasse von Var_WD_Ivana und den Nk(F1Arabella2011-156) war immer signifikant höher als die von Var_WD_Arabella, Var_WSC_Cosima und Var_WSC_Cosmolit (Abbildung 23, Tabelle 36 Anhang). Der TS-Gehalt war zu Termin 1 bei Var_WD_Arabella signifikant am niedrigsten, während sich die anderen nicht

unterschieden. Zu Termin 3 wies Var_WSC_Cosmolit einen höheren TS-Gehalt auf als Var_WD_Arabella, ansonsten unterschieden sich die Prüfglieder nicht. Beim letzten Schnitt hatte Var_WSC_Cosmolit einen signifikant höheren TS-Gehalt als die WD-Sorten und auch wie die Nk(F1Arabella2011-156) (Tabelle 36 Anhang).

Da die Wurzeln auch in den Hohlkammerplatten nicht ganz zerstörungsfrei zugänglich waren, konnte die Wurzelmasse erst bei Abschluss des Versuchs (Termin 6) bestimmt werden. Aufgrund der Transparenz der Versuchsgefäße konnte jedoch die Wurzellänge zu sechs Terminen erfasst werden.

Die Nachkommenschaft Nk(F1Arabella2011-156) zeigte zu allen Terminen signifikant längere Wurzeln als die WSC-Pflanzen. Bei der ersten Messung hatten die Nachkommen von F1Arabella2011-156 außerdem signifikant längere Wurzeln als WD. Im Mittel unterschieden sich Deutsches Weidelgras und Wiesenschwingel zu keinem Zeitpunkt signifikant. Entgegen den Erwartungen wiesen die WD-Pflanzen jedoch tendenziell längere Wurzeln auf.

Beim Vergleich der einzelnen Prüfglieder zeigte sich, dass die Sorten Var_WD_Ivana und Var_WD_Arabella sich zu fast allen Zeitpunkten signifikant unterschieden. Die Var_WD_Ivana Pflanzen wiesen längere Wurzeln auf, die zu den Terminen 3 und 4 sogar signifikant länger waren als die Wurzeln von Var_WSC_Cosima. Die Nk(F1Arabella2011-156) hatte bei den ersten drei Messungen signifikant längere Wurzeln als Var_WSC_Cosima und Var_WD_Arabella. Bei Termin 4 und 5 hatte nur Var_WD_Arabella signifikant kürzere Wurzeln, zu Termin 6 auch Var_WSC_Cosmolit (Abbildung 24, Tabelle 37 Anhang).

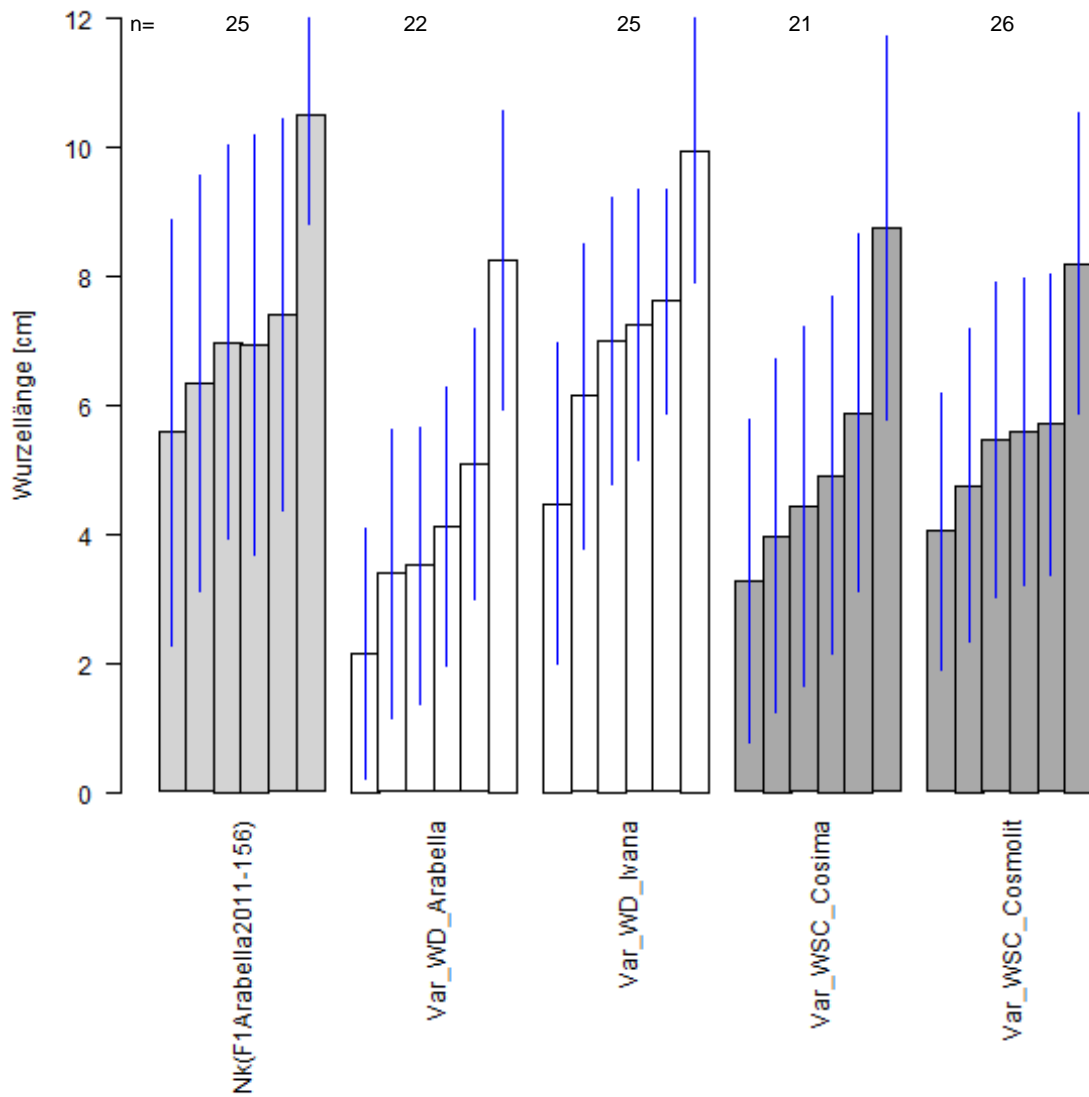


Abbildung 24: Mittlere Wurzellängen der Nk(F1Arabella2011-156) im Vergleich zu den WD- und WSC-Sorten zu den Terminen 1–6 (von links nach rechts). Die vertikalen Linien zeigen die Standardabweichung (Versuch Wurzel2014)

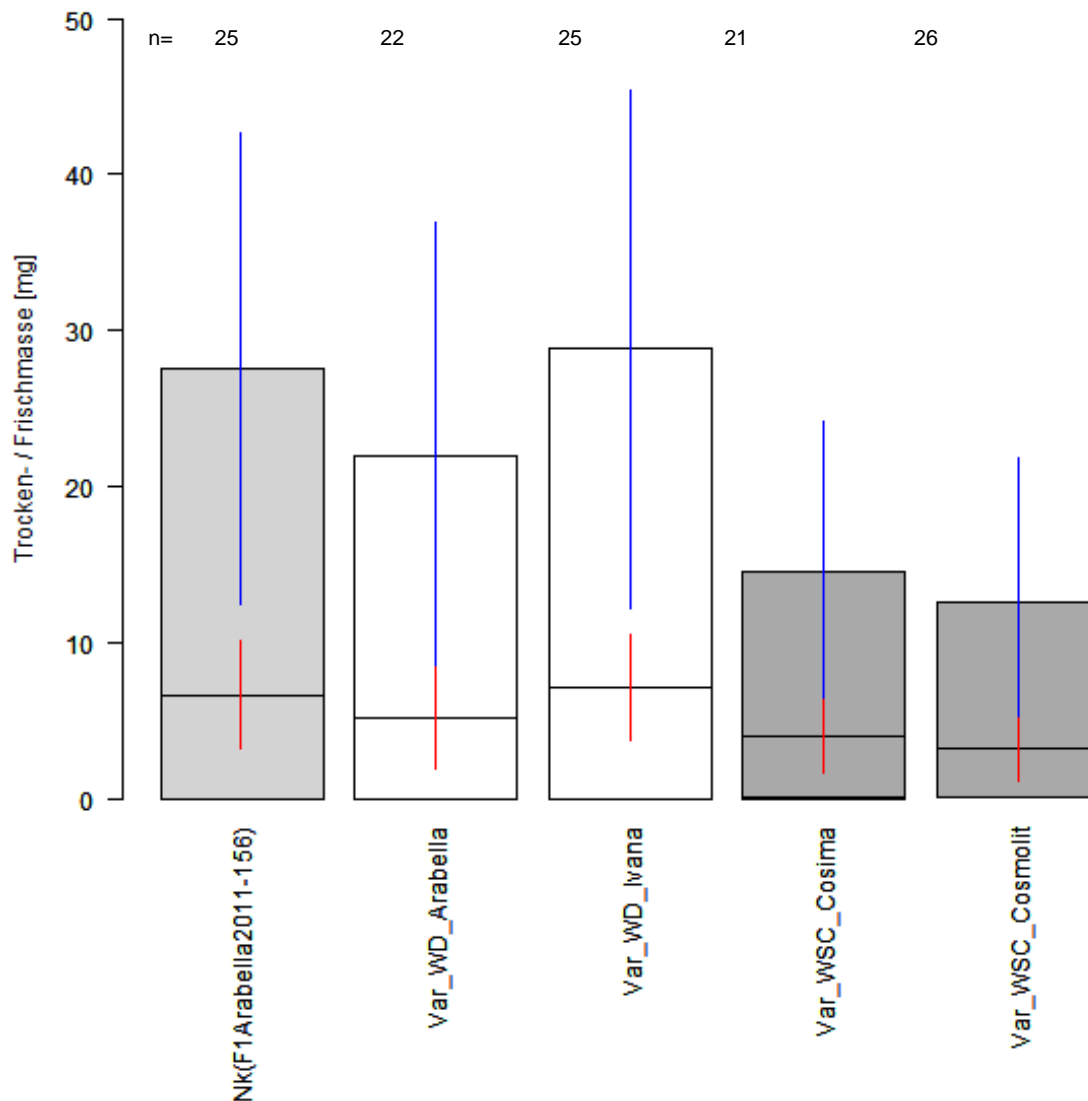


Abbildung 25: Mittlere Frisch- und Trockenmasse der Wurzeln von Nk(F1Arabella2011-156) im Vergleich zu WD- und WSC-Sorten (Versuch Wurzel2014) *

* Vertikale blaue Linien oben stellen die Standardabweichung der Frischmasse dar, vertikale rote Linien unten die der Trockenmasse.

Beim Vergleich der Wurzelmassen zeigte sich ein ähnliches Bild: Die Nk(F1Arabella2011-156) hatte die höchste Wurzelfrischmasse (FM) gegenüber WSC. Gleiches gilt für die Trockenmasse (TM). Beim TS-Gehalt gab es dagegen keine signifikanten Unterschiede. Unter den Sorten wies Var_WD_Ivana die höchste Frisch- und Trockenmasse der Wurzeln auf. Darauf folgten die Nk(F1Arabella2011-156). Erwartungsgemäß hatten die WSC-Pflanzen die geringste Wurzelmasse. Beim TS-Gehalt der Wurzeln gab es wieder keine signifikanten Unterschiede (Abbildung 25, Tabelle 38 Anhang).

6.3. Diskussion

Die geringe Wurzelbildung der WSC-Pflanzen war ein eher unerwartetes Ergebnis. Eine Studie von Durand et al. (1997) zeigte, dass eine andere Schwingelart, Rohrschwingel (*F. arundinacea*), und Deutsches Weidelgras bis zur gleichen Bodentiefe Wasser aufnehmen konnten und somit vermutlich ähnliche Wurzellängen aufwiesen. Šimkūnas et al. (2007) detektierte für Wiesenschwingel eine geringere Wurzelwachstumsrate als bei Welschem Weidelgras (*L. multiflorum*) bei Temperaturen von +4 °C, ein Indiz dafür, dass die Ergebnisse des Wurzel-Experiments dieser Arbeit durch den relativ kurzen Untersuchungszeitraum zu erklären sind. Im vorliegenden Versuch wurde die Jugendentwicklung der Wurzeln erfasst, die bei Wiesenschwingel nach den vorliegenden Daten langsamer vonstatten geht, als bei Deutschem Weidelgras. Dieser Befund deckte sich mit Ergebnissen bzgl. der Entwicklung der oberirdischen Biomasse, bei der WD in diesem wie auch anderen Teilexperimenten dieses Projekts eine schnellere Blattentwicklung zeigte. Auch weitere Untersuchungen der LfL in einem Rain-out Shelter-Versuch zeigten, dass WSC erst im zweiten Standjahr seine höhere Trockentoleranz im Vergleich zu WD unter Beweis stellen konnte (Westermeier et al., 2015). In anderen Gewächshausversuchen, die i.d.R. im Zeitraum von wenigen Monaten abgeschlossen wurden, konnten für WD-Sorten ebenfalls tiefer reichende Wurzeln als für WSC-Sorten identifiziert werden (Herndl et al., 2011). Die Ergebnisse des eigenen Experiments zeigen, dass die langsamere Jugendentwicklung von Wiesenschwingel auch bei der Ausbildung des Wurzelsystems seine Entsprechung findet. Die in diesem Experiment geprüfte Nk(F1Arabella2011-156) hingegen zeigt gegenüber beiden Elternarten eine beschleunigte Jugendentwicklung des Sprosses und der Wurzel. Im Versuch Juwi7 erreichten die Pflanzen der Nk(F1Arabella2011-156) im Mittel nach 6 Tagen eine Wuchshöhe von 6 cm (WH2), nach 11 Tagen 10 cm (WH3), nach 13 Tagen 14 cm (WH4) und zeigten damit eine intermediäre Leistung. Zum Vergleich: WSC erreichte WH2 nach 8 Tagen, WD nach 5 Tagen; WH3 wurde von WSC nach 11 Tage, von WD schon nach 9 Tagen erreicht; bei WH4 war WSC nach 15 Tagen, WD bereichts nach 11 Tage.

Bei den genetischen Marker-Analysen konnte kein Individuum aus der Nk(F1Arabella2011-156) aus den Resistenzversuchen, die Juwi7 folgten, als Rückkreuzung mit WSC verifiziert werden (Tabelle 9). Für den Versuch Wurzel2014 wurde Erntegut aus dem gleichen Erntejahr verwendet und bei dieser Nk(F1Arabella2011-156) innerhalb der Versuchslaufzeit sowohl die höchsten Wurzellängen, als auch die höchsten Trockenmassen bei Spross und Wurzel erzielt. Eine Erklärung für diese Beobachtung ist das Auftreten von Heterosiseffekten in der Kreuzung oder eine ungewollte Rückkreuzung mit einer sehr wüchsigen WD-Pflanze in Kombination mit Heterosis-Effekten. Heterosis kann auch bei artübergreifenden Kreuzungen auftreten, bei denen genetisch unterschiedliches Material kombiniert wird und dadurch viele heterozygote Allelzustände in der Kreuzung auftreten. Die Beobachtungen in diesem Experiment decken sich auch mit Ergebnissen aus den Rain-

out-Shelter-Versuchen der LfL, in denen diploide F1-Festulolii im Vergleich zu WD und WSC eine höhere Trockentoleranz aufwiesen (Westermeier et al., 2015). Das war offensichtlich dem gegenüber WSC noch weiterreichendem Wurzelsystem und der durch Heterosis bedingten höheren Stresstoleranz der Bastarde geschuldet. Allerdings sind die hier beobachteten Heterosiseffekte in der Praxis nicht nutzbar, da die Pflanzen weitgehend steril sind und nur vegetativ vermehrt werden können. Daher kommen sie so nicht direkt zum Einsatz, sondern stellen einen Zwischenschritt in Richtung der Entwicklung verbesserter Wiesenschwingel-Populationen dar. Inwieweit in weiteren Rückkreuzungen mit Wiesenschwingel noch Effekte auf die Ausbildung des Wurzelsystems durch die WD-Introgression auftreten, kann aus den hier generierten Daten noch nicht abgeleitet werden. Daher bedarf es weiterer Untersuchungen, jedoch dürfte die im Rahmen der vorgestellten Versuche entwickelte Methodik dazu geeignet sein, diese und andere offene Fragen zu beantworten.

7. Frosttoleranz

Eine hinreichende Winterhärte der Gräser ist in mehrjährigen Grünlandbeständen ein wichtiges Kriterium der Ausdauer. Sie beinhaltet multiple Faktoren wie z.B. Resistenz gegen Schneeschimmel (*M. nivale*) und Frosttoleranz. An der LfL werden seit Jahren erfolgreich Versuche zur Selektion auf Frosttoleranz bei verschiedenen Arten durchgeführt. Frosttoleranz ist hauptsächlich in solchen Anbaugebieten von Bedeutung, die häufig von Kahlfrösten betroffenen sind, weniger dagegen in Lagen mit einer langen Schneebedeckung im Winter. Wiesenschwingel gilt allgemein als frosttoleranter als Deutsches Weidelgras. Um diese wichtige Eigenschaft durch die Einkreuzung von WD in verbesserten WSC nicht zu verlieren, wurde bereits in der F1- und BC1-Generation mit der Selektion auf dieses Merkmal begonnen. Zusätzlich wurde so die Feststellung von Aufspaltungsverhältnissen in den verschiedenen Generationen ermöglicht. Während der Projektzeit wurden zwei Versuche zur Frosttoleranz durchgeführt (Frosttoleranz2013 und Frosttoleranz2014, siehe Abbildung 26).

7.1. Material und Methoden

7.1.1. Versuch Frosttoleranz2013

Das erste Experiment wurde im November 2013 parallel zum Versuch *Microdochium*2013 angelegt. Für die Tests zur Verfügung standen 574 F1-Genotypen aus den Kreuzungsjahren 2010 bis 2012, 53 WSC und 42 WD-Genotypen. Bei den WD- und WSC-Pflanzen handelte es sich um die Elternpflanzen der F1-Genotypen sowie Genotypen, die schon erfolgreich in einem vorherigen Versuch als frosttolerant eingestuft wurden. Der Versuchsplan sah eine sechsfache Verklonung vor, um die selben Genotypen gleichzeitig auf *Microdochium*-Resistenz und Frosttoleranz in drei Wiederholungen testen zu können. Das war aufgrund unterschiedlicher Bestockung nicht bei allen Genotypen möglich, sodass nicht alle Versuchsglieder mit der vollen Wiederholungszahl getestet werden konnte. Die WD- und WSC-Genotypen fungierten als Standards. Je 48 Pflanzen wurden in Styroporschalen gepflanzt, um ein Durchfrieren von unten zu verhindern. Der Versuch wurde als randomisiertes Blockdesign mit drei Wiederholungen geplant. Während der neunwöchigen Wachstumsphase wurden die Pflanzen zweimal zurückgeschnitten und jeweils gedüngt (30 kg N/ha mit Wuxal Universaldünger). Darauf folgte die Abhärtungsphase mit vier Wochen bei 8°C und vier Wochen bei 4-6°C. Vor der Frostphase bei -9°C für 24 Stunden wurden die Pflanzen gezählt, um die während der Wachstumsphase abgestorbenen Pflanzen erfassen zu können. Die Regenerationsphase fand für 10 Tage in der Kühlkammer bei 4-6°C und weitere zwei Wochen im Gewächshaus bei Normaltemperatur statt. Bonitiert wurde die Anzahl überlebender Pflanzen. Ausgewertet wurde der Versuch mithilfe der Statistik Software R (R Core Team, 2014). Da schon vor der Frostphase einige Pflanzen ausgefallen waren, verringerte sich die geprüfte Anzahl Prüfglieder auf 516 F1-, 34 WD- und 42 WSC-Genotypen. Für den statistischen Vergleich der Nachkommen mit ihren Eltern

wurde ein Kruskal-Wallis-Test durchgeführt, da hiermit Boniturnoten nicht-parametrisch ausgewertet werden können. Beim Vergleich der Gruppen F1, WD und WSC wurden der prozentuale Anteil der überlebenden Pflanzen und der Student-Newman-Keuls-Test herangezogen (Mendiburu, 2014). Gruppirt wurden die F1-Genotypen weiterhin nach Spezies der Mutterpflanze und den einzelnen Familien je nach Mutter-Sorte (Tabelle 20).

Tabelle 20: Anzahl der getesteten F1-Genotypen im Versuch Frosttoleranz2013, gruppiert nach Mutterpflanzen

Mutterpflanze	Anzahl Genotypen in Frost2013	Anzahl Genotypen in Microdochium2013
WD_Aberavon1	8	8
WD_Aberavon2	12	12
WD_Aberavon3	10	9
WD_Aberavon4	22	21
WD_Arabella1	63	61
WD_Arabella2	0	1
WD_Arabella5	5	6
WD_Arabella6	21	22
WD_Barata1	14	14
WD_IdunaKlon25	41	40
WD_Ivana1	79	65
WD_Ivana2	3	1
WD_Ivana5	1	0
WD_IvanaKlon1	3	2
WD_IvanaKlon2	2	2
WD_Matiz2	13	13
WD_Matiz4	3	3
WD_Niata3	5	3
WD_Niata4	7	6
WD_Niata5	8	7
WD_Niata7	6	4
WD_PX41Klon11	2	0
WD_PX41Klon41	1	0
WD_PX41Klon61	1	1
WD_PX41Klon71	2	2
WD_Skiron10	21	20
WD_Skiron12	2	2
WD>Weigra1	1	1
WSC_Cosmolit2	24	20
WSC_Cosmolit7	16	18
WSC_Cosmolit9	5	3
WSC_PX42	91	79
WSC_PX43	1	1
WSC_PX44	12	12
WSC_PX45	11	11

7.1.2. Versuch Frosttoleranz2014

Das zweite Frost-Experiment wurde im Oktober 2014 parallel zu den Versuchen Microdochium2014 und Xanthomonas2014 angelegt. Die getesteten Pflanzen liefen im August 2014 in einem Jugendentwicklungsversuch (Juwi7) auf. Es handelte sich somit um potentielle BC1- und BC2-Pflanzen als Nachkommen von fünf F1-Pflanzen und einer BC1-Pflanze. Diese Pflanzen wurden mit SSR-Markern untersucht. Die Nachkommenschaften wurden randomisiert und je ein Drittel wurde in einem der drei Versuche getestet. Die Einzelpflanzen wurden dreifach verklont, um den Versuch in drei Wiederholungen durchführen zu können. Die Mutterpflanzen waren in allen Versuchen ebenfalls dreimal wiederholt. Als zusätzliche Standards wurden je 51 Pflanzen von drei zugelassenen Sorten, ebenfalls dreifach wiederholt, auf die drei Versuche verteilt (Tabelle 21). Der Versuch wurde als balanciertes unvollständiges Blockdesign angelegt. Die weitere Versuchsdurchführung stimmte mit dem ersten Experiment überein. Einen visuellen Eindruck nach der Frostphase zeigt Abbildung 26.

Tabelle 21: Prüfglieder und Anzahl Pflanzen in den Versuchen Microdochium2014, Frosttoleranz2014 und Xanthomonas2014

Prüfglieder / Pflanzen	Mutterpflanze	Großmutter	Großvater	Anzahl getesteter Pflanzen in allen Experimenten	Anzahl getesteter Pflanzen pro Experiment
Nk(BC1Lipresso2011-303)	BC1Lipresso2011-303	F1Lipresso 2008-2	WSC	204	68
Nk(F1Aberavon2011-250)	F1Aberavon2011-250	WD_ Aberavon3	WSC_ Preval3	102	34
Nk(F1Arabella2011-163)	F1Arabella2011-163	WD_Arabella1	WSC_ Cosmolit5	120	40
Nk(F1Arabella2011-156)	F1Arabella2011-156	WD_Arabella1	WSC_ Preval12	204	68
Nk(F1Barata2011-177)	F1Barata2011-177	WD_Barata1	WSC_ PX16	180	60
Nk(F1WSCPX2011-22)	WSC PX4 2011-22	WSC_PX42	WD_ Lipresso1	111	37
Nk(F1Arabella2011-143)	F1Arabella2011-143	WD_Arabella1	WSC_ Preval3	108	36
F1Lipresso2008-2				3	1

Fortsetzung Tabelle 21

Prüfglieder / Pflanzen	Mutterpflanze	Großmutter	Großvater	Anzahl getesteter Pflanzen in allen Experimenten	Anzahl getesteter Pflanzen pro Experiment
WD_Aberavon3				3	1
WD_Arabella1				3	1
WD_Barata1				3	1
WSC_PX42				3	1
WSC_Preval3				3	1
WSC_Cosmolit5				3	1
WSC_Preval12				3	1
WSC_PX16				3	1
WD_Lipresso1				3	1
BC1Lipresso2011-303				3	1
F1Aberavon2011-250				3	1
F1Arabella2011-143				3	1
F1Arabella2011-163				3	1
F1Arabella2011-156				3	1
F1Barata2011-177				3	1
F1WSCPX2011-22				3	1
Var_WD_Arabella				51	17
Var_WD_Ivana				51	17
Var_WSC_Cosmolit				51	17



Abbildung 26: Größtenteils abgestorbene Pflanzen von Dt. Weidelgras-, Wiesenschwingel- und Festulolium ca. 1 Woche nach der Frostphase und anschließendem Auftauen im Gewächshaus

7.2. Ergebnisse

7.2.1. Versuch Frosttoleranz2013

Der Versuch wurde in mehreren Schritten ausgewertet. Zunächst wurden die beiden Arten (WD, WSC) mit den F1-Pflanzen verglichen. Erwartungsgemäß zeigte WD eine vergleichsweise geringe mittlere Überlebensrate von 3,0 % bei geringer Variation (0–4,6 %), während WSC im Mittel eine Überlebensrate von 35,2 % bei größerer Variation aufwies (16,7–53,1 %). Die F1-Pflanzen zeigten eine intermediäre Frosttoleranz (Mittel 23,8 %, Min.-Max. 15,7–37,2 %) (Abbildung 27). Maternale Effekte, in Abhängigkeit der Mutterpflanze, die für die Erstellung der F1 verwendet wurde, konnten nicht nachgewiesen werden (Abbildung 28).

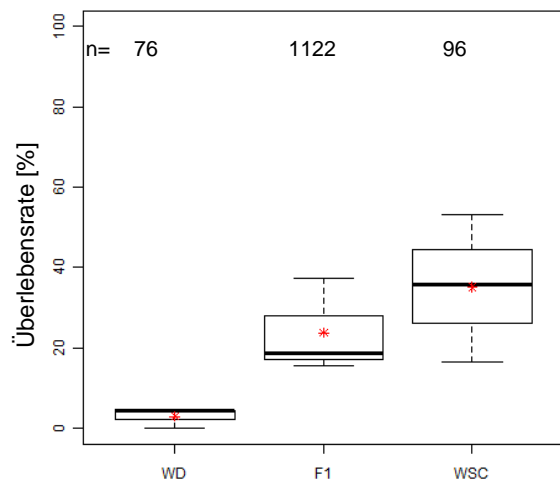


Abbildung 27: Überlebensrate in Prozent. Vergleich der Arten WD und WSC mit der F1 (Versuch Frosttoleranz2013)

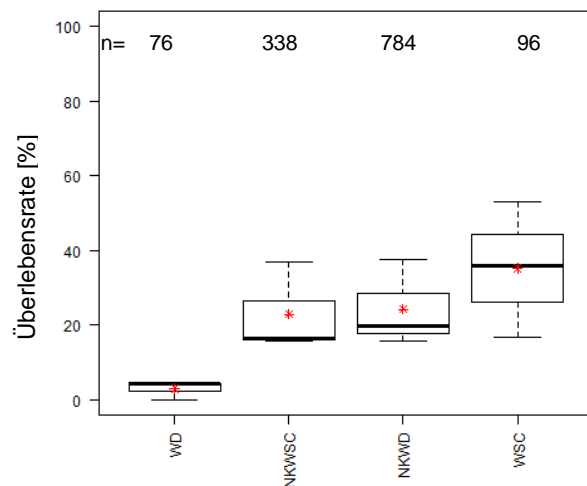


Abbildung 28: Überlebensrate in Prozent. Vergleich nach Art der Mutterpflanze; NKWSC: WSC als Mutterpflanze für die Kreuzung verwendet, NKWD: WD als Mutterpflanze verwendet (Frosttoleranz2013)

Die F1-Pflanzen wurden mit der Mutter-Sorte verglichen. Signifikante Unterschiede der Letalität konnten nicht festgestellt werden. Im Mittel zeigte die Nachkommenschaft der Mutter WD_Barata1 [F1(WD_Barata1); 46,3 %], die Nachkommen verschiedener WD_Arabella-Genotypen [F1(WD_Arabella); 32,3 %] und verschiedener WSC_Cosmolit-Genotypen [F1(WSC_Cosmolit); 29,3 %] die höchsten Überlebensraten. Diese stellten auch die größten Nachkommenfamilien. Die Nachkommen verschiedener WD_Ivana-Pflanzen [F1(WD_Ivana); 10,7 %] und verschiedener WD_Skiron-Pflanzen [F1(WD_Skiron); 8,3 %] wiesen die geringste Überlebensrate auf (Abbildung 29).

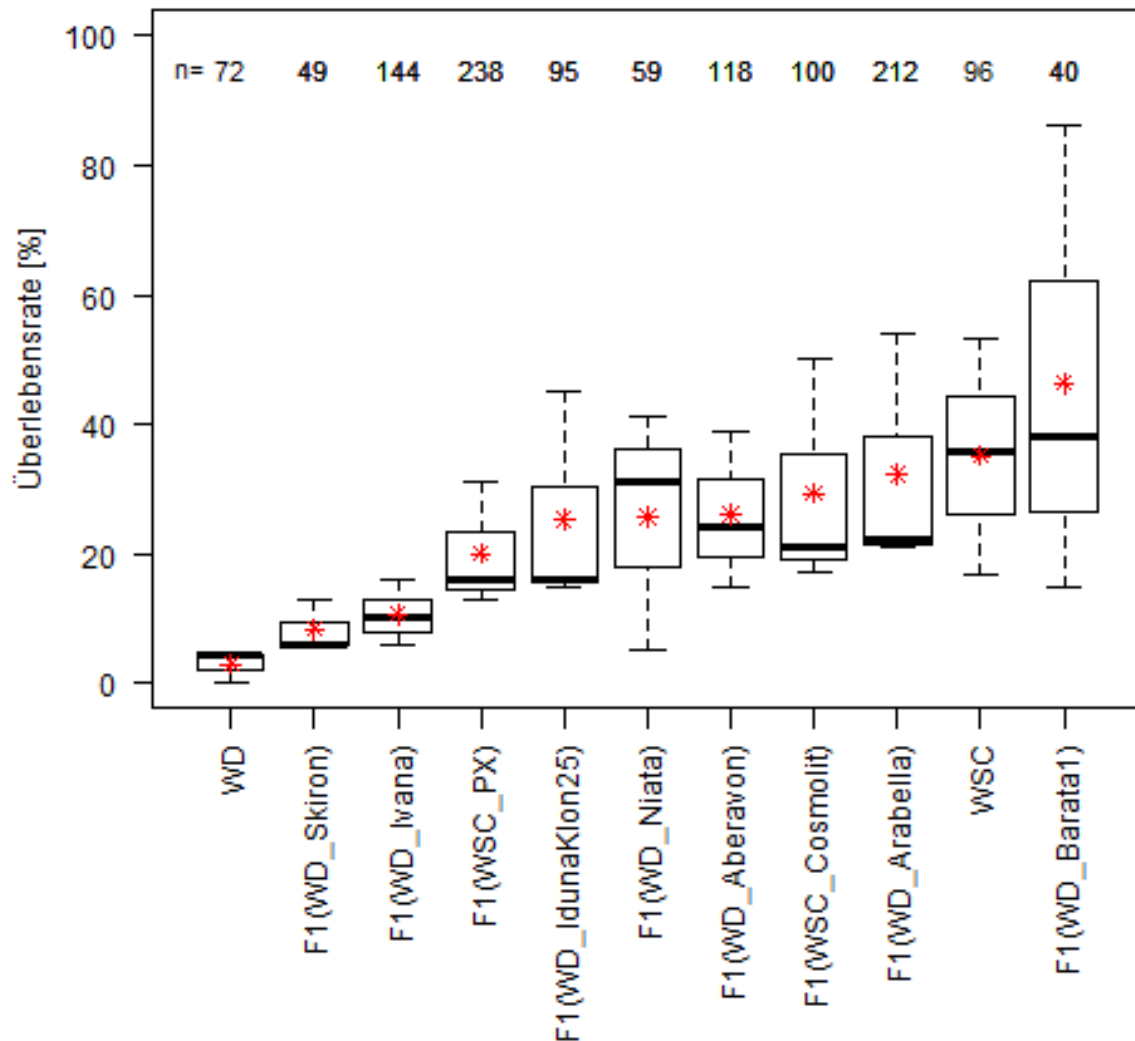


Abbildung 29: Vergleich der Überlebensrate größerer Nachkommenschaften mit WD- bzw. WSC-Genotypen als Mütter im Versuch Frosttoleranz2013*

*Bei F1(WD_IdunaKlon25) und F1(WD_Barata1) handelte es sich jeweils nur um eine Mutterpflanze. Bei den anderen F1-Nachkommen wurden zur Erstellung der F1 verschiedene Individuen einer Sorte verwendet.

Auch die einzelnen Nachkommenschaften wurden mit ihren Eltern nach Bonitur der Letalität anhand eines Kruskal-Wallis-Testes verglichen. Bei unterschiedlicher Anzahl Wiederholungen konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Nachkommen und Eltern festgestellt werden.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die untersuchten Familien eine sehr hohe Varianz aufwiesen. Auch konnte aufgrund der Sorte der Mutterpflanze allein nicht auf die Leistung der Nachkommenschaft geschlossen werden. Beispielsweise zeigten die Nachkommenschaften der verschiedenen WD_Aberavon-Mutterpflanzen (WD_Aberavon1, 2, 3, 4) große Unterschiede. Deutsches Weidelgras ist hochgradig

fremdbestäubend und bei den vorliegenden Sorten handelt es sich um Populationsorten, die heterogen sind.

Aufgrund der mehrfachen Verklonung der Prüfglieder war eine völlig gleiche Ausgangssituation für die Klonteile vor der Frostphase nicht gewährleistet. Viele Prüfglieder fielen schon vor dem eigentlichen Versuch aus. Tendenziell ist jedoch zu erkennen, dass WSC frosttoleranter ist als WD. Die Hybriden besitzen im Mittel eine intermediäre Frosttoleranz. Maternale Effekte konnten hier nicht festgestellt werden. Einzelne Mutterpflanzen vererben offensichtlich eine sehr gute Frosttoleranz, so dass einige Nachkommenfamilien im Mittel sogar eine höhere Überlebensrate aufwiesen als das Mittel der WSC-Sorten (Abbildung 29).

7.2.2. Versuch Frosttoleranz2014

Im Versuch Frosttoleranz2014 wurden ausgewählte Familien aus den Versuchen zur Jugendentwicklung getestet. Dabei handelte es sich um potentielle BC1- und BC2-Pflanzen und deren Mutterpflanzen (F1 bzw. BC1), Großeltern sowie drei Sorten (WD und WSC) (vgl. Tabelle 21).

Insgesamt etablierten sich die Pflanzen nach der Aussaat gut. Der Ausfall an Pflanzen nach der Frostphase war in diesem Fall extrem hoch. Zwischen den Nachkommenschaften und den mit getesteten Sorten konnten aufgrund der hohen Ausfälle keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Var_WSC_Cosmolit (Mittelwert 11,0 %; Min: 0,0 %; Max: 18,2 %) zeigte eine geringe Überlebensleistung, während Var_WD_Ivana (Mittelwert 38,7 %; Min: 23,5 %; Max: 62,5 %) sich hier am frosttolerantesten erwies. Die Nachkommenschaft Nk(F1Barata2011-177) zeigte im Mittel mit 12,3 % (7,7–15,8 %) die beste Frosttoleranz. Keine dieser Nachkommen konnte jedoch als BC-Pflanze verifiziert werden, sondern es handelte sich um ungewollte Rückkreuzungen mit WD- oder F2-Pflanzen (Tabelle 12). Die F1Barata2011-177 wurde ebenfalls mit getestet und ging in allen drei Wiederholungen ein, ebenso deren Mutterpflanze WD_Barata1. Nur die Vaterpflanze der F1 überlebte die Frostphase in zwei Wiederholungen. Die F1-Pflanze F1Barata2011-177 wurde im Frostversuch 2013 getestet und lieferte zusammen mit den Geschwistern eine mittlere Überlebensrate von 46,3 % (Abbildung 29). Die Eltern der Kreuzung waren WD_Barata1 und WSC_PX16. Die Nachkommenschaft Nk(F1WSCPX2011-22) wies die geringste Frosttoleranz auf. Im Mittel überlebten 4,0 % der Pflanzen (3,0 - 6,5 %). Die betreffende Mutterpflanze entstand aus der Kreuzung WSC_PX42 und WD_Lipresso1. Die F1 sowie die WSC-Mutterpflanze und die WD-Vaterpflanze starben im vorliegenden Versuch in allen drei Wiederholungen ab. Die F1-Pflanze war auch im Vorjahresversuch wie ihre Geschwister nicht so frosttolerant wie die Nachkommen von WD_Barata1.

Die Pflanze F1Arabella2011-156 entstand aus der Kreuzung WD_Arabella1 x WSC_Preval12. Die Nachkommen dieser Pflanze lagen im Mittelfeld (11,7 %) zwischen

den Familien von WD_Barata1 und WSC_PX42. Im Falle dieser Nachkommenschaft handelte es sich offenbar mehrheitlich um Rückkreuzungen zu WD (Tabelle 9).

Die F1Arabella2011-143 entstand aus der Kreuzung WD_Arabella1 x WSC_Preval3. Obwohl die gleiche Mutterpflanze verwendet wurde, zeigte diese Nachkommenschaft eine etwas geringere Frosttoleranz (Mittelwert: 6,3 %; Min: 0 %; Max: 15,4 %) als F1Arabella2011-156. Die Nachkommen von F1Arabella2011-143 hatten aber einen wesentlich höheren WSC-Genomanteil als die Nachkommen von F1Arabella2011-156. Ein möglicher Grund ist, dass WSC_Preval12 eine höhere Frosttoleranz vererbte als WSC_Preval3. In je einer Wiederholung überlebten F1Arabella2011-156, F1Arabella2011-143 und WSC_Preval12. Kein Klon von WSC_Preval3 überlebte die Frosttoleranzversuche. Im Vorjahresversuch wurden WD_Arabella1 und WSC_Preval12 getestet und auch davon überlebte keine einzige Pflanze.

Die Nachkommen von F1Aberavon2011-250 hatten im Mittel eine Überlebensrate von 10,0 % (3,0 -15,2 %). WD_Aberavon3 x WSC_Preval3 waren die Eltern von F1Aberavon2011-250. Die Familie F1(WD_Aberavon3) zeigte sich in dem Versuch Frosttoleranz2013 auf einem ähnlichen Niveau wie die F1(WD_Barata1). Im Versuch Frosttoleranz2014 jedoch lag sie hinter F1Arabella2011-156. Grund hierfür dürfte wiederum eine unterschiedliche Frosttoleranz der elterlichen Einzelpflanzen gewesen sein. Im Vorjahresversuch konnte nur eine Wiederholung von F1Aberavon2011-250 getestet werden, die ebenfalls überlebte. Von drei Wiederholungen der Pflanze F1Arabella2011-156 überlebten zwei die Frostphase.

Die Tabelle 22 zeigt die mittleren Überlebensraten von Nachkommenschaften und deren Eltern, die im Versuch mit getestet wurden. Von den Vaterpflanzen zeigte WSC_PX16 die höchste Frosttoleranz (66,7 %) und auch deren Nachkommenschaft hatte im Mittel (12,3 %) die höchste Überlebensrate aller Nachkommenschaften.

Tabelle 22: Überlebensrate in Prozent der Nachkommenschaften im Vergleich zu den Vorfahren; Mutterpflanze, Großmutter und Großvater (Versuch Frosttoleranz2014)

Nachkommenschaften	n*	Mutterpflanze	Großmutter	Großvater
Nk(BC1Lipresso2011-303)		BC1Lipresso2011-303	F1Lipresso2008-2	WSC
9,3 %	167	33,3 %	0,0 %	Na
Nk(F1Aberavon2011-250)		F1Aberavon2011-250	WD_Aberavon3	WSC_Preval3
10,0 %	99	0,0 %	33,3 %	0,0 %
Nk(F1Arabella2011-163)		F1Arabella2011-163	WD_Arabella1	WSC_Cosmolit5
4,0 %	109	0,0 %	33,3 %	0,0 %
Nk(F1Arabella2011-156)		F1Arabella2011-156	WD_Arabella1	WSC_Preval12
11,7 %	126	33,3 %	33,3 %	50,0 %**
Nk(F1Barata2011-177)		F1Barata2011-177	WD_Barata1	WSC_PX16
12,3 %	138	0,0 %	0,0 %	66,7 %
Nk(F1WSCPX2011-22)		F1WSCPX2011-22	WSC_PX42	WD_Lipresso1
4,0 %	94	0,0 %	0,0 %	0,0 %
Nk(F1Arabella2011-143)		F1Arabella2011-143	WD_Arabella1	WSC_Preval3
6,3 %	84	33,3 %	33,3 %	0,0 %

* n=Gesamtzahl über alle Wiederholungen; je drei Wiederholungen pro Einzelpflanze

** nur 2 Wiederholungen getestet.

Im Versuch Frost2014 überlebte von 10 verifizierten BC-Pflanzen (von allen Mutterpflanzen) nur eine einzige: die Pflanze BC1WSCPX2013-2832, ein Nachkomme der Mutter WSCPX42. Unter den F2-Pflanzen überlebte ein Nachkomme von F1Arabella2011-163, zwei von F1Barata2011-177 und drei von BC1Lipresso2011-303. Von denjenigen Pflanzen, bei denen es sich um Rückkreuzungen mit WD handelte, überlebten zwei der Mutterpflanze F1Aberavon2011-250, jeweils eine von F1Arabella2011-143 und F1Arabella2011-163, vier von F1Arabella2011-156, fünf von F1Barata2011-177 und zwei von BC1Lipresso2011-303. Von F1Arabella2011-143 überlebte ein Nachkomme, der als Ergebnis einer Selbstbefruchtung eingestuft worden war (Tabelle 23).

Tabelle 23: Überlebende Nachkommen von F1-Pflanzen in dem Versuch Frosttoleranz2014

Art der Kreuzung	Pflanzen insgesamt	Überlebende Pflanzen
BC (x WD)	160	13
F2	86	4
BC (x WSC)	9	1
Selbstung	3	1

7.3. Diskussion

Im ersten Experiment konnte gezeigt werden, dass die F1-Pflanzen in der Regel eine intermediäre Frosttoleranz im Vergleich zu den Eltern WD und WSC besaßen, wobei WSC im Mittel eine höhere Frosttoleranz als WD aufweist. Im zweiten Experiment wurden WD- und WSC-Sorten zum Vergleich mitgetestet. Dabei ergab sich bezüglich der Arten ein anderes Bild. Die Var_WSC_Cosmolit zeigte tendenziell eine geringere Frosttoleranz als Var_WD_Arabella und Var_WD_Ivana. Ein möglicher Grund ist, dass sich die Var_WSC_Cosmolit Pflanzen vor dem Versuch schlechter etabliert hatten als die WD-Sorten. Die getesteten potentiellen BC1- und BC2-Pflanzen zeigten wie im ersten Experiment teilweise eine geringere Frosttoleranz als WSC.

Unterschiede zwischen den einzelnen Nachkommenfamilien konnten in keiner Generation eindeutig festgestellt werden, jedoch z.T. eine große Variabilität innerhalb der Familien, was für eine weitere Selektion auf das Merkmal notwendig ist. Jedoch bedarf dieses Merkmal noch weiterer Untersuchungen, da zum einen in den beiden durchgeführten Experimenten keine eindeutige Aussage bezüglich der Toleranz der WD- und WSC-Eltern möglich war. Zum anderen deuten die hier vorliegenden Daten an, dass die Einkreuzung von WD-Eigenschaften in WSC möglicherweise mit einer abnehmenden Frosttoleranz einhergeht. Nähere Aussagen hierzu werden erst nach der Untersuchung weiterer Rückkreuzungsgenerationen (BC3 und höher) möglich sein.

Ein Vergleich der Nachkommenschaften bezüglich *Microdochium*-Resistenz und Frosttoleranz findet sich in Kapitel 8.3.

8. Resistenz gegen Schneeschimmel (*Microdochium nivale*)

Bei Schneeschimmel (*Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & Hallett) handelt es sich um einen pilzlichen Schaderreger, der verschiedene Grasarten und Getreidekulturen befallen kann (Tronsmo et al., 2001). Schneeschimmel führt zusammen mit Frostschäden zu Auswinterung und damit zu lückigen Beständen im Frühjahr und den damit einhergehenden negativen Auswirkungen auf die Produktivität. Bei Dt. Weidelgras ist Schneeschimmel eine der bedeutendsten Krankheiten (Schubinger, 2016a), während die Gefahr für einen Befall von Wiesenschwingel hier geringer ist. Aber auch der Wiesenschwingel wird von dieser Krankheit befallen (Schubinger, 2016b). Schneeschimmel infiziert schon in den Herbstmonaten die Pflanzen. Für seine Entwicklung benötigt er eine hohe Luftfeuchtigkeit und kühle Witterung. Er kann somit nicht nur in Wintern mit langen Schneebedeckungsphasen auftreten (Posselt & Altpeter 1994; Schubinger, 2014) und hat damit eine große Bedeutung für die Winterhärte (u. a. eine Kombination aus Frosttoleranz und Schneeschimmelresistenz), v.a. in Süddeutschland. Beispielsweise konnte durch eine norwegische Forschungsgruppe die Winterhärte von WD durch das Einkreuzen von WSC-Anteilen erhöht werden (Østrem et al., 2007). Vice versa besteht durch die Einkreuzung von WD-Anteilen in WSC die Gefahr, dass dadurch die Auswinterungsgefahr in den sonst verbesserten WSC steigt.

Ziel der Untersuchungen in diesem Projektteil war daher, die Schneeschimmel-Resistenz der F1-, BC1- und BC2-Pflanzen zu testen, um bereits in frühen Generationen möglichst winterharte Kandidaten selektieren zu können. Unter Freilandbedingungen kann Schneeschimmel in unterschiedlichen Intensitäten auftreten. Durch die standardisierten Versuche unter Gewächshausbedingungen sollte ein gleichmäßiger Befall mit dem Erreger gewährleistet werden. Während der Projektlaufzeit wurden zwei Experimente zur *Microdochium*-Resistenz durchgeführt, *Microdochium*2013 und *Microdochium*2014.

8.1. Material und Methoden

8.1.1. Versuch *Microdochium*2013

Das erste Experiment startete im November 2013 parallel zum ersten Versuch zur Frosttoleranz. Es wurde das gleiche Material wie im ersten Frosttoleranz-Versuch getestet (siehe Kapitel Nr. 7.1.1 *Versuch Frosttoleranz*2013). Je 45 Pflanzen wurden reihenweise in eine Plastikschaale gepflanzt. Die zugelassene *Festulolium*-Sorte Felina wurde als Rand gesät, da es bei dem Bewuchs mit *M. nivale* zu ausgeprägten Randeffekten kommen kann. Während der neunwöchigen Wachstumsphase im Gewächshaus bei Tag/Nacht-Temperaturen von 16/18 °C und zusätzlicher Beleuchtung von 6.00–18.00 Uhr bei weniger als 10 klux natürlichem Licht, wurden die Pflanzen gedüngt und zweimal geschnitten. Es folgten weitere vier Wochen im Gewächshaus bei 8 °C. Vor der Infektion wurden die bis dahin abgestorbenen Pflanzen ausgezählt und entfernt. Für die Durchführung des Experiments standen 470 F1-Genotypen, 36 WD-

Genotypen und 42 WSC-Genotypen zur Verfügung. Infiziert wurden die Pflanzen mit 15 g geschroteten und getrockneten Getreidekörnern (2/3 Weizen, 1/3 Gerste) pro Schale, die als Trägermedium Myzel von *M. nivale* (Stamm ER 118, isoliert an Weizen 2013 in Freising) enthielten. Die Inkubationszeit betrug 27 Tage in einer Kühlkammer bei 4–6 °C. Erzeugt wurde das für das Pilzwachstum nötige feuchte Mikroklima durch ausgelegtes nasses Vliesmaterial. Die Reaktion der Pflanzen wurde neun Tage später in vier Stufen bonitiert (0 = Pflanze tot; 3 = ganze Triebe infiziert und abgestorben; 6 = nur Blätter infiziert und abgestorben; 9 = keine Infektion sichtbar).

8.1.2. Versuch *Microdochium*2014

Das zweite Experiment wurde im Oktober 2014 parallel zum Frosttoleranz- und Xanthomonas-Resistenztest angelegt (siehe 7.1.2 Versuch Frosttoleranz2014). Die weitere Versuchsdurchführung war identisch mit dem ersten Experiment (Abbildung 30).



Abbildung 30: Mit *Microdochium nivale* infizierte WD-, WSC- und BC-Pflanzen im Klimakammerversuch *Microdochium*2014

8.2. Ergebnisse

8.2.1. Versuch *Microdochium*2013

Die Abbildung 31 zeigt eine Zusammenfassung der Ergebnisse des Schneeschimmel-Resistenztests *Microdochium*2013. Bei der Auswertung dieses Versuches wurden die Mediane der Resistenzbonitur mit Hilfe eines Kruskal-Wallis-Testes verglichen. Die F1-Pflanzen wiesen eine signifikant geringere Anfälligkeit (Median: 6; Mittelwert: 4,6) als WSC-Pflanzen (Median: 3; Mittelwert: 2,2) auf. Die WD-Pflanzen (Median: 6; Mittelwert: 5,0) und die F1-Pflanzen unterschieden sich nicht signifikant (Abbildung 31). Die untypisch negative Bonitur für Wiesenschwingel könnte der Tatsache geschuldet sein, dass es sich hier um verklonte Einzelpflanzen gehandelt hat. Aus Erfahrung war bekannt, dass Wiesenschwingel sich nach einer Verklonung nicht so schnell regeneriert wie Deutsches Weidelgras. Die Ergebnisse sind damit in Hinblick auf die schlechtere Etablierung der Wiesenschwingel-Pflanzen vor der Infektion mit Vorsicht zu interpretieren.

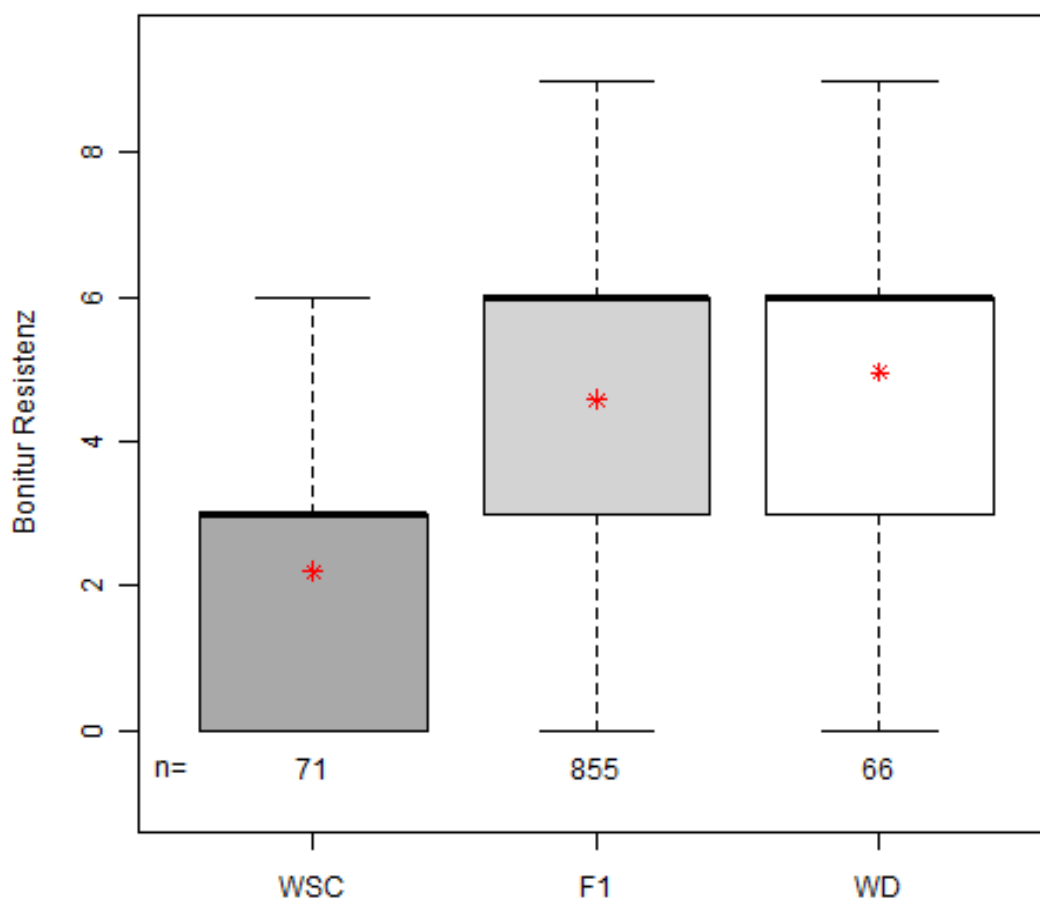


Abbildung 31: Versuch *Microdochium*2013. Vergleich der Resistenzbonituren der Arten Dt. Weidelgras und Wiesenschwingel mit den F1-Pflanzen*

* 0 = Pflanze tot; 3 = ganze Triebe infiziert und abgestorben; 6 = nur Blätter infiziert und abgestorben; 9 = keine Infektion sichtbar

Die F1(WD_Aberavon) Nachkommenschaft der Mutter WD_Aberavon, wies einen signifikant höheren Befall auf als die Nachkommen der Sorte WD_Skiron [F1(WD_Skiron)]. Die WD_Aberavon-Pflanzen (Median: 6; n=7) selbst zeigten einen höheren Befall als die WD_Skiron-Pflanzen (Median: 3; n=2). Zwischen den übrigen F1-Nachkommenschaften gab es keine signifikanten Unterschiede. Getestet wurden nur Nachkommenschaften, die in allen drei Wiederholungen standen (Tabelle 24).

Tabelle 24: Schneeschimmel-Reaktion der F1-Nachkommenschaften und der Mutter-Sorten. Verschiedene Buchstaben zeigen signifikant verschiedene Mediane (Versuch *Microdochium*2013, Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

Prüfglied (Muttersorte bzw. F1)	Mittelwert (Resistenz-Bonitur)*	Median (Resistenz-Bonitur)*	N (über alle Wiederholungen)
WD_Lipresso	6,0	6,0 a	5
WD_PX	6,0	6,0 a	7
WD_Aberavon	5,6	6,0 ab	7
WD_Niata	5,0	6,0 ab	9
WD_Ivana	4,9	6,0 ab	10
WD_Arabella	4,9	4,5 ab	8
WD_Matiz	4,5	4,5 ab	6
WSC_Preval	2,3	3,0 ab	16
WSC_Cosmolit	1,8	3,0 b	15
WSC_PX	2,6	3,0 b	21
F1(WD_Skiron)	5,3	6,0 a	38
F1(WD_Arabella)	4,4	6,0 ab	173
F1(WD_Cosmolit)	4,4	6,0 ab	91
F1(WD_Ivana)	4,9	6,0 ab	85
F1(WSC_PX)	4,9	6,0 ab	184
F1(WD_Iduna)	4,8	6,0 ab	78
F1(WD_Matiz)	4,1	3,0 ab	29
F1(WD_WDPX)	4,0	4,5 ab	6
F1(WD_Barata)	4,1	3,0 ab	28
F1(WD_Niata)	3,8	3,0 ab	36
F1(WD>Weigra)	4,0	3,0 ab	3
F1(WD_Aberavon)	4,3	3,0 b	97

Bonitur-Skala: 0 = Pflanze tot; 3 = ganze Triebe infiziert und abgestorben; 6 = nur Blätter infiziert und abgestorben; 9 = keine Infektion sichtbar

Sofern drei Wiederholungen der Einzelpflanzen mit *M. nivale* infiziert werden konnten, war ein Vergleich der Nachkommen untereinander und mit ihren Elternpflanzen möglich. Die F1-Pflanzen besaßen eine mit WD vergleichbare Resistenz bzw. zeigten einen intermediären Phänotyp im Vergleich zu den Eltern WD und WSC. Im Fall der 10

Nachkommen von WSC_Cosmolit2 x WD_Aberavon2 konnten signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen F1-Pflanzen festgestellt werden. Sechs F1-Pflanzen wiesen eine ähnlich hohe Resistenz auf wie die Vaterpflanze WD_Aberavon2 (Tabelle 25). Die Mutterpflanze WSC_Cosmolit2 konnte nur in zwei Wiederholungen getestet werden, in denen sie komplett ausfiel. Die Nachkommenschaft spaltete bzgl. des Merkmals *Microdochium*-Resistenz auf, wodurch auch hier eine Selektion von potenziell resistenteren Einzelpflanzen möglich war.

Tabelle 25: Schneeschimmel-Reaktion der Nachkommen der Kreuzung WSC_Cosmolit2 x WD_Aberavon2 im Vergleich zur Vaterpflanze; verschiedene Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (Versuch *Microdochium*2013)

Prüfglied	Mittelwert* (Resistenzbonitur)	Median* (Resistenzbonitur)
WD_Aberavon2	8	9 a
F1Cosmolit2012-42	7	6 ab
F1Cosmolit2012-43	6	6 abc
F1Cosmolit2012-44	5	6 abcd
F1Cosmolit2012-50	5	6 abcd
F1Cosmolit2012-52	5	6 abcd
F1Cosmolit2012-47	4	3 abcd
F1Cosmolit2012-40	3	3 bcd
F1Cosmolit2012-51	3	3 bcd
F1Cosmolit2012-45	2	0 cd
F1Cosmolit2012-39	1	0 d

* Bonitur-Skala: 0 = Pflanze tot; 3 = ganze Triebe infiziert und abgestorben; 6 = nur Blätter infiziert und abgestorben; 9 = keine Infektion sichtbar

Für diejenigen F1-Pflanzen, die sowohl im Versuch Frost2013 als auch im Versuch *Microdochium*2013 getestet wurden, konnte keine Korrelation zwischen den Merkmalen identifiziert werden. Ebenso wenig korrelierten die Merkmale bei den WD- oder WSC-Pflanzen. Diese Ergebnisse sind konform mit den Beobachtungen anderer Forschungsgruppen (Larsen, 1994; Østrem et al., 2007).

8.2.2. Versuch *Microdochium*2014

Mit Hilfe eines Kruskal-Wallis-Tests wurden die Mediane der Nachkommenschaftsbonituren verglichen. Die Nachkommen von F1Barata2011-177 (Median: 3,0) wurden signifikant stärker von Schneeschimmel befallen als die Nachkommen von F1Aberavon2011-250, BC1Lipresso2011-303 und F1Arabella2011-156 (alle Mediane: 5,0). Mit und zwischen den anderen drei Nachkommenschaften gab es keine Unterschiede. Im Vorjahresversuch (*Microdochium*2013) konnten zwischen den einzelnen Mutterpflanzen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (Tabelle 26). Allerdings war die Resistenz von F1Barata2011-177 offenbar höher als die von

BC1Lipresso2011-303 (nur eine Wiederholung getestet). F1Arabella2011-156 zeigte sich im *Microdochium*2013 Versuch am tolerantesten, gefolgt von F1Aberavon2011-250, F1Barata2011-177 und F1WSCPX2011-22. Die F1Arabella2011-163 fiel durch den Schaderregerbefall in zwei Wiederholungen aus (Bonitur 0) und wies somit die geringste Resistenz auf. Die Reihenfolge der Mediane blieb im Versuch *Microdochium*2014 im Wesentlichen erhalten. Die F1Arabella2011-156 gehörte zu den vermeintlich resistentesten Pflanzen, F1Arabella2011-163 zu den anfälligsten (Tabelle 26).

Tabelle 26: *Microdochium*2013 und *Microdochium*2014; Mittelwerte und Mediane der Resistenzbonituren der Nachkommenschaften (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

Nachkommenschaft	Mittelwert (2013)	Median (2013)	Mittelwert (2014)	Median (2014)
Nk(F1Arabella2011-156)	6,0	6,0 a	5,3	5,0
Nk(F1Aberavon2011-250)	4,5	4,5 a	4,3	4,0
Nk(F1Barata2011-177)	4,5	4,5 a	3,0	3,0
Nk(F1WSCPX2011-22)	4,5	4,5 a	3,3	3,0
Nk(F1Arabella2011-143)	3,0	3,0 a	6,0	3,5
Nk(BC1Lipresso2011-303)	3,0	3,0 a	4,3	4,5
Nk(F1Arabella2011-163)	0,0	0,0 a	3,0	3,0

* Bonitur-Skala: 0 = Pflanze tot; 3 = ganze Triebe infiziert und abgestorben; 6 = nur Blätter infiziert und abgestorben; 9 = keine Infektion sichtbar

Es zeigte sich eine ausgeprägte Variabilität innerhalb der geprüften Nachkommenschaften. Jede Familie bot ausreichend Variation, um auf *Microdochium*-Resistenz selektieren zu können.

Drei verifizierte BC-Nachkommen (Mediane: BC1Arabella2013-1810 = 2; BC1Arabella2013-2478 = 2; BC1Arabella2013-2491 = 4) von F1Arabella2011-143 (Median: 6) konnten in dem Versuch getestet werden. Beim Vergleich dieser Nachkommen mit der Mutterpflanze und den Großeltern (Median: WD_Arabella1 = 5; WSC_Preval3 = 3) konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Nichtsdestotrotz ist bei diesen drei BC1-Pflanzen Variabilität in Bezug auf das Merkmal *Microdochium*-Resistenz vorhanden. Zwischen den anderen BC-Nachkommen und ihren Elternpflanzen gab es ebenfalls keine signifikanten Unterschiede. Das deutet darauf hin, dass das Resistenzniveau durch die Rückkreuzung mit WSC konstant aufrecht erhalten werden konnte.

8.3. Diskussion

Wiesenschwingel wies in beiden durchgeführten Experimenten eine signifikant geringere Widerstandsfähigkeit auf als die F1-Pflanzen und Weidelgras. Das Resistenzniveau der WD-Pflanzen blieb dabei in den F1-Pflanzen nahezu vollständig erhalten. Es konnten aus allen Familien inkl. der verifizierten BC-Pflanzen Genotypen selektiert werden, die eine vergleichbar hohe Resistenz wie WD-Genotypen aufwiesen und daher für weitere Rückkreuzungs- und Selektionsschritte aussichtsreiche Kreuzungspartner darstellen. Generell gilt WSC als resistenter gegenüber Schneeschimmel als WD (Ghesquière et al., 2010b; Schubinger, 2014). In den vorliegenden Experimenten konnte dies nicht bestätigt werden. Bei Lenuweit & Gharadjedaghi (2002) findet sich eine Aufstellung resistenter WSC-Genotypen, von einer allgemeinen Resistenz wurde dort nicht berichtet. Dies deutet darauf hin, dass das Resistenzniveau bei WSC durchaus variieren kann. Im Hinblick auf Winterhärte zeichnet sich insbesondere die Sorte WD_Ivana aus. Das erklärt das hohe Resistenzniveau für WD in den vorliegenden Versuchen, denn die Mehrzahl der getesteten WD-Pflanzen stammten von dieser Sorte ab. In der Beschreibenden Sortenliste des Bundessortenamtes (2013) ist WD_Ivana bzgl. des Merkmals „Neigung zur Auswinterung“ mit der Ausprägungsstufe 4 (Skala 1-9) registriert, ebenso die Sorten WD_Arabella und WSC_Cosmolit; mithin zeigen diese Sorten eine überdurchschnittliche Winterhärte. Der überwiegende Teil, der hier getesteten WSC-Pflanzen waren Genotypen der Sorte WSC_Cosmolit. Möglicherweise besitzt diese Sorte ein mit WD vergleichbares Resistenzniveau. Es kann auch nicht ausgeschlossen werden, dass sich die WSC-Pflanzen vor dem Versuch weniger gut etablieren konnten und so anteilig mehr befallene Triebe aufwiesen. Die unterdurchschnittliche Leistung der WSC-Pflanzen in diesen Versuchen sollte daher nicht überinterpretiert werden. Letztendlich wiesen die F1-, BC1-, BC2-Pflanzen ein gutes Resistenzniveau auf, was weitere Selektionsschritte möglich und sinnvoll macht.

Beim Vergleich der Nachkommenschaften in den Versuchen *Microdochium*2014 und Frost2014 stellten sich die Nachkommenschaften Nk(F1Arabella2011-156), Nk(F1Aberavon2011-250) und Nk(BC1Lipresso2011-303) als die vitalsten heraus. Die Nk(F1Barata2011-177) überzeugten zwar im Versuch Frost2014, gehörten im Versuch *Microdochium*2014 jedoch zu den anfälligsten Nachkommenschaften (Tabelle 27).

Tabelle 27: Übersicht der Leistung der Nachkommenschaften in Frost2014 und *Microdochium*2014

	Überlebensrate Frost2014 (Mittelwert)	<i>Microdochium</i>2014 Bonitur (Median)
Nk(F1Arabella2011-156)	11,7 %	5,0
Nk(F1Aberavon2011-250)	10,0 %	4,0
Nk(BC1Lipresso2011-303)	9,3 %	4,5
Nk(F1Barata2011-177)	12,3 %	3,0

9. Resistenz gegen *Xanthomonas translucens* pv. *graminis*

Die bakterielle Welke *Xanthomonas translucens* pv. *graminis* verursacht chlorotische Verfärbungen bis hin zu Nekrosen an den Blättern. Im Extremfall sterben die Pflanzen komplett ab. Dieses Bakterium befällt vor allem *L. multiflorum* und *L. multiflorum* var. *westerwoldicum*. Aber auch Dt. Weidelgras und Wiesenschwingel sind von dieser Krankheit betroffen, wobei WSC allgemein eine höhere Resistenz aufweist. Die Übertragung der Bakterien erfolgt hauptsächlich mechanisch, beispielsweise durch kontaminierte Werkzeuge beim Schnitt. Unter trockenen Bedingungen werden die Symptome verstärkt sichtbar und es kommt zu ausgeprägten Welkesymptomen (Schubinger, 2016d). Bei Sorten des Typs *Festulolium braunii* wurde ein vermehrter Befall mit Bakterienwelke festgestellt (Suter et al., 2007). Die Kreuzung von *L. multiflorum* und *F. pratensis* führte somit nicht per se zu einer verbesserten Resistenz, sondern selbst im Vergleich zu der anfälligeren Art zu einer unbefriedigenden Resistenz der *Festulolium* Sorten. Aus diesem Grund wurde im Zuchtprogramm der LfL schon in sehr frühen Generationen (BC1 und BC2) das Selektionskriterium Resistenz gegenüber Bakterienwelke eingeführt. Während der Projektlaufzeit wurde ein *Xanthomonas*-Versuch durchgeführt.

9.1. Material und Methoden Versuch *Xanthomonas*2014

Im Winter 2014/2015 wurde ein Experiment zur Erfassung der Resistenz gegenüber dem Erreger der Bakterienwelke *Xanthomonas translucens* pv. *graminis* durchgeführt (*Xanthomonas*2014). Das Experiment wurde im Oktober 2014 parallel zum Frosttoleranz- und *Microdochium*-Resistenztest im Gewächshaus angelegt. Das getestete Pflanzenmaterial war teilweise identisch mit den in Juwi7 geprüften Genotypen, die Nachkommenschaft von fünf F1- und einer BC1-Pflanze. Die Versuche wurden mit Klonteilen in drei Wiederholungen durchgeführt, je 51 Pflanzen aus drei Sorten dienten als Standards. Die Klone etablierten sich unter den gleichen Umweltbedingungen wie im *Microdochium*- und Frostversuch. Die Pflanzen wurden Ende Oktober 2014 verklont und in 54er Quickpot-Topfplatten gepflanzt (48 Pflanzen pro Quickpot, eine Reihe blieb frei, pro Pflanzloch Durchmesser: 55 mm; Tiefe: 50 mm). Vor der Infektion wurden alle Pflanzen auf die Ausprägung des jüngsten Blattes bonitiert. Infiziert wurden die Pflanzen Ende Januar 2015 (nach 2 Monaten Etablierungszeit, 2 Rückschnitten während der Etablierung und einmaliger Düngung mit Wuxal Universaldünger 30 kg N/ha). Das Inokulum bestand aus einer Suspension als Mischung der Stämme LfL05/81/2a *Xanthomonas translucens* pv. *graminis*, isoliert an der LfL von Wiesenschwingel und Weidelgras sowie LfL09/66/4a *Xanthomonas translucens* pv. *graminis*, isoliert an der LfL von Wiesenschwingel. Die Bakterienkulturen wurden 48 h vor der Herstellung auf Agarplatten überimpft. Zur Herstellung der Suspension wurden die Platten mit 10 ml PB Puffer pH 7,2 abgeschwemmt und in Phosphat Puffer pH 7,2, 0,85% NaCl-Lösung überführt, bis die optische Dichte der Suspension 0,278 betrug (Bestimmung mit Spektralphotometer Bio-Rad Smart Spec Plus). Die Infektion der

Pflanzen fand mit Hilfe von Scheren statt, die vor dem Schnitt der Blätter in Bakteriensuspension getaucht wurden. Anschließend wurden die Pflanzen mit Folie auf Holzrahmen abgedeckt, um die Vermehrung und Ausbreitung der Bakterien bei ausreichender Feuchtigkeit zu fördern. Die Verteilung der Bakterien findet bevorzugt in wässriger Lösung statt. Die Bonitur der Resistenz (Noten 1 bis 9; Boniturnote 1 = stark befallene Pflanze; Boniturnote 9 = Pflanze ohne Symptome) erfolgte zwei Monate nach der Infektion.

9.2. Ergebnisse Versuch Xanthomonas2014

In der *Xanthomonas*-Resistenzprüfung zeigte sich die Sorte Var_WD_Arabella (Median 3,0) am anfälligsten, die im Mittel höchste Resistenzausprägung war bei Var_WSC_Cosmolit (Median 7,0) zu beobachten. Das getestete BC1- und BC2-Material zeigte insgesamt eine intermediäre Resistenzausprägung, zwischen diesen beiden Extrema. Die Sorte Var_WD_Ivana war signifikant resistenter (Median 5,5) als Var_WD_Arabella (Abbildung 32).

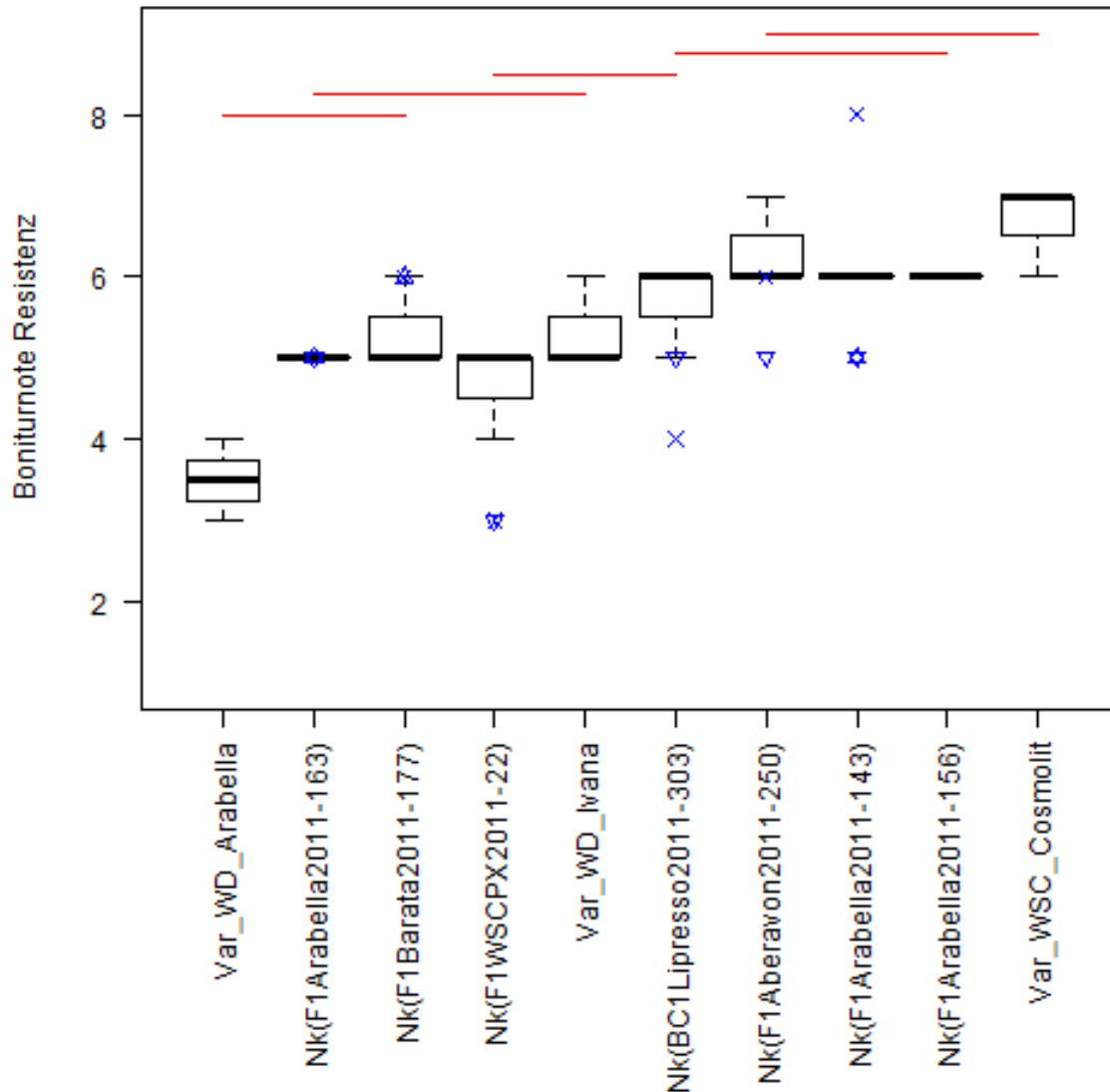


Abbildung 32: Xanthomonas-Resistenz der Nk und Standardsorten dargestellt als Box-Whisker-Plots. Boxplots unter den gleichen horizontalen Balken zeigen nicht signifikante Unterschiede. Mutterpflanzen und Großeltern* der Nk als Punktdiagramm zum Vergleich (Versuch Xanthomonas2014, Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

* Mutterpflanze: Kreuz; WD Großelter: Dreieck Spitze nach unten; WSC Großelter: Dreieck Spitze nach oben.

Die Nachkommen wurden, wenn möglich, mit der Mutterpflanze und den Großelterpflanzen verglichen. Ausgewertet wurden nur solche Pflanzen, die in allen drei Wiederholungen bonitiert werden konnten. Vier von 30 Nachkommen von F1Aberavon2011-250 d. h. BC1Aberavon2013-2445, -2407, -2437 und -930 (Median jeweils 7) wiesen eine signifikant höhere Resistenz auf, als die Mutterpflanze F1Aberavon2011-250 (Median: 4) und die Großmutter WD_Aberavon3 (Median: 5), die sich nicht signifikant voneinander unterschieden. Keine der Nachkommen war signifikant schlechter als diese beiden Vorfahren (kleinster Median: 5).

Drei von vier verifizierten BC-Nachkommen der F1Arabella2011-143 wurden geprüft (Median: 6) und das war somit auch die Familie mit den meisten verifizierten BC-Pflanzen im Versuch. BC1Arabella2013-1808 (Median: 7) wies die höchste Resistenz auf und unterschied sich signifikant von WD_Arabella1 (Großmutter, Median 5). Die Mutterpflanze war nicht signifikant anfälliger als der Nachkomme. Die anderen BC-Pflanzen, BC1Arabella2013-2525 (Median: 6) und -2481 (Median: 6), hatten ein ähnlich hohes Resistenzniveau wie die Mutterpflanze und WD_Arabella1.

Der verifizierte BC-Nachkomme BC1WSCPX2013-2858 (Median: 3) von F1WSCPX2011-22 (Median: 3) zeigte im Vergleich zu den anderen Nachkommen der Mutterpflanze ein geringes Resistenzniveau. Die BC2Lipresso2013-2378 (Median: 8), eine der resistentesten Pflanzen in dieser Familie, konnte nicht mit der Mutterpflanze verglichen werden, da diese im Versuch ausfiel.

Insgesamt wurde beim Vergleich mit den Elternpflanzen eine hohe Variation, d.h. sowohl eine geringere als auch eine höhere Resistenz im Vergleich zu den Initialkreuzungseltern und direkten Elternpflanzen festgestellt. Dies verdeutlicht die Notwendigkeit der Selektion von *Xanthomonas*-resistenten Einzelpflanzen zwecks züchterischer Verbesserung dieses Merkmals. In den Rückkreuzungsnachkommenschaften mit WSC wurde die Resistenz im großen und ganzen aufrecht erhalten.

9.3. Diskussion

Insgesamt zeigte sich bei dem Vergleich der gesamten Nachkommenschaften, dass es möglich ist, das hohe Niveau der WSC-*Xanthomonas*-resistenz bei Einkreuzung von WD-Genomanteilen aufrecht zu erhalten. Da WSC als resistenter gegenüber Bakterienwelke gilt, sollte sich durch die Rückkreuzung mit WSC die Resistenz sukzessive erhöhen. Sie hatte sich in den meisten Fällen zwar nicht wesentlich verbessert, blieb aber mindestens auf dem Niveau der Mutterpflanze. Bei genauerer Betrachtung der Einzelpflanzen zeigte sich eine hohe Varianz innerhalb der Nachkommenschaften. Es konnten sowohl zwischen, als auch innerhalb der Familien Unterschiede festgestellt werden. Innerhalb der Familien gab es Pflanzen, die sich sowohl im positiven als auch im negativen Sinn von den Vorgängergenerationen unterschieden. Der *Xanthomonas*-Versuch lieferte im Gegensatz zum *Microdochium*-Versuch Ergebnisse, die sich mit vielen Felddaten zu den Arten Dt. Weidelgras und Wiesenschwingel decken und das hohe *Xanthomonas*-Resistenzniveau von WSC bestätigen. Dazu beigetragen hat vermutlich auch, dass sich in diesem Versuch die Pflanzen aufgrund des größeren Substratvolumens besser etabliert hatten als im *Microdochium*-experiment.

10. Phänotypisierung der Hybriden und Elternpflanzen im Freiland

Gewächshausversuche sind dafür geeignet, Merkmale von Einzelpflanzen unter semi-kontrollierten Bedingungen möglichst genau zu erfassen. Um die Leistung unter natürlichen Bedingungen, die zumeist von mehreren miteinander in Wechselwirkung tretenden Faktoren (Geographie, Boden, Witterung) bestimmt wird, zu erheben sind Freilandversuche unerlässlich. Daher wurde mit einer Reihe von Kreuzungsnachkommen auch ein Beobachtungsanbau im Freiland angelegt, an dem verschiedene agronomisch bedeutende Merkmale, wie beispielsweise der Zeitpunkt des Ährenschiebens, die Massenbildung zu verschiedenen Zeitpunkten, die Winterhärte sowie die Anfälligkeit für Kronenrost durch Beobachtung in Form von Bonituren erhoben wurden. Auch diese Daten liefern eine wertvolle Grundlage für die Selektion geeigneter Kandidaten, die in der weiteren Neuzüchtung verwendet und weiter geführt werden sollten.

10.1. Material und Methoden

Die im Gewächshaus erzeugten Hybriden wurden in jedem Folgejahr verklont und an zwei Standorten in der unmittelbaren Umgebung der LfL in Freising als Individuen ausgepflanzt. Ab dem Jahr 2011 wurden die Pflanzen randomisiert als Standardanlage gepflanzt. Jeweils eine Pflanzung diente überwiegend der Erzeugung von Rückkreuzungssaatgut in Isolierparzellen, diese wurden jedoch auch für bestimmte Merkmale bonitiert und die Pollendonatoren (WSC) so auch als Vergleichstandards genutzt (Kr2011Pu = Isolierparzelle zur Samenernte an den Pflanzen aus Kreuzungserfolg 2011 am Standort Pulling, Kr2012Pu = Isolierparzelle zur Samenernte an den Pflanzen aus Kreuzungserfolg 2012 am Standort Pulling, Kr2013Pu = Isolierparzelle zur Samenernte an den Pflanzen aus Kreuzungserfolg 2013 am Standort Pulling). Die jeweils andere Pflanzung diente der vegetativen Erhaltung von Eltern-, F1- und BC1-Pflanzen: die Eltern wurden zusammen mit Einzelpflanzen aus Dt. Weidelgras- und Wiesenschwingel-Sorten als Standards bonitiert, wobei hier regelmäßige Schnitte erfolgten, so dass die Pflanzen nicht zur Blüte kamen (Ph2011Schl = Pflanzung zur Phänotypisierung des Kreuzungserfolgs 2011 auf Standort Schlüter, Ph2012La = Pflanzung zur Phänotypisierung des Kreuzungserfolgs 2012 am Standort Labor, Ph2013La = Pflanzung zur Phänotypisierung des Kreuzungserfolgs 2013 am Standort Labor). Im Jahr 2014 konnten bereits Pflanzen der Samenernte 2012 mit in die Anlagen integriert und beobachtet werden. Bonituren wurden zum Zeitpunkt größtmöglicher Differenzierung für die Merkmale MBANF (Massenbildung in der Anfangsentwicklung), MBNAWUS (Massenbildung im Nachwuchs), ZPAESCH (Zeitpunkt Ährenschieben), MNVWI (Mängel vor Winter), MNNWI (Mängel nach Winter), Microdochium- und Rostbefall erhoben. Die Bonitur erfolgte anhand der Boniturnoten 1 – 9 gemäß den „Richtlinien für die Durchführung von landwirtschaftlichen Wertprüfungen und Sortenversuchen“ und den „Richtlinien zur Prüfung der Unterscheidbarkeit, Homogenität

und Beständigkeit“ (Bundessortenamt, 2000; UPOV, 2002). Abgestorbene Pflanzen erhielten die Boniturnote „0“. In den Anlagen Kr2011Pu und Kr2012Pu wurden die Merkmale MBANF, MNVWI, MNNWI, das Auftreten von Krankheiten und der Zeitpunkt des Ährenschiebens bonitiert, so dass diese Merkmale in zwei Wiederholungen erfasst wurden. Bei alle anderen Merkmalen, die in den Anlagen Ph2011Schl, Ph2012La und Ph2013La erhoben wurden, war die Erfassung unwiederholt. Zudem traten Schwarz- und Kronenrost nicht an jedem Standort und in jedem Jahr gleich stark ausgeprägt auf und wurden nur bei ausreichender Differenzierung erfasst.

10.2. Ergebnisse der Phänotypisierung unter Freilandbedingungen

10.2.1. Zeitpunkt des Ährenschiebens

Mit der Bonitur des Ähren- bzw. Rispenschiebendatums nach dem 1. April werden vor allem WD-Sorten, die eine hohe Sorten-Variation aufweisen, in verschiedene Reifegruppen unterteilt. Unterschiedliche Reifegruppen in Grünlandbeständen erhöhen die Nutzungsflexibilität. Die WSC-Sorten beginnen meist zusammen mit den frühen WD-Sorten mit dem Rispenschieben, weisen aber eine wesentlich geringere Variabilität auf. Die WSC-Sorte Kolumbus stellt hier eine Ausnahme dar und beginnt erst später mit dem Rispenschieben (Bundessortenamt, 2013). Eine erhöhte Variabilität in dem erstellten *Festulolium*-Material sollte somit auch in diesem Merkmal gut erkennbar sein.

Zeitpunkt des Ährenschiebens in der Isolierparzelle zur Samenernte an den Pflanzen aus Kreuzungserfolg 2011 am Standort Pulling (Kr2011Pu)

Der Zeitpunkt des Ährenschiebens wurde im Frühjahr 2014 bonitiert (ZPAESCH2014). Im März diesen Jahres wurden bereits 18 Vegetationstage (Temperatur $\geq 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) gezählt. Der April 2014 war in Freising im Mittel $2,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ wärmer als der langjährige Durchschnitt und hatte bereits 26 Vegetationstage. Im Gegensatz dazu lag der Niederschlag im April (29,9 mm) unter dem langjährigen Mittel (55,5 mm). Der Mai wies durchschnittliche Temperaturen ($12,1\text{ }^{\circ}\text{C}$) auf, war aber von verstärktem Niederschlag geprägt (166,7 mm, langjähriges Mittel 89,6 mm). Der Juni war wiederum sehr trocken (40,4 mm, langjähriges Mittel 103,7 mm) und etwas wärmer ($16,7\text{ }^{\circ}\text{C}$, langjähriges Mittel $15\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, 2016). Die F1(WD_IvanaKlon1)-Pflanzen, das ist Zuchtmaterial der Sorte WD_Ivana, begannen im Mittel 42 Tage nach dem ersten April mit dem Ährenschieben und zeigten damit in der Anlage Kr2011Pu das früheste ZPAESCH2014. Die fünf Familien mit den meisten Nachkommen wurden mittels eines LSD-Tests verglichen. Die F1(WSC_PX42)-Pflanzen begannen dabei im Mittel als erste mit dem Ährenschieben (Tabelle 28). Die Häufigkeitsverteilung zeigt jedoch, dass diese Nachkommen eine sehr hohe Varianz aufwiesen, ebenso wie die F1(WD_Iduna)- und BC1(WD_Lipresso)-Pflanzen. Das deutet darauf hin, dass durch die artübergreifenden Kreuzungen eine starke phänotypische Differenzierung des Merkmals eingetreten ist.

Tabelle 28: Zeitpunkt des Ährenschiebens (ZPAESCH) in Tagen nach dem 1. April 2014 ausgewählter Familien in der Isolierparzelle zur Samenernte des Kreuzungserfolgs 2011 in Pulling. Verschiedene Buchstaben geben signifikante Unterschiede an (LSD-Test, $p < 0,05$)

Prüfglied	Mittelwert ZPAESCH
BC1(F1FEL2005-37)	52 a
F1(WD_Arabella1)	51 ab
F1(WD_IdunaKlon25)	48 bc
BC1(F1Lipresso2008-2)	48 bc
F1(WSC_PX42)	46 c

Zeitpunkt des Ährenschiebens in der Isolierparzelle zur Samenernte an den Pflanzen aus Kreuzungserfolg 2012 am Standort Pulling (Kr2012Pu)

Im Frühjahr 2015 waren die Abweichungen vom langjährigen Mittelwert bezüglich der Klimadaten nicht so groß wie in 2014. Die Monate März bis Mai waren ca. 1 °C wärmer als das langjährige Mittel des jeweiligen Monats (LfL, 2016). In diesem Jahr begannen im Mittel die Nachkommenschaften F1(WD_Ivana) (39 Tage), F1(WSC_PX) (39 Tage) und F1(WD_PX) (42 Tage) als erste mit dem Ährenschieben. Die Nachkommen von BC1(WD_Niata) (57 Tage), F1(WD_Matiz) (54 Tage), F1(WD_Skiron) (53 Tage) und BC1(F1FEL2005-37) (51 Tage) bildeten das Schlusslicht. Auch hier war zu erkennen, dass die Mutter-Sorte einen starken Einfluss auf den Zeitpunkt des Ährenschiebens der Nachkommen hatte. Die Sorten WD_Matiz und WD_Skiron gehörten zu den sehr späten Weidelgräsern, während die Sorte WD_Ivana zu den frühesten zählte (Bundessortenamt, 2011). Zum Vergleich begannen die WSC-Sorten, die als Pollendonatoren fungierten, im Mittel zwischen 41 und 53 Tage nach dem ersten April mit dem Rispenschieben (WSC_Anth2: 47 Tage; WSC_Cosmolit_10: 49 Tage; WSC_Cosmolit8: 48 Tage; WSC_Kolumbus7: 53 Tage; WSC_Pradel17: 46 Tage; WSC_Preval18: 41 Tage).

Zeitpunkt des Ährenschiebens in der Isolierparzelle zur Samenernte an den Pflanzen aus Kreuzungserfolg 2013 am Standort Pulling (Kr2013Pu)

In dieser Pflanzung befanden sich Wiesenschwingel zusammen mit F1-, BC1- und BC2-Pflanzen. Die F1-Nachkommen von WSC_PX1 [F1(WSC_PX15): 52 Tage; F1(WSC_PX16): 41 Tage] wiesen eine sehr hohe Varianz auf. Die acht Nachkommen der Kreuzung WSC_Preval16 x WD_Ivana5 (36 Tage) schoben in diesem Feldversuch mit am frühesten die Ähren. Bei den Nachkommen der Mutterpflanzen WD_Ivana [F1(WD_Ivana5): 36 Tage; F1(WD_Ivana1): 40 Tage] und WD_Lipresso [F1(WD_Lipresso1): 43 Tage; F1(WD_Lipresso2): 44 Tage] war das Ährenschieben ähnlich früh. Trotzdem zeigten die Nachkommen von WD_Ivana tendenziell ein früheres Ährenschieben als die Nachkommen von WD_Lipresso. Die sehr frühe Sorte WD_Ivana

brachte sowohl als Vater als auch als Mutter die frühesten Nachkommen hervor. In der Beschreibenden Sortenliste ist WD_Ivana als sehr frühe und WD_Lipresso als sehr früh bis früh eingestuft (Bundessortenamt, 2013). Die Rangfolge der Eltern blieb somit auch in den Nachkommenschaften erhalten. Die Mutterpflanze WSC_Cosmolit4 wurde mit WD_Ivana1 [F1(WSC_Cosmolit4): 40 Tage] gekreuzt, während die anderen WSC_Cosmolit Mutterpflanzen mit der mittel bis späten Sorte WD_Arabella gekreuzt worden waren [F1(WSC_Cosmolit5): 54 Tage; F1(WSC_Cosmolit9): 46 Tage]. Daher waren letztere Nachkommen auch insgesamt später. Die gleichen Beobachtungen wurden mit der Kreuzung von WSC-Zuchtmaterial gemacht. Diejenigen Nachkommen, die aus Kreuzungen mit WD_Lipresso entstanden waren, begannen früher mit dem Ährenschieben [F1(WSC_PX16): 41 Tage; F1(WSC_PX42): 46 Tage; F1(WSC_PX44): 42 Tage] als die Nachkommen von der späten Sorte WD_Aberavon [F1(WSC_PX15): 52 Tage]. Somit deutete sich in der F1 eine hohe Erblichkeit dieses Merkmals an, mit einer potenziellen Erhöhung der Variabilität. Da die Varianz des Merkmals ZPAESCH bei Wiesenschwingel allgemein nicht sehr groß ist, konnte davon ausgegangen werden, dass der beobachtete Effekt hauptsächlich auf den Genotyp der WD-Sorte zurückzuführen war. Im Mittel begannen die WSC-Sorten in diesem Versuch erst nach 51 Tagen mit dem Rispschieben (WSC_Anth2: 45 Tage; WSC_Cosmolit5: 47 Tage; WSC_Kolumbus1: 51 Tage; WSC_Pradel17: 51 Tage; WSC_Preval18: 48 Tage; WSC_Pravel8: 47 Tage).

Bei den BC-Nachkommen von WD_Ivana [BC1(Ivana 2010-36): 49 Tage; BC1(WD_Ivana) aus Freilandkreuzung: 42 Tage], WD_Lipresso [BC2(BC1Lipresso2011-304): 44 Tage; BC1(WD_Lipresso) aus Freilandkreuzung: 42 Tage], WD_Niata [BC1(WD_Niata) aus Freilandkreuzung: 47 Tage], BC1(WD_Respect) aus Freilandkreuzung (56 Tage), BC1(WD_Orleans) aus Freilandkreuzung (59 Tage), BC1(WD_Matiz) aus Freilandkreuzung (53 Tage) und BC1(WD_Aberavon) [BC1(F1Aberavon2011-245): 54 Tage] blieb die Eingruppierung des WD-Elters erhalten. Frühe WD-Sorten brachten frühe Nachkommen hervor und vice versa. Nur die Nachkommen von WD_Orleans begannen etwas später mit dem Ährenschieben (ZPAESCH) als die Nachkommen von WD_Matiz, obwohl diese grundsätzlich eine sehr späte WD-Sorte ist (Bundessortenamt, 2011). Die Ergebnisse zeigten jedoch, dass auch in der BC-Generation der Einfluss der WD-Sorten bezüglich des Merkmals ZPAESCH noch gut zu erkennen war.

Zeitpunkt des Ährenschiebens der Pflanzen aus dem Versuch Juwi7

Die Vernalisation der aufgelaufenen potentiellen BC-Pflanzen aus dem Versuch Juwi7 musste aus Platzgründen in zwei Chargen erfolgen. Der erste Teil kam am 19.01.2015 aus der Vernalisationskammer, wurde in größere Töpfe gepflanzt und im Gewächshaus weiter kultiviert (Temperatur 16 °C, Licht vom 19.01.2015 bis 03.02.2015 8:00–18:00 Uhr bei ≤ 5 kLux, ab 03.02.2015 05:00–21:00 Uhr mit Tageslichtlampen ab ≤ 10 kLux Außenlicht). Insgesamt 321 der 1820 geprüften Pflanzen zeigten bis zum 24.04.2015

keinerlei Tendenz zum Schossen und konnten daher nicht bewertet werden. Laut Bundessortenamt (2009) beginnen die frühen Weidelgrassorten normalerweise 24 Tage nach dem 1. April mit dem Ährenschieben, die spätesten Sorten dagegen bis zu 70 Tage nach dem 1. April. Der Tag an dem die Pflanzen aus der Vernalisationskammer kamen wurde im Versuch als Pendant zum 1. April unter Freilandbedingungen gesetzt. Die Pflanzen hatten im Gewächshaus 90 Tage Zeit zum Ährenschieben. Es konnte also davon ausgegangen werden, dass die Bedingungen in der Vernalisationskammer keinen ausreichenden Vernalisationsreiz bei diesen Pflanzen ausgelöst hatten oder die Tageslichtbedingungen (Lichtintensität und -länge) nicht ausreichten. Die Abbildung 33 zeigt, dass es durchaus Unterschiede zwischen den Nachkommenschaften der Mutterpflanzen unterschiedlicher Sorten gab. Allerdings korrelierte das nicht unbedingt mit der Reihenfolge des Ährenschiebens (ZPAESCH) der Sorten, zu der die Mutterpflanze gehörte (nach Bundessortenamt, 2009). So begannen die Nk(F1WD_IvanaKlon), Nachkommenschaft der Sorte WD_Ivana, im Mittel als letzte mit dem Ährenschieben, obwohl WD_Ivana eine sehr frühe Sorte ist. Die Nk(F1WD_Barata) begann später mit dem Ährenschieben als die Nk(F1WD_Niata) und Nk(F1WD_Arabella).

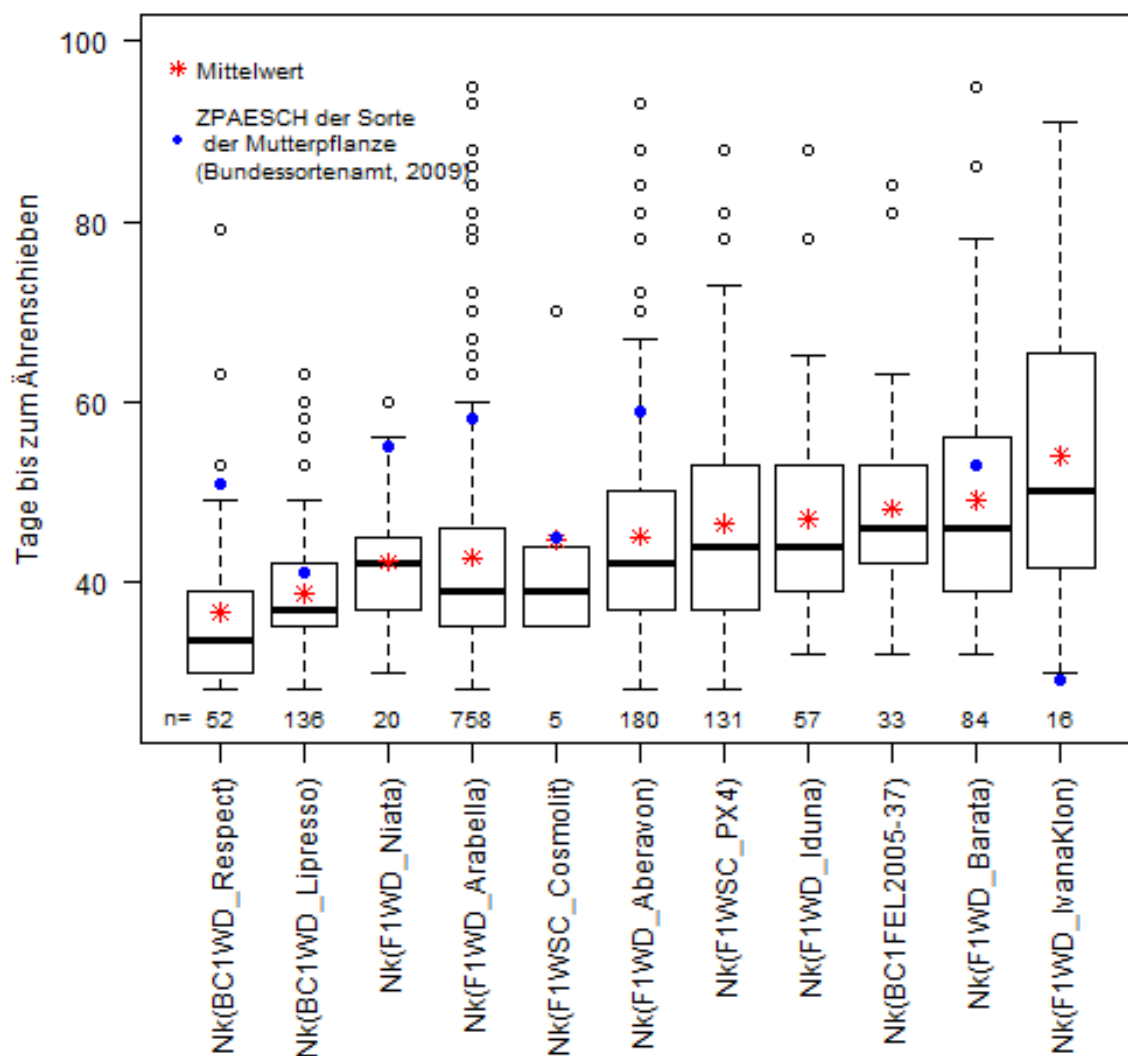


Abbildung 33: Zeit bis zum Ährenschieben der im Gewächshaus vernalisierter Pflanzen (Versuchsabschnitt 1) gruppiert nach Sorte der Mutterpflanzen

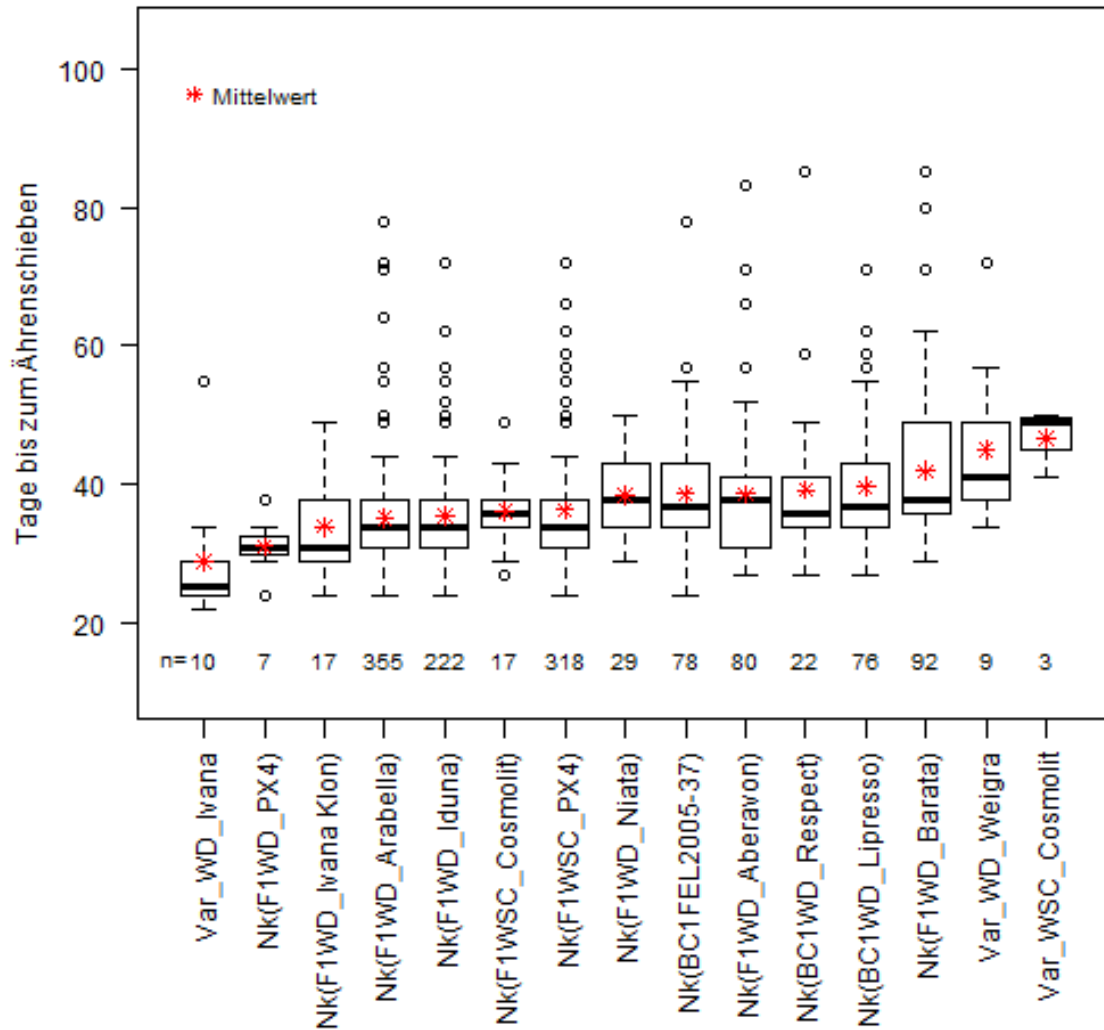


Abbildung 34: Zeit bis zum Ährenschieben der im Gewächshaus vernalisierter Pflanzen (Versuchsabschnitt 2) gruppiert nach Mutterpflanzen bzw. Sorten der Mutterpflanzen zzgl. drei Standardsorten

Im Versuchsabschnitt 2 kamen lediglich 15 von 1570 Pflanzen nicht zum Ährenschieben. Diese Charge stand zwar in einem anderen Gewächshaus, aber gemeinsam in einer Großkoje unter gleichen Temperaturbedingungen. Die Lichtintensität wurde erhöht (17.02.2015–02.03.2015: 08:00–18:00 Uhr bei ≤ 10 kLux Außenlicht; ab 02.03.2015 05:00–21:00 Uhr bei ≤ 5 kLux). Die Nachkommen von WD_Barata (42 Tage) begannen im Mittel als letzte mit dem Ährenschieben (Abbildung 34). Die Nachkommenschaft Nk(F1WD_IvanaKlon) (34 Tage), war dagegen viel früher als bei der ersten Charge und die Reihenfolge der ersten Prüfung blieb nicht erhalten. Nk(BC1WD_Respect) (39 Tage) und Nk(BC1WD_Lipresso) (40 Tage) waren im zweiten Versuch wesentlich später, was im Fall der Nachkommen von Nk(BC1WD_Lipresso) überraschte. Insgesamt dauerte es beim ersten Versuch länger bis die Pflanzen mit dem Ährenschieben begannen als im zweiten Versuch. In letzterem wurden zusätzlich die Sorten Var_WD_Ivana, Var_WD_Weigra und Var_WSC_Cosmolit geprüft. Var_WD_Ivana begann als erste mit

dem Ährenschieben (29 Tage), Var_WD_Weigra (45 Tage) im Mittel etwas früher als Var_WSC_Cosmolit (47 Tage). Dies ging nicht konform mit den Angaben des Bundessortenamts (2009). Hier begann Var_WSC_Cosmolit 45 Tage nach dem 1. April mit Ährenschieben, Var_WD_Weigra erst 54 Tage nach dem 1. April. Da die zweite Charge wesentlich schneller und auch fast alle Pflanzen mit Ährenschieben begannen, müssen beim Vergleich der beiden Versuchsabschnitte vor allem die Daten des ersten Versuchsabschnitts mit Vorsicht bewertet werden.

Insgesamt kann bezüglich des Merkmals ZPAESCH festgehalten werden, dass die geprüften Wiesenschwingel verhältnismäßig wenig Variation aufwiesen, während die untersuchten Deutschen Weidelgräser eine weite Spannbreite von frühen bis späten Blühzeitpunkten zeigte. Für die Kreuzungsprodukte konnte ein starker Einfluss der Blühzeitpunkte der Eltern festgestellt werden, wenngleich die Kreuzungsnachkommen im Mittel stets zwischen den beiden Elternarten lagen. Innerhalb der Familien wurde Variation für den Zeitpunkt Ährenschieben beobachtet. Somit konnte durch die Introgression von Deutsch Weidelgras-Genomanteilen in das Wiesenschwingel-Genom der untersuchten Pflanzen die Möglichkeit, die Variation im Zeitpunkt Ährenschieben gezielt zu erhöhen, um ggf. spätere Sortentypen bei Wiesenschwingel zu züchten.

10.2.2. Phänotypische Ausprägung des Blütenstandes

Neben der arttypischen Ausprägung der Blattanlagen (gerollt bei Wiesenschwingel, gefaltet bei Deutschem Weidelgras), ist der Aufbau des Blütenstandes ein wesentliches Bestimmungsmerkmal der Gräser. Während der Blütenstand von WD eine Ähre darstellt (Abbildung 36), ist der Blütenstand von WSC eine Rispe und weist zahlreiche Verzweigungen auf (Klapp & Opitz v. Boberfeld, 2004). Kommen die Pflanzen zur Blüte, so kann auch der Phänotyp des Blütenstandes dafür herangezogen werden, erfolgreiche Kreuzungen und Rückkreuzungen mit WSC zu selektieren. Während die F1-Pflanzen meist eine intermediäre Form des Blütenstandes ausbildeten, sollte dieser mit zunehmenden WSC-Rückkreuzungsanteilen dem Rispen-Phänotyp von WSC immer näher kommen.

Von 36 BC1-Pflanzen aus der Isolationsparzelle Kr2013Pu konnten vier Pflanzen identifiziert werden, deren Blütenstand nicht von WSC zu unterscheiden war. Zwanzig Pflanzen hatten einen unverzweigten Blütenstand und ähnelten damit WD sehr stark oder wiesen mehr Blütchen pro Ährchen auf als für WD (ca. 6 Blüten pro Ährchen) üblich (Abbildung 35 rechts) (Klapp & Opitz v. Boberfeld, 2004). Zwölf Pflanzen zeigten einen rispenähnlichen Blütenstand. Alle Pflanzen, deren Blütenstand als WSC-typisch bonitiert wurde, besaßen auch gerollte Blattanlagen und bestätigten damit das Ergebnis dieser Bonitur. So wurden bereits in der BC1-Generation Pflanzen identifiziert, die anhand der phänotypischen Unterscheidungsmerkmale kaum noch von Wiesenschwingel zu unterscheiden waren. Nur vier der zwanzig Pflanzen deren Blütenstand optisch einer WD-Ähre ähnelte, wiesen gerollte Blattanlagen auf. In den meisten Fällen waren die

Blattanlagen gefaltet. Zwei der zwölf Pflanzen mit intermediärem Blütenstand wiesen gefaltete Blattanlagen auf. Im Jahre 2013 konnten auch im Gewächshaus BC1- und BC2-Kreuzungen mit Hilfe des *Embryo Rescue* produziert werden. Alle BC1-Pflanzen wiesen gerollte Blattanlagen auf. Drei von 12 BC1-Pflanzen waren bezüglich ihres Blütenstandes nicht von WSC zu unterscheiden (Abbildung 37). BC1WSCPX2013-98 war eine dieser Pflanzen, die zusätzlich eine wiederhergestellte Pollenfertilität zeigte. Deren Mutterpflanze F1WSCPX2011-103 hatte insgesamt fünf Nachkommen: Zwei Pflanzen bildeten geknäulte Ähren (Abbildung 35 links), die sie offenbar von der Mutter geerbt hatten. Die anderen drei Nachkommen dieser Mutterpflanze wiesen eine WSC-Rispe bzw. eine WD-Ähre mit langen Ährchen auf (Abbildung 35 rechts). Die fünf Nachkommen hatten somit zweimal WSC-Rispen, zweimal geknäulte Ähren und einmal eine WD-Ähre mit langen Ährchen. Weitere WSC Rispen wurden an drei F1-Pflanzen (darunter zwei Nachkommen von WSC_Cosmolit) beobachtet.



Abbildung 35: Die am häufigsten auftretenden Blütenstandstypen von links nach rechts: geknäulte Ähre, leicht geknäulte Ähre, verzweigte Ähre, Ähre mit langen Ährchen (Seemann, LfL)



Abbildung 36: links: WSC-Rispe; rechts: typische Ähre von Deutschem Weidelgrass (LfL)



Abbildung 37: Mehrfach verzweigte Rispe einer BC1-Pflanze (WSC-typisch)

In der Isolationsparzelle Kr2012Pu konnten 10 BC-Pflanzen des Kreuzungserfolgs 2012 ebenfalls auf ihre Ährenform bonitiert werden. Zwei davon waren BC2-Nachkommen von F1FEL2005-37 und optisch nicht von WSC zu unterscheiden. Ein weiterer BC1-Nachkomme von F1FEL2005-37 wies die gleiche Rispenform auf. Ein anderer Nachkomme von F1FEL2005-37 hatte eine sehr degenerierte Ähre, die nur sehr wenige Ährchen aufwies. Die übrigen BC1-Nachkommen, die alle aus Kreuzungen mit WD_Niata entstanden waren, zeigten die typische Ährenform des Deutschen Weidelgrases (Abbildung 36). Vier F1-Pflanzen zeigten auch die typische WSC-Rispe, und bei dreien davon war die Mutterpflanze WSC_Cosmolit.

In der Parzelle Kr2011Pu wurde eine F1-Pflanze beobachtet (F1WSCPX2011-64), die eine WSC-typische Rispe hatte. Vier BC1-Nachkommen von F1FEL2005-37 und zwei BC1-Nachkommen von WD_Lipresso zeigten die gleiche Rispenform.

In der Isolierparzelle Kr2011Pu hatten die WSC-ähnlichen Pflanzen im Erntejahr 2013 im Mittel ein Samengewicht von 5,7 g (Min: 0,1 g; Max: 15,8 g) in Erntejahr 2014 von 1,8 g (Min: 0,3 g; Max: 6,8 g). Zum Vergleich hatten die Pflanzen mit typischen WD-Ähren in 2013 ein mittleres Samengewicht von 8,2 g (Min: 3,4 g; Max: 22,9 g) und im Jahr 2014 im Mittel 4,0 g (Min: 1,3 g; Max: 6,6 g). Tendenziell hatten die WD-ähnlichen Typen somit einen höheren Samenansatz, was hier auf eine höhere Fertilität schließen lässt. Diese Tendenz bestätigte sich in den anderen Pflanzungen jedoch nicht.

In der Isolation Kr2012Pu wurden im Jahr 2014 Samen geerntet. Hier hatten die Pflanzen mit WSC-ähnlichen Rispen ein mittleres Samengewicht von 5,0 g (Min: 1,3 g; Max: 34,4 g). Die WD-ähnlichen Pflanzen hatten dagegen ein mittleres Samengewicht von 3,0 g (Min: 0,6 g; Max: 12,6 g).

Mithin waren Samenansatz und Samengewicht von WD- und WSC-ähnlichen Nachkommenschaften nicht generell unterschiedlich. Vielmehr dürften neben der Genetik auch Umwelteffekte wie das Mikroklima und spezielle Standortbedingungen für die Variation zwischen Einzelpflanzen verantwortlich sein.

10.2.3. Massenbildung

Die Massenbildung in der Anfangsentwicklung (MBANF), die zu Vegetationsbeginn bonitiert wird, ist ein Merkmal, das die Schnelligkeit des Bestandsschlusses und damit die Nutzung und Konkurrenzkraft mitbestimmt. Nach dem Schnitt ist das Nachwuchsvermögen (MBNAWUS) ein wichtiges Merkmal, um eine mehrmalige ertragreiche Nutzung des Bestandes garantieren zu können.

Massenbildung in der Anfangsentwicklung (MBANF) in der Isolationsparzelle der Kreuzung 2011 in Pulling (Kr2011Pu)

Die Pflanzen wurden in Kr2011Pu zusammen mit stark verklonten Wiesenschwingel-Einzelpflanzen aus Sorten, die als Pollenspender fungierten, gepflanzt. In der zweiten

Pflanzung wurden WD- und WSC-Individuen als Standards mit ausgepflanzt (Ph2011Schl). Die Nachkommenschaften wurden randomisiert in der Anlage verteilt (Pflanztermin: Mai 2012, Etablierungsjahr). Verglichen wurden die Resultate der Nachkommenschaften mit Hilfe eines Kruskal-Wallis-Tests (Boniturnoten siehe Tabelle 39 Anhang). Es zeigte sich, dass die F1-Nachkommen bei der Bonitur MBANF im 1. Hauptnutzungsjahr 2013 (1. HNJ) im Mittel höhere Noten erhielten als die WD- und WSC-Pflanzen (Abbildung 38a und b). Die BC1-Hybriden zeigten im Mittel eine etwas geringere Massenbildung als die F1en, hielten aber das Niveau der WD- und WSC-Sorten, die als Referenz dienten. Es muss allerdings berücksichtigt werden, dass es sich bei den WD- und WSC-Sorten um Klone sehr viel älterer Pflanzen handelte, die vor mehreren Jahren angezogen und dann immer wieder verklont worden waren. Die Vitalität dieser Pflanzen könnte daher nachgelassen haben. Durch die mehrfache Verklonung der WD- und WSC-Genotypen, konnte man einheitliche Referenzen bzw. Standards erzeugen. Im Frühjahr 2014 (2. HNJ) waren bei der Bonitur kaum noch Unterschiede feststellbar. Vor allem die F1- und BC1-Pflanzen hatten leistungsmäßig in der Parzelle Kr2011Pu stark nachgelassen (Abbildung 38c). Ph2011Schl wurde im Herbst 2013 auf einen neuen Schlag gepflanzt. Durch das Umpflanzen kam es zu einer Verjüngung des Materials, was sich auch in den Boniturnoten niederschlug (Abbildung 38d). Auch im Frühjahr 2015 (2. HNJ) zeigten die F1-Pflanzen im Mittel die beste Leistung in Versuch Ph2011Schl (Abbildung 38e). Kr2011Pu wurde im Herbst 2014 (2. HNJ entspricht neuem Etablierungsjahr) auf ein neues Feld gepflanzt und im Frühjahr 2015 (1. HNJ) nicht bonitiert.

Insgesamt erhielten die F1-Pflanzen die höchsten Boniturnoten auch in den verschiedenen Jahren, was ein deutlicher Hinweis auf die Wirksamkeit von „Heterosis-Effekten“ ist. Die BC1-Pflanzen zeigten sich etwas weniger ausdauernd und glichen den WSC-Pflanzen erwartungsgemäß mehr als die F1-Individuen. Insgesamt aber war eine große Variabilität in der BC1-Generation erkennbar (Abb. 36).

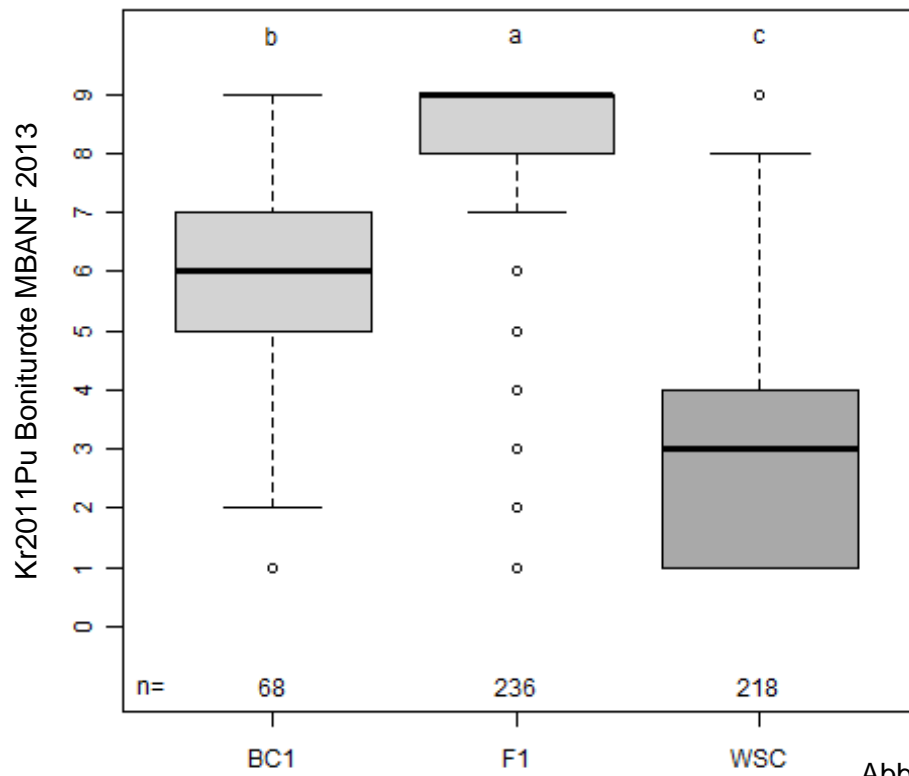


Abb. 38a

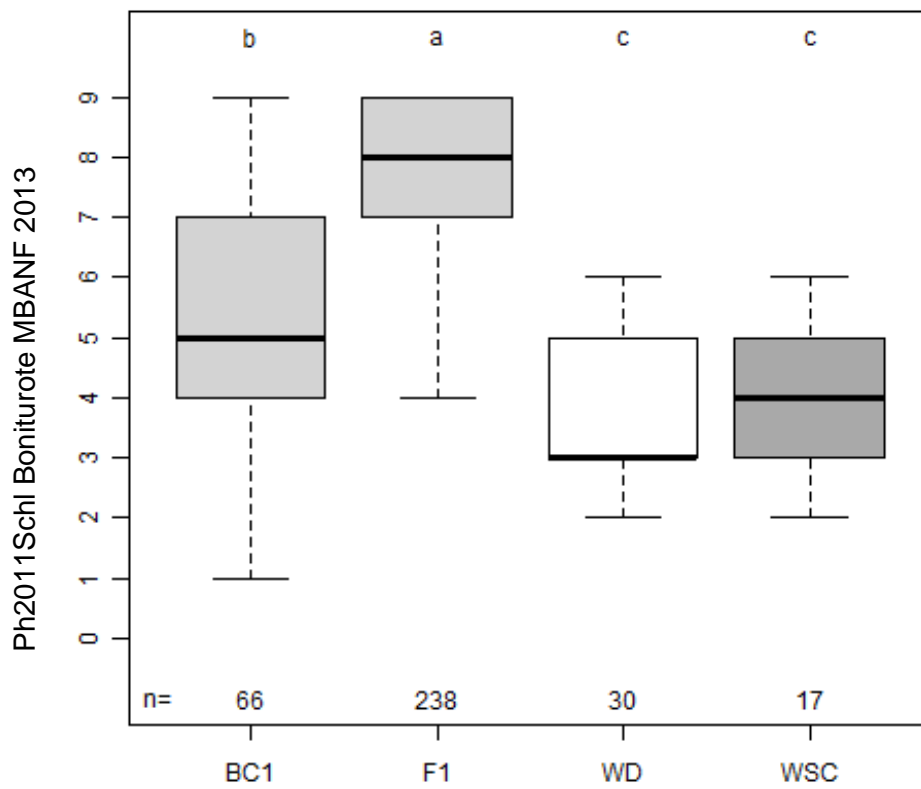


Abb. 38b

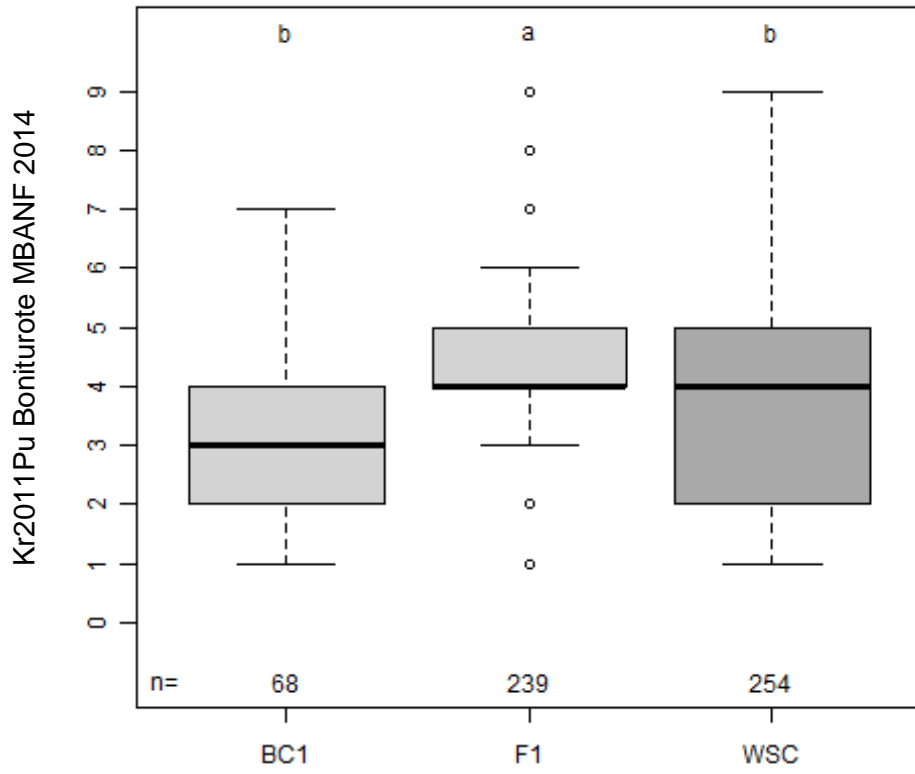


Abb. 38c

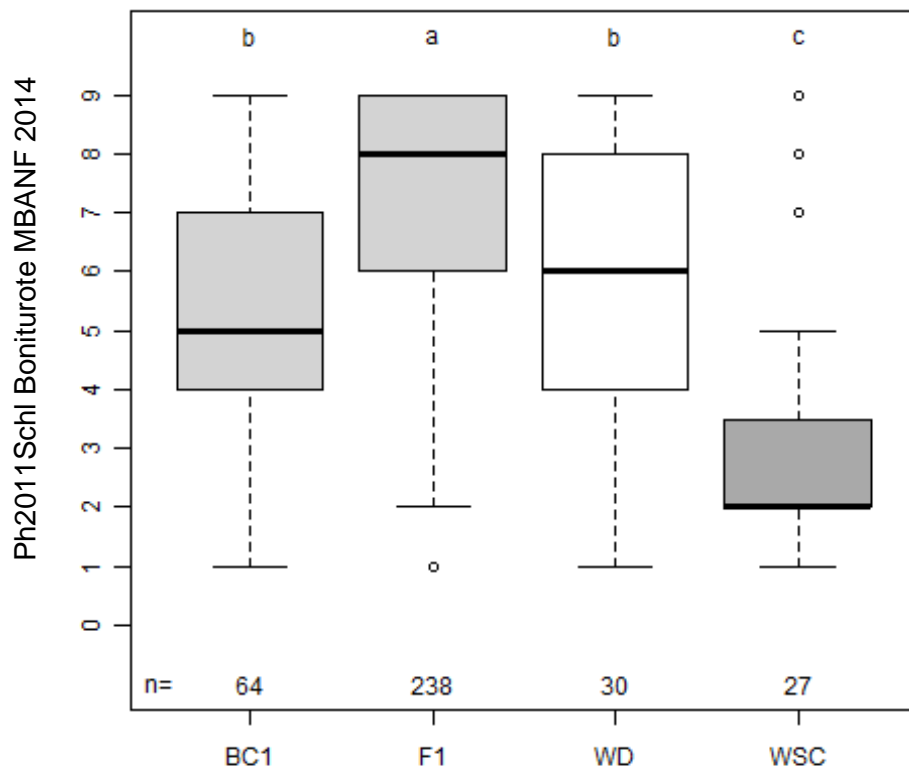


Abb. 38d

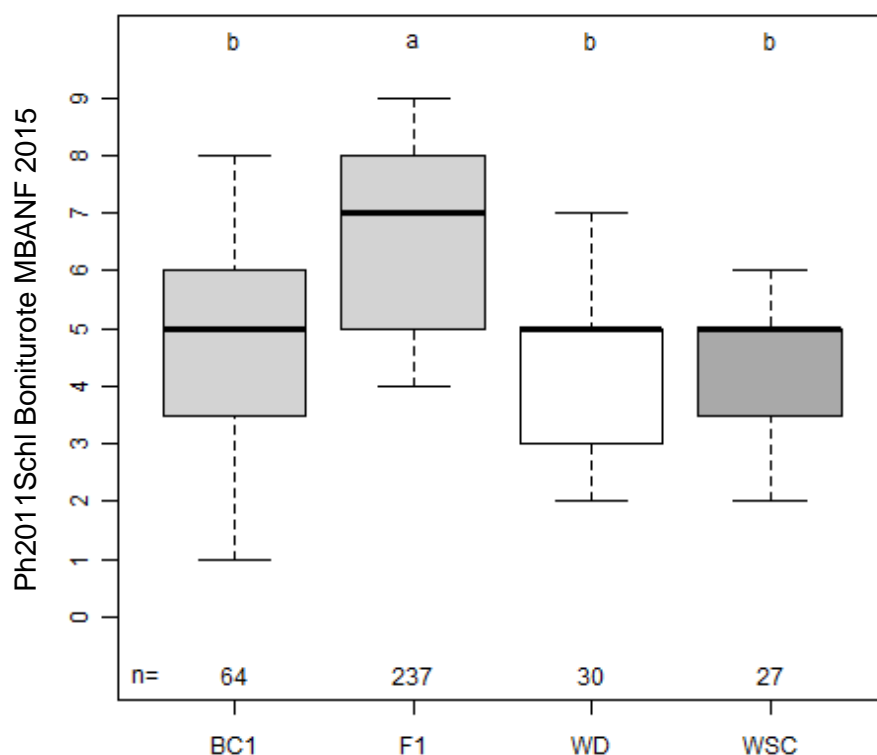


Abb. 38e

Abbildung 38 a-e: Massenbildung in der Anfangsentwicklung (MBANF) in den Jahren 2013 bis 2015 a: Kr2011Pu MBANF 2013 (1. HNJ); b: Ph2011Schl MBANF 2013 (1. HNJ); c: Kr2011Pu MBANF 2014 (2. HNJ); d: Ph2011Schl MBANF 2014 (1. HNJ neuer Standort); e: Ph2011Schl MBANF 2015 (2. HNJ). Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

Bei einem Vergleich der großen Familien mit den Standards zeigte sich, dass die F1-Hybriden auch im Jahr 2015 noch eine höhere Benotung bezüglich Massenbildung in der Anfangsentwicklung erhielten. Die BC-Pflanzen fielen etwas ab, waren aber noch mit den höher bewerteten WD-Pflanzen vergleichbar.

Massenbildung in der Anfangsentwicklung (MBANF) im Frühjahr der Kreuzungen 2012 in der Isolierparzelle zur Samenernte in Pulling (Kr2012Pu) und der Pflanzung zur Phänotypisierung am Standort „Labor“ (Ph2012La)

Beim Kreuzungserfolg 2012 zeichnete sich ein ähnliches Bild ab (Etablierungsjahr 2013). Allerdings unterschieden sich die BC1-Pflanzen nicht von den WD- oder WSC-Pflanzen. Die F1-Pflanzen erhielten im 1. HNJ die signifikant höchsten Noten. Allerdings gab es im 2. HNJ (2015) keine Unterschiede zwischen WSC-Pflanzen und den F1-Pflanzen in der Isolierungspflanzung Kr2012Pu mehr. In der Beobachtungspflanzung (Ph2012La) wurde dies nicht bestätigt. Die F1 zeigte bei beiden Terminen, die höchste Wüchsigkeit (Tabelle 29).

Tabelle 29: Bonituren der Massenbildung in der Anfangsentwicklung der Kreuzungen 2012 in der Isolierparzelle (Kr2012Pu) und der Pflanzung zur Phänotypisierung (Ph2012La)

Pflanzung	Generation/Art	MBANF_2014 (Min, Max)	Anzahl Pflanzen	MBANF_2015 (Min, Max)	Anzahl Pflanzen
Kr2012Pu	BC1	3,5 (0, 8)	4	2 (2, 4)	3
Kr2012Pu	BC2	4 (4, 4)	2	2 (2, 2)	2
Kr2012Pu	F1	7 (0, 9)	220	5 (1, 9)	217
Kr2012Pu	WSC	5 (0, 8)	203	4 (1, 8)	201
Ph2012La	BC1	2,5 (1, 4)	8	1 (1, 5)	8
Ph2012La	BC2	3 (2, 4)	2	2,5 (2, 3)	2
Ph2012La	F1	6 (1, 9)	221	5 (1, 9)	219
Ph2012La	WD	3 (1, 6)	32	3 (1, 7)	31
Ph2012La	WSC	4 (2, 6)	24	3 (2, 5)	24

Massenbildung in der Anfangsentwicklung (MBANF) im Frühjahr der Kreuzungen 2013 in der Isolierparzelle zur Samenernte in Pulling (Kr2013Pu) und der Pflanzung zur Phänotypisierung am Standort „Labor“ (Ph2013La)

In Kreuzungsjahr 2013 wurden F1-, BC1- und BC2-Pflanzen erzeugt und diese in der Anlage Kr2013Pu mit WSC bestäubt und verglichen. Wie in den anderen Pflanzungen erhielten auch hier die F1-Pflanzen im Mittel die höchsten Bewertungen (Mediane MBANF_2015 Kr2013Pu: 8; Ph2013La: 6; Tabelle 39). Im Gegensatz zu den Kreuzungen des Vorjahres wurden die BC1-Pflanzen signifikant höher benotet als die WSC-Pflanzen. Bei den Sorten zeigte sich, dass F1-Pflanzen, die von frühen Sorten abstammten (WD_Lipresso, WSC_Cosmolit, WD_PX), im Vergleich die größte Massenbildung in der Anfangsentwicklung zeigten.

In dem Versuch Ph2013La waren sowohl WD- als auch WSC-Sorten integriert. Die F1-Generation wuchs hier signifikant am besten und auch die BC1- und BC2-Pflanzen wurden signifikant höher benotet als die WSC-Prüfglieder (Abbildung 39).

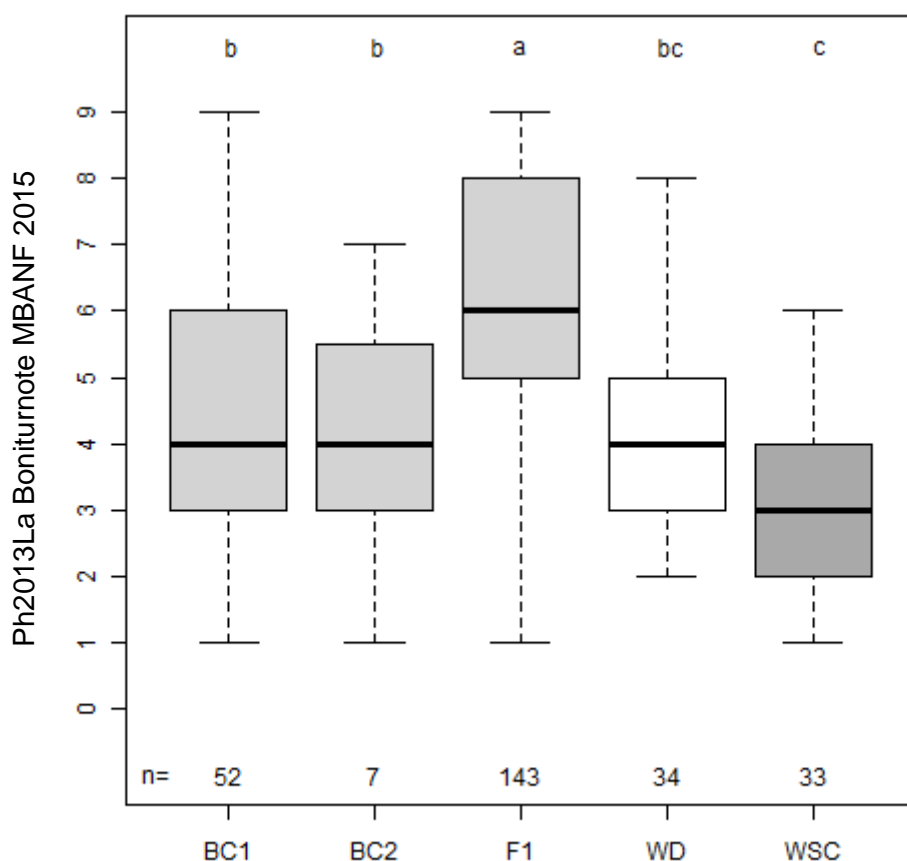


Abbildung 39: Massenbildung in der Anfangsentwicklung (MBANF) in der Pflanzung zur Phänotypisierung (Ph2013La), aufgeteilt nach Generationen im Vergleich mit Dt. Weidelgras und Wiesenschwingel. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

Nachwuchsvermögen (MBNAWUS) der Kreuzungen 2011

Pflanzung zur Phänotypisierung der Kreuzungen 2011 am Standort „Schlüter“ (Ph2011Schl)

In den Versuchsjahren 2012 (Etablierungsjahr) und 2013 (1. HNJ) fiel auf, dass die Benotung der F1-Pflanzen sehr stabil waren und von Boniturdatum zu Boniturdatum nur wenig abwich. Nur die erste Bonitur lieferte höhere Werte (Tabelle 39 Anhang). Starke Unterschiede zwischen den Boniturterminen traten bei den WD- und WSC-Pflanzen auf. Mit zunehmendem Alter konnte bei WSC und auch WD ein höheres Nachwuchsvermögen festgestellt werden. Die WSC-Pflanzen regenerierten sich im August 2013 sogar besser als die WD-Pflanzen. Ein Indiz für die langsamere Etablierung von Wiesenschwingel. Bei den Kreuzungsnachkommen gab es eine solche Steigerung zwischen den Boniturterminen nicht. Hier kam es eher zu einer Reduzierung.

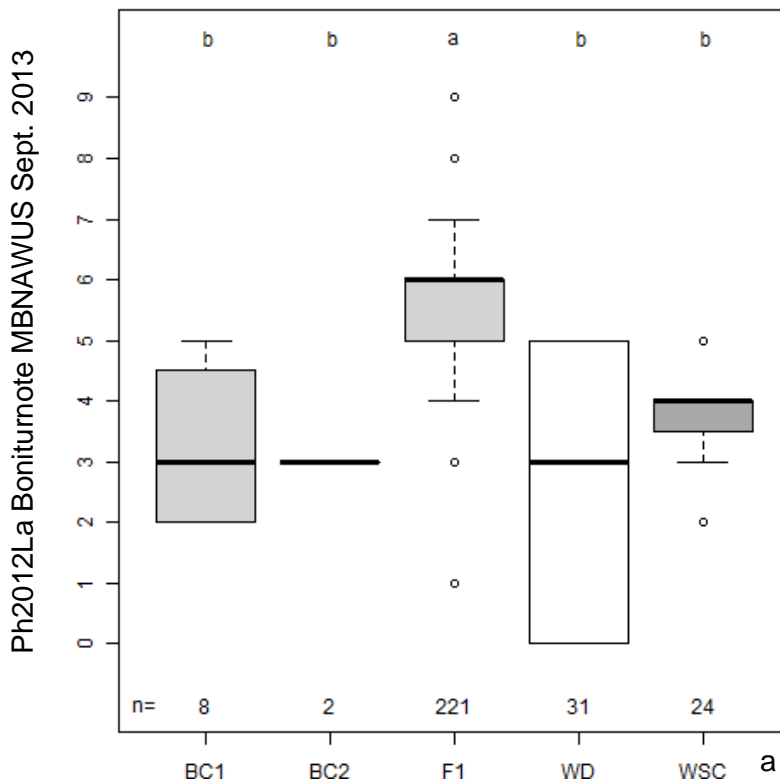
Isolierparzelle der Kreuzungen 2011 in Pulling (Kr2011Pu)

Auch in diesem Feldversuch zeigte sich, dass die F1-Pflanzen zunächst am meisten Masse bildeten, dicht gefolgt von den BC1-Pflanzen (Tabelle 39 Anhang). Im ersten Standjahr (2012) waren noch nicht viele WSC auf der Fläche, da die über 60-fache Verklonung aufgrund der langsameren Bestockung von WSC mehr Zeit in Anspruch nahm, als erwartet. Mit der Zeit wurden die fehlenden WSC-Pflanzen aufgefüllt und nach zwei Jahren auf der gleichen Fläche war kaum ein Unterschied zwischen WSC und F1 feststellbar. Die BC1-Pflanzen bildeten im Vergleich zu WSC erkennbar weniger Masse.

Nachwuchsvermögen (MBNAWUS) der Kreuzungen 2012

Pflanzung zur Phänotypisierung der Kreuzungen 2012 am Standort „Labor“ (Ph2012La)

Wie bei den Kreuzungen der Vorjahre, zeigte sich auch hier, dass die F1-Generation sowohl den WD- und WSC-Sorten als auch den BC-Generationen in Bezug auf Massenbildung zu jedem Zeitpunkt überlegen waren (Abbildung 40, Tabelle 39 Anhang).



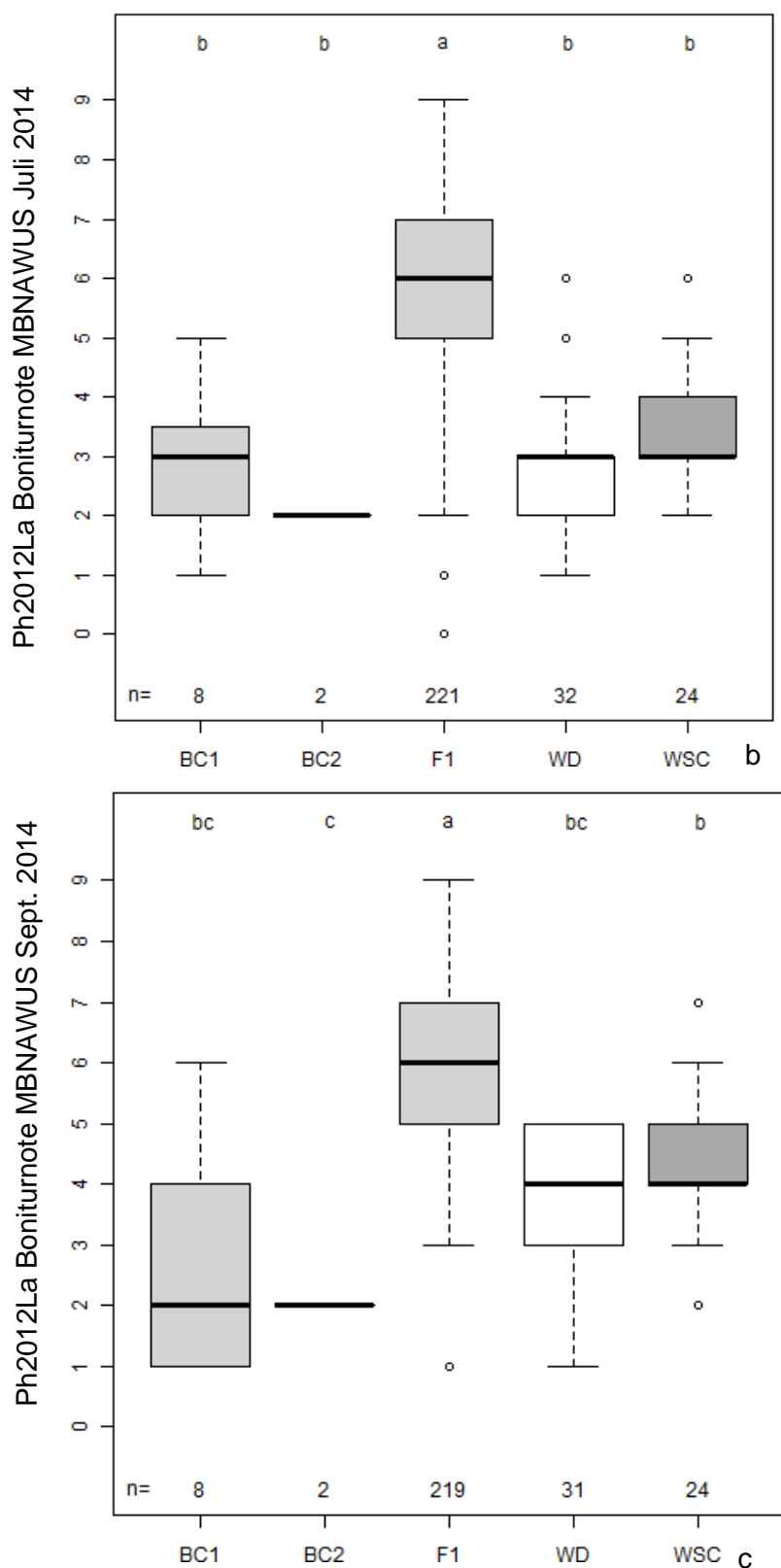


Abbildung 40: Ph2012La. a: Massenbildung im Nachwuchs September 2013, b: Massenbildung im Nachwuchs Juli 2014, c: Massenbildung im Nachwuchs im September 2014. Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

Isolationsparzelle der Kreuzungen 2012 in Pulling (Kr2012Pu)

Auch während der Vegetationsperiode (2013: Etablierungsjahr; 2014: 1. HNJ) lieferten die F1-Pflanzen die höchsten Boniturnoten. Die WSC-, BC1- und BC2-Pflanzen erhielten im Mittel ähnliche Noten (Abbildung 41, Tabelle 39 Anhang).

Auch hier war wieder ein Leistungsrückgang der FEL-Generationen im Vergleich zu Wiesenschwingel, bei dem die Benotung konstant blieb, zu beobachten. Im Jahr 2014 (2. HNJ) unterschieden sich die WSC-Pflanzen nicht signifikant von den BC1- und F1-Pflanzen (Abbildung 42).

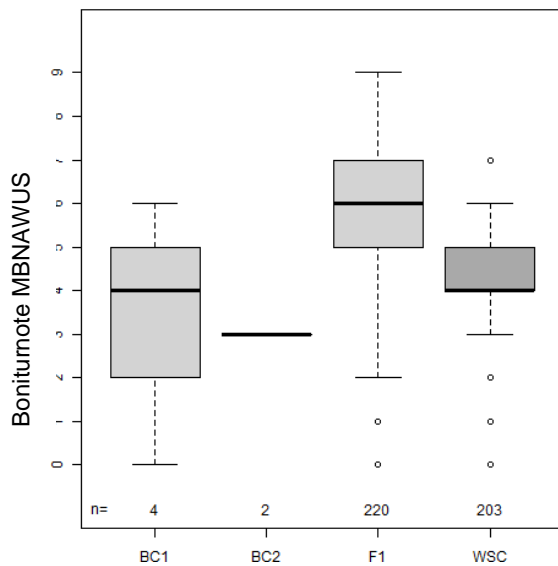


Abbildung 41: Kr2012Pu Vergleich der FEL Generationen mit WSC bezüglich Massenbildung im September 2013

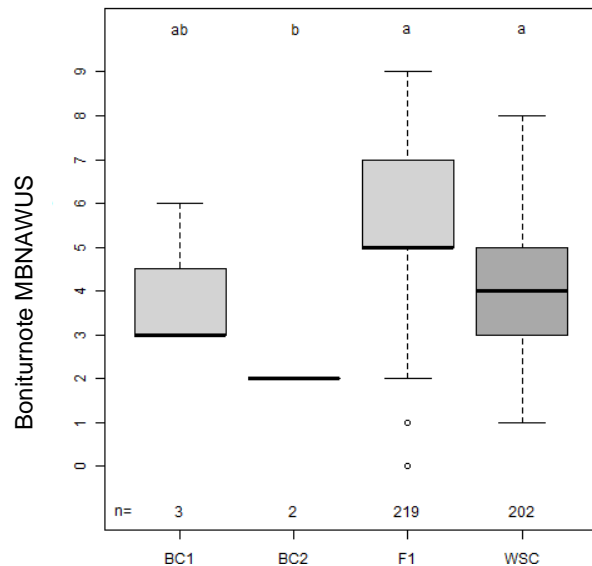


Abbildung 42: Kr2012Pu Vergleich der FEL Generationen mit WSC bezüglich Massenbildung im September 2014. Ungleiche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

Nachwuchsvermögen (MBNAWUS) der Kreuzungen 2013*Pflanzung zur Phänotypisierung der Kreuzungen 2013 am Standort „Labor“ (Ph2013La)*

In dieser Pflanzung befanden sich sowohl im Gewächshaus erzeugte Pflanzen, als auch BC-Pflanzen, die aus den ersten Freilandkreuzungen entstanden waren. Dadurch stieg die Zahl der beobachteten BC-Pflanzen stark an.

Es zeigte sich, dass alle FEL-Generationen den WD- und WSC-Vergleichspflanzen bezüglich Massenbildung zu beiden Boniturterminen überlegen waren (Abbildung 43).

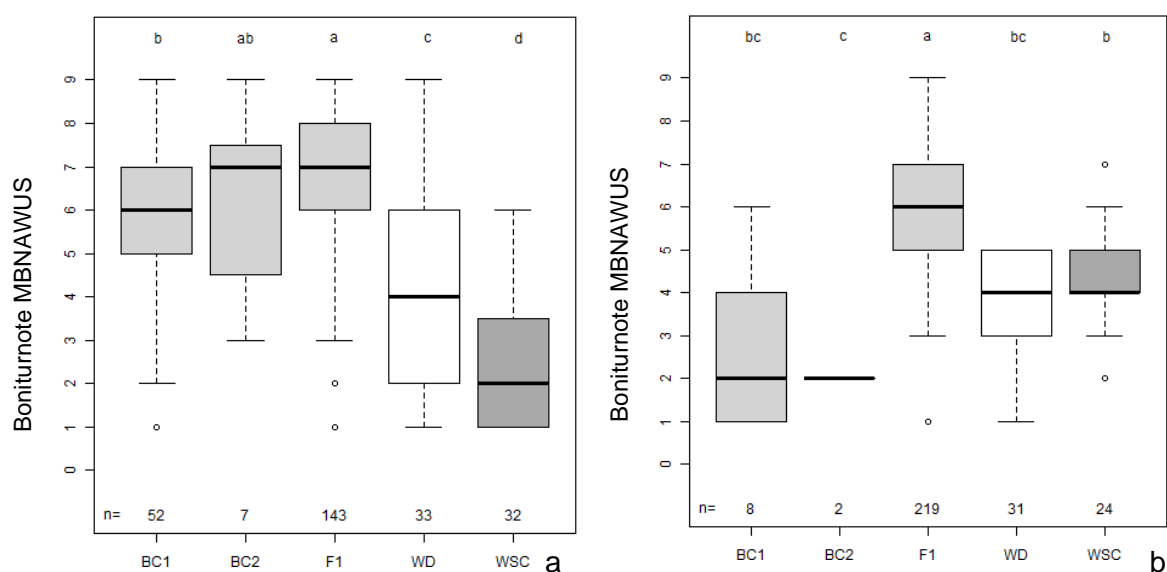


Abbildung 43: a: Massenbildung im Juli 2014. b: Massenbildung im September 2014. FEL Generationen im Vergleich zu WD- und WSC-Pflanzen. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (Versuch Ph2013La, Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

Es ist erkennbar, dass die F1- und BC1-Nachkommen von WSC_PX und WD_Lipresso ähnliche Nachwuchsleistungen aufwiesen. Die Pflanzen der F1(WD_Lipresso) waren nicht von denjenigen der BC2(WD_Lipresso) (Mediane: Juli 2014 = 8; Sept. 2014 = 6) und der BC1(WD_Lipresso) (Mediane Juli 2014 = 6,5; Sept. 2014 = 5,5) sowie den WD_Lipresso (Median Juli 2014: 7; Sept. 2014: 7) Nachkommen zu unterscheiden, womit die Wuchsleistung der WD-Mutterpflanzen auch in den Rückkreuzungsgenerationen erreicht wurde. In jeder Generation wurde jedoch eine andere WD_Lipresso Pflanze als Mutter verwendet. Auch kamen bei jeder Kreuzung andere Vaterpflanzen zum Einsatz. Die Nachkommen der WSC_PX Pflanzen wurden vorwiegend mit den gleichen WD_Lipresso-Pflanzen gekreuzt wie die WD_Lipresso-Nachkommen. Es konnten reziproke Kreuzungen erzeugt werden. Bezüglich der MBNAWUS im September 2014 war zwischen den reziproken Nachkommenschaften kein Unterschied zu erkennen (Abbildung 44). Das heißt, dass die Verwendung des jeweiligen Elters als Mutter oder Vater keinen Einfluss auf die Leistung der Nachkommen hatte und keine reziproken Effekte erkennbar waren. Dies traf auf alle bonitierten Merkmale zu.

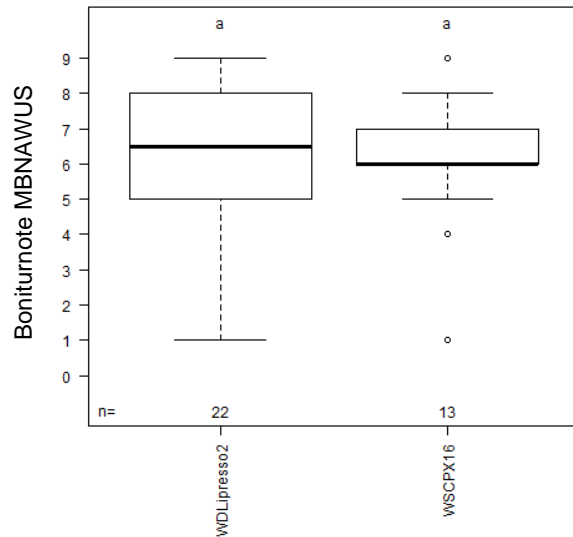


Abbildung 44: Vergleich reziproker Nachkommen (WSC_PX16 x WD_Lipresso2) bezüglich MBNAWUS Sept. 2014. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

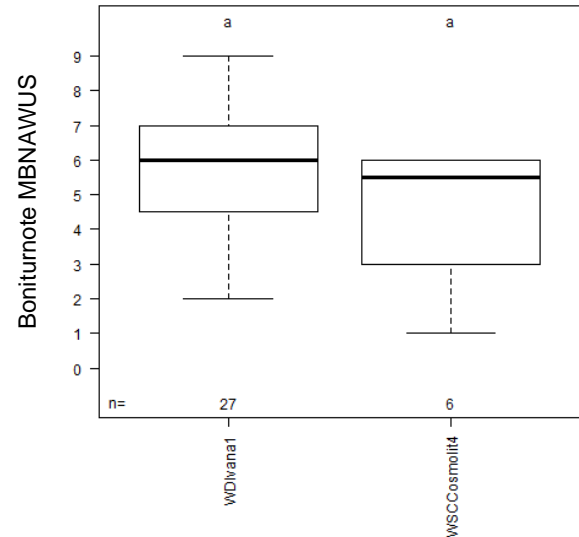


Abbildung 45: Vergleich reziproker Nachkommen (WSC_Cosmolit4 x WD_Ivana1) bezüglich MBNAWUS Sept. 2014. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

Ähnliche Ergebnisse lieferte der Vergleich der reziproken Nachkommen von WD_Ivana1 (Median MBNAWUS Sept. 2014 = 6) und WSC_Cosmolit4 (Median MBNAWUS Sept. 2014 = 5,5) (Abbildung 45). Bei jeder Bonitur waren die Aufwüchse der Pflanzen auf einem ähnlich hohen Niveau.

Isolierparzelle der Kreuzungen 2013 in Pulling (Kr2013Pu)

Ähnlich wie in Ph2013Schl zeigten auch in dieser Pflanzung die FEL-Generationen eine höhere Leistung als die WSC-Pflanzen. Die Leistung der FEL-Pflanzen (gleiches Material) war somit an zwei verschiedenen Standorten als sehr positiv zu bewerten (Abbildung 46).

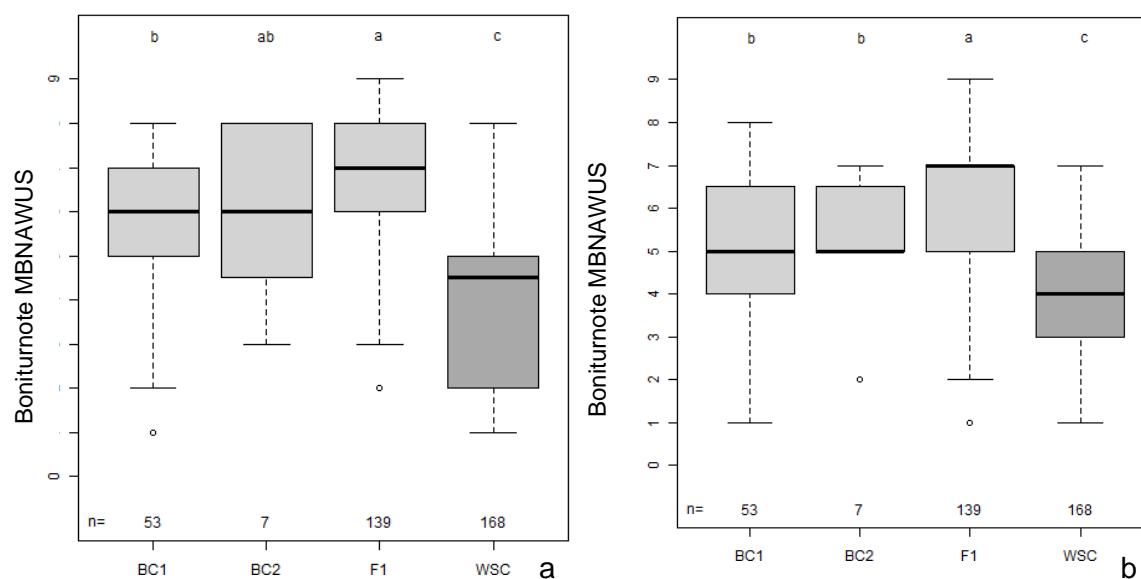


Abbildung 46: a: Nachwuchsleistung (MBNAWUS) im Juli 2014, b: MBNAWUS Sept. 2014. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede (Kr2013Pu, Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

Vor allem WSC_Anth2, das sind Wiesenschwingel-Klone, die als Standard dienen, erhielten sehr niedrige Noten für Massenbildung (Median Juli 2014: 2). Diese Pflanzen waren aus Antherenkultur entstanden und im Gegensatz zu den anderen Pflanzen vermutlich homozygot (doppelhaploid), was sich erwartungsgemäß negativ auf die Leistung auswirkt (Inzuchtdepression). Die F1(WSC_PX) umfasste 32 Pflanzen und zeigte zu beiden Boniturterminen sehr gute Leistungen (Median Juli 2014: 7; Sept. 2014: 5). Ebenso die Nachkommen von WSC_Cosmolit (Median Juli 2014: 8; Sept. 2014: 8), WSC_Preval (Median Juli 2014: 7; Sept. 2014: 7) und F1(WD_Lipresso) (Median Juli 2014: 6,5; September 2014: 5,5).

Insgesamt zeigten die F1-Pflanzen stets die beste Leistung im Feld. Die WSC-Pflanzen brauchten etwa ein Jahr um sich zu etablieren und waren dann erst mit den F1en konkurrenzfähig. Die BC-Generationen erwiesen sich als nicht sehr ausdauernd und bekamen im 2. Hauptnutzungsjahr meist niedrigere Boniturnoten als im 1. HNJ. Vorallem bei der Massenbildung am Anfang (MBANF) zeigte sie aber noch eine höhere Wüchsigkeit als WSC. Die BC-Generationen zeigten somit zwar nicht das Leistungsniveau der F1-Pflanzen, erwiesen sich im Mittel aber dennoch etwas wüchsiger als die WSC-Pflanzen.

10.2.4. Winterfestigkeit

Zur Evaluierung der Auswinterungsschäden wurden bei den Pflanzen zu Vegetationsende Mängel vor Winter (MNVWI, Note 1 keine Schäden, Note 9 Totalausfall) und im darauf folgenden Jahr zu Vegetationsbeginn Mängel nach Winter (MNNWI, Note 1 keine Schäden, Note 9 Totalausfall) bonitiert. Die Differenz der

Boniturnoten (MNVWI-MNNWI) ergab die Auswinterungsschäden. Je kleiner die Zahl war, umso höher war die Auswinterung und desto geringer die Winterhärte bzw. -festigkeit. Dabei wurde der Grund der Schäden nicht näher spezifiziert (Frost, Schneeschimmelbefall, Abbildung 47). Bei einer hohen Neigung zur Auswinterung und damit geringer Winterfestigkeit ist bei nicht ausreichendem Regenerationsvermögen der Pflanzen von Ertragseinbußen auszugehen. Bei stärkerer Auswinterung können die entstehenden Lücken auch durch unerwünschte Pflanzenarten (z. B. Ungräser) geschlossen werden, was sich wiederum auf Ertrag und Qualität des Erntegutes auswirken kann.



Abbildung 47: Auswinterung bei einer Einzelpflanze, die durch verschiedene Einflüsse, wie Frost und Befall mit *M. nivale* verursacht werden kann

Winterfestigkeit der Kreuzungsnachkommenschaften 2011

Winterfestigkeit in der Isolierparzelle zur Samenernte der Kreuzungen 2011 in Pulling (Kr2011Pu)

In der Anlage Kr2011Pu zeigten sich zwischen den Arten deutliche Unterschiede bei der Winterhärte. Am stärksten betroffen war die BC1-Generation, während beim Wiesenschwingel in beiden Wintern die geringsten Schäden zu beobachten waren (Abbildung 48). Es wurden auch die einzelnen Familien miteinander verglichen. Die reinen WSC-Pflanzen wiesen die größte Winterhärte auf, während die F1(WD_Arabella1), F1(WSC_Cosmolit2) und F1(WSC_PX42) in beiden Wintern eine ähnliche Auswinterung zeigten (Mediane 0 bis -1) und die Familien die höchste Anzahl an Nachkommen umfassten. Aufgrund der Umpflanzung im Herbst 2014 wurde in diesem Jahr keine Mängelbonitur vor Winter durchgeführt.

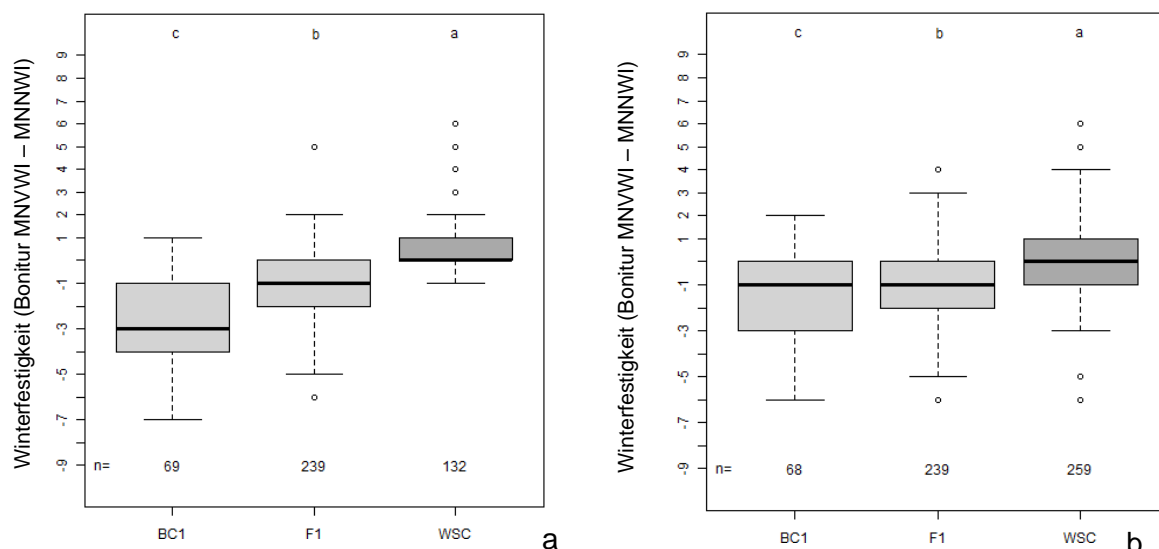


Abbildung 48: Winterfestigkeit in Kr2011Pu im Winter 2012/2013 (a) und 2013/2014 (b), Vergleich der Arten (Versuch Kr2011Pu, Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

Winterfestigkeit in der Pflanzung zur Phänotypisierung der Kreuzungen 2011 am Standort „Schlüter“ (Ph2011Schl)

Auch in der parallelen Pflanzung Ph2011Schl waren die WSC-Pflanzen den Anforderungen des Winters am besten gewachsen. Zwischen WD und den zwei FEL-Generationen gab es im Winter2012/2013 keine signifikanten Unterschiede (Abbildung 49). Im Herbst 2013 wurden die Pflanzen auf einen neuen Feldschlag gepflanzt. MNVWI und MNNWI wurden zwar bonitiert, aber es zeigte sich bei der Betrachtung der Ergebnisse, dass die Pflanzen noch nicht richtig etabliert waren, so dass die Verteilung mit den übrigen Boniturjahren nicht übereinstimmte. Im Winter2014/2015 zeigten die F1-Pflanzen die geringsten Auswinterungsschäden (Median -2). Die WSC- und BC1-Pflanzen (Mediane -3) waren gleichauf, während die WD-Pflanzen (Median -4,5) die stärksten Effekte zeigten (Abbildung 50).

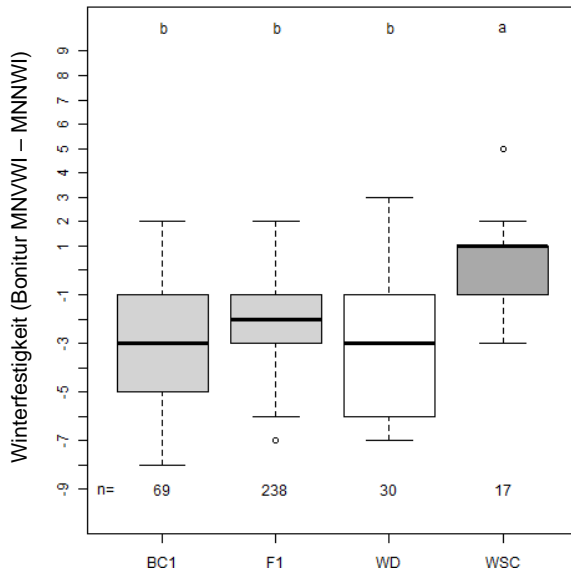


Abbildung 49: Winterfestigkeit Winter2012/2013, Ph2011SchI, Vergleich der Generationen mit WD und WSC (Ph2011SchI, Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

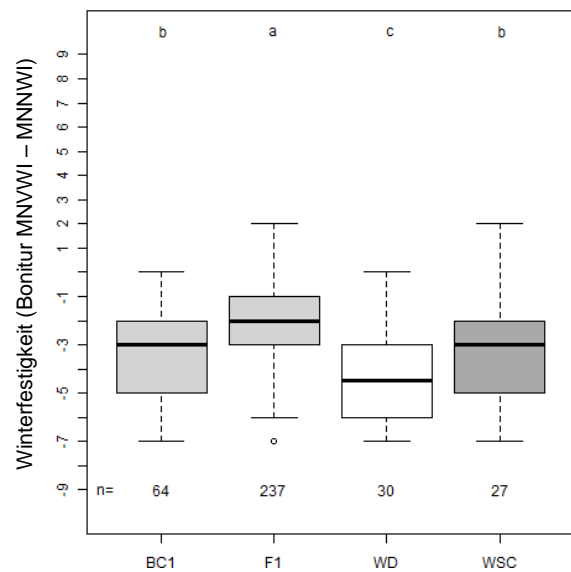


Abbildung 50: Winterfestigkeit Winter2014/2015, Ph2011SchI, Vergleich der Generationen mit WD und WSC (Ph2011SchI, Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

Winterfestigkeit in den Kreuzungsnachkommenschaften 2012

Winterfestigkeit in der Isolierparzelle zur Samenernte der Kreuzungen 2012 in Pulling (Kr2012Pu)

Auch in der Anlage Kr2012Pu zeigten die F1-Pflanzen eine große Variabilität. Bei der gesamten Population schien die Winterhärte im zweiten Jahr geringer zu sein. Der Winter2014/2015 war geprägt von extremen Temperaturschwankungen - frühlingshaften Temperaturen zum Jahresende mit Wintereinbruch erst Ende Januar - was die Auswinterung begünstigt haben könnte (Deutscher Wetterdienst, 2016). Die WSC-Pflanzen zeigten robustere Werte, während sich die Werte bei der BC1 im zweiten Winter erhöhten und die zwei Pflanzen der BC2 unverändert blieben (Abbildung 51).

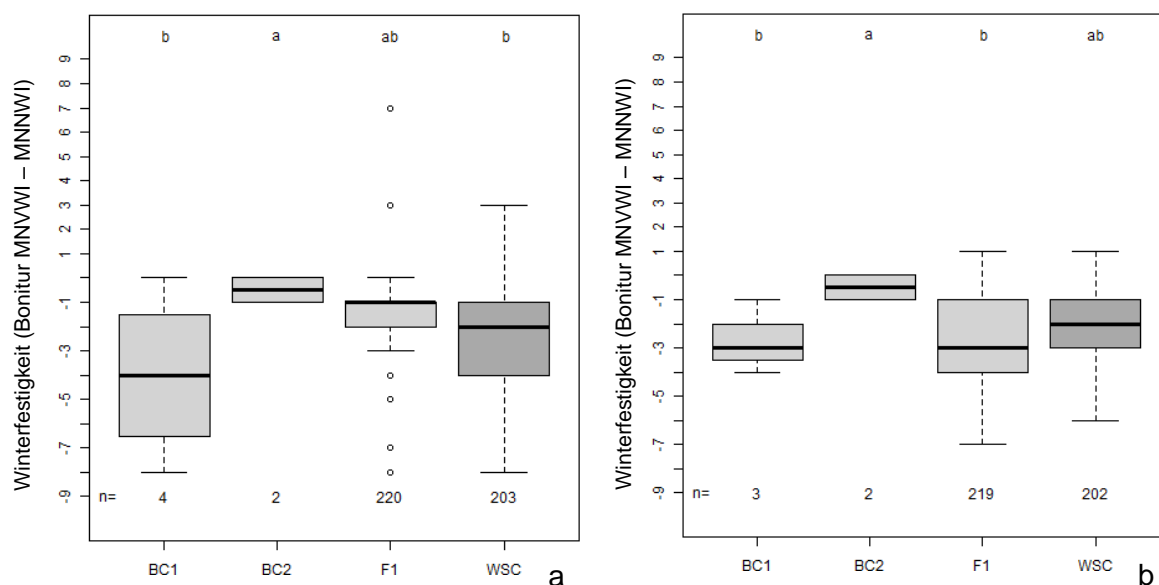


Abbildung 51: Winterfestigkeit in der Anlage Kr2012Pu, a) Winter2013/2014; b) Winter2014/2015 (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

Winterfestigkeit in der Pflanzung zur Phänotypisierung der Kreuzungen 2012 am Standort „Labor“ (Ph2012La)

Wie in Kr2012Pu wurden auch in der Pflanzung Ph2012La im zweiten Winter (Winter2014/2015) mehr Auswinterungsschäden beobachtet (Tabelle 39 Anhang). Die BC1 hatte im Winter2012/2013 die geringste Winterhärte unterschied sich aber nicht signifikant von den WD- und F1-Pflanzen. Im Winter2014/2015 waren keine Unterschiede mehr erkennbar.

Winterfestigkeit in den Kreuzungsnachkommenschaften 2013

Winterfestigkeit in der Isolierparzelle zur Samenernte der Kreuzungen 2013 am Standort „Pulling“ (Kr2013Pu)

Bei der Winterhärte konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen BC1 (Median -3), BC2 (Median -2), F1 (Median -2) und WSC (Median -3) festgestellt werden. Alle Materialgruppen kamen mit Schäden aus dem Winter. Beim Vergleich der einzelnen Familie zeichneten sich einige WSC-Pflanzen als die winterhärtesten aus. Allerdings waren andere WSC-Pflanzen mit unter den Pflanzen, die am stärksten geschädigt waren. So wies die BC1(WSC_Cosmolit) mit einem Median von -6 die größten Auswinterungsschäden auf. Zu den tolerantesten gehörten die sukzessiven Generationen von WD_Lipresso (F1(WD_Lipresso) = -2; BC1(WD_Lipresso) = -2,5; BC2(WD_Lipresso) = 0) sowie WSC_PX (F1(WSC_PX) und BC1(WSC_PX) = -2).

Im Allgemeinen zeigten die WSC-Pflanzen die beste Winterhärte. Die BC-Generationen zeigten teilweise eine höhere Winterhärte als die F1, was für einen erfolgreichen

Transfer von WSC-Genomanteilen und Verbesserung der gewünschten Eigenschaft spricht. Die WD-Pflanzen wiesen erwartungsgemäß immer eine geringere Winterhärte als WSC auf. Auch bei diesem Merkmal zeigte sich in der F1 ein Heterosis-Effekt. Vor allem im Winter 2014/2015 wurde die Winterruhe noch einmal kurzzeitig gebrochen, was eine stärkere Auswinterung begünstigt haben könnte. Frost-/Tauphasen könnten auch in Zukunft eine größere Herausforderung darstellen, als langfristige Schneebedeckung und Frostphasen (Rapacz et al., 2014).

Winterfestigkeit in der Pflanzung zur Phänotypisierung der Kreuzungen 2013 am Standort „Labor“ (Ph2013La)

Wie auch in Kr2013Pu waren hier die F1 (Median -1), WD (Median -0,5), WSC (Median -1), BC1 (Median -1) und BC2 (Median 0) bezüglich der Winterhärte nicht signifikant voneinander verschieden. Die verschiedenen Generationen, die von WD_Lipresso (Mediane F1(WD_Lipresso), BC1(WD_Lipresso), BC2(WD_Lipresso): 0) und WSC_PX (F1(WSC_PX): -1; BC1(WSC_PX): 1) abstammten, waren wieder unter den Winterhärtesten. Die F1-Generation von Cosmolit (F1(WSC_Cosmolit): 0) erschien toleranter als die BC1-Generation (BC1(WSC_Cosmolit): -4). Wo WD_Ivana1 als Mutterpflanze (Auswinterung Median: -2; Min: -6; Max: -1) vertreten war, zeigten die Nachkommen eine höhere Variabilität bezüglich der Auswinterungsschäden, als bei Verwendung des reziproken Elters WSC_Cosmolit4 als Mutterpflanze (Auswinterung Median: -3; Min: -3; Max: -1).

10.2.5. Inzidenz von Rostkrankheiten

Die für WD und WSC wichtigen Rostpilze gehören zu der Gattung *Puccinia*. Sie umfasst ca. 3000 bis 4000 Arten. Bei den vorliegenden Versuchen konnte in den Freilandpflanzungen hauptsächlich Kronenrost (*P. coronata*) und Schwarzrost (*P. graminis*) beobachtet werden. Befallen werden sowohl WD als auch WSC (Schubinger, 2016c). Die beiden Rostarten haben ihr Verbreitungsoptimum bei warmen Temperaturen (20 - 25 °C) und traten erst in den letzten Jahren verstärkt in Bayern auf. Weidelgräser werden in der Regel stärker von Kronenrost befallen als Wiesenschwingel (Abbildung 52). Die Rostpilze verursachen chlorotische Veränderungen der Blätter, die die Photosyntheseleistung und damit das Nachwuchsvermögen der Pflanzen reduzieren. Auch kann eine toxische Wirkung bei der Verwendung als Futtermittel nicht zweifelsfrei ausgeschlossen werden. Die einzige Möglichkeit zur Reduzierung des Rostbefalls ist die Auswahl resistenter Genotypen bzw. Sorten für die Aussaatmischungen, da auch das Resistenzpotential innerhalb von WD gering zu sein schien (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, 2005; Hartmann et al., 2006). Durch die Kreuzung von WD und WSC sollte die geringere Kronenrostanfälligkeit des Wiesenschwingels in das FEL-Material übertragen werden. Da der Befall je nach Witterung stark schwanken kann, war nicht auf jedem Standort in jedem Jahr ein Rost-Befall zu beobachten. In der Beschreibenden Sortenliste wird zwar die Anfälligkeit gegenüber Rosten angegeben, aber nicht genauer

spezifiziert (Bundessortenamt, 2013). Schwarzrost befällt bevorzugt die Halme der Pflanzen und war hier auch in den Pflanzungen zur Samenernte feststellbar. Dieser Rost kann die Samenproduktion vermindern und ist daher vor allem im Grassamenbau problematisch.



Abbildung 52: Uredosporen-Lager von Kronenrost, wie er an Deutschem Weidelgras, Wiesenschwingel und Festulolium beobachtet wurde

Auftreten von Kronenrost an den Kreuzungen 2011 in der Isolierparzelle in Pulling (Kr2011Pu)

Im August 2013 wurde in dieser Pflanzung vor allem an Wiesenschwingel Kronenrost (Median 5, 181 von 222 mit Symptomen) festgestellt. Bei der BC1 (Median 1) wurden 18 von 68 Pflanzen mit Bonituren zwischen 3 und 9 von Kronenrost als befallen registriert (Skala 1-9), während bei der F1 (Median 1) nur 19 von 239 Pflanzen mehr oder weniger stark befallen waren (Boniturnoten 2 - 9). Im September 2014 wurde an 32 WSC-Pflanzen, 3 F1-Pflanzen und 4 BC1-Pflanzen Symptome festgestellt. Die Mediane lagen in diesem Jahr alle bei 1 und damit befallsfrei, wobei einzelne BC-Pflanzen am stärksten befallen wurden.

Auftreten von Kronenrost an den Kreuzungen 2012 in der Isolierparzelle in Pulling (Kr2012Pu)

Kronenrost trat in dieser Pflanzung im Jahr 2013 nur an zwei WSCAnth2-Pflanzen und BC1FEL372012-124 auf (Boniturnoten 3 und 4). Im darauffolgenden Jahr wurde Kronenrost häufiger beobachtet: F1Aberavon2012-215, BC1FEL372012-125, BC2FEL372012-98, F1Arabella2012-115, F1Aberavon2012-172, F1Aberavon2012-231 und BC1FEL372012-124 zeigten mittleren bis schweren Rost-Befall (Boniturnote 5 bis 8). Außer F1Arabella2012-115 hatten alle diese Pflanzen einen von drei WSC_Cosmolit-Genotypen als Vater. Auffällig war auch, dass keine Pflanze, deren Mutterpflanze WSC war, anfällig für Kronenrost schien. Von den zwei Nachkommen von BC1FEL372010-146 wurde eine Pflanze stark befallen, die andere gar nicht. Beide Nachkommen von F1FEL2005-37 wurde mit hohen Boniturnoten bewertet. Die Mutterpflanze von BC1FEL372010-146 war ebenfalls F1FEL2005-37 gekreuzt mit WSC_Cosmolit4. Die Pflanze BC1FEL372010-146 selbst wurde auch in anderen Pflanzungen über mehrere Jahre hin weg stark von Rost befallen. An F1FEL2005-37 konnte kein Befall beobachtet werden. Die Elternpflanzen von F1FEL2005-37 sind nicht bekannt, allerdings scheinen die WSC_Cosmolit-Nachkommen eine höhere Anfälligkeit zu zeigen (Tabelle 30). Auch die WSCAnth2-Pflanzen zeigten in diesem Jahr in großem Ausmaß Rostsymptome. Nur sechs von 32 WSCAnth2-Pflanzen zeigten keine Kronenrostsymptome.

Tabelle 30: Befallsraten mit Kronenrost im September 2014 (Kr2012Pu und Ph2012La)

Mutterpflanze	Vaterpflanze	Anzahl Nachkommen mit Symptomen/Gesamtzahl Pflanzen Kr2012Pu	Anzahl Nachkommen mit Symptomen/Gesamtzahl Pflanzen Ph2012La
WD_Aberavon4	WSC_Cosmolit1	2/11	5/11
WD_Aberavon4	WSC_Pradel6	0/15	0/15
WD_Aberavon1	WSC_Cosmolit6	1/13	0/9
WD_Arabella6	WSC_Preval9	1/18	0/19
WD_Arabella6	WSC_Cosmolit9	0/4	0/5
F1FEL2005-37	WSC_Cosmolit6	2/2	1/2
BC1FEL372010-146	WSC_Cosmolit2	1/2	0/2

Auftreten von Schwarzrost an den Kreuzungen 2012 in der Isolierparzelle Pulling (Kr2012Pu)

Auch im Jahr 2014 wurden einzelne Pflanzen mit Schwarzrost befallen. Zusammenhänge mit bestimmten Elternpflanzen konnte jedoch nicht festgestellt werden. Allerdings wurde keine dieser Pflanzen von Kronenrost befallen. Dies unterstützte die

Annahme, dass unterschiedliche Resistenzgene gegen die beiden Rostarten wirksam sind.

Auftreten Schwarzrost an den Kreuzungen 2013 in der Isolierparzelle Pulling (Kr2013Pu)

In Kr2013Pu wurde am häufigsten bei WSC-Pflanzen Schwarzrost festgestellt. Die verschiedenen FEL-Generationen verhielten sich ähnlich (Abbildung 53). Die Sorte WSC_Cosmolit (Median 6), die als Bestäuber dienen sollte und WSCAnth2 (Median 8) wurden besonders stark von dem Rostpilz befallen.

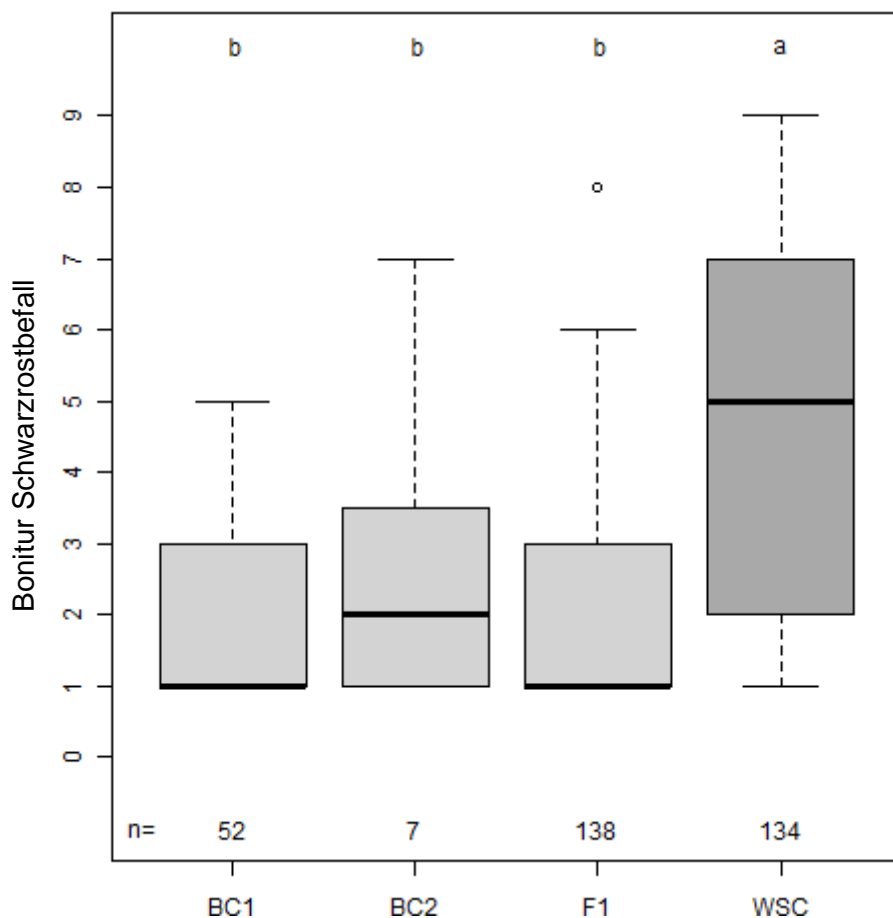


Abbildung 53: Schwarzrostbefall im September 2014, differenziert nach Materialgruppen (Kr2013Pu, Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

Auftreten von Kronenrost an den Kreuzungen 2012 in der Pflanzung zur Phänotypisierung am Standort „Labor“ (Ph2012La)

In der parallel angelegten Pflanzung Ph2012La an einem anderen Standort („Labor“ in Freising) wurde im Herbst 2013 ebenfalls nur wenig Rost an Nachkommen verschiedener Mutterpflanzen festgestellt. Im September 2014 zeigten neben den WSCAnth2 und fünf weiteren FEL-Pflanzen auch BC1FEL372012-125 Kronenrostsymptome. BC1FEL372012-125 wies in dieser Pflanzung als einziger Nachkomme von F1FEL2005-37 im Jahr 2014 Krankheitssymptome auf. Die anderen

Nachfahren von F1FEL2005-37 waren nicht betroffen. Die Symptome traten somit sehr standortspezifisch auf. Allerdings ließ sich auch hier bei Abkömmlingen von WSC_Cosmolit eine Tendenz zu Anfälligkeit feststellen.

Auftreten von Kronenrost an den Kreuzungen 2013 in der Pflanzung zur Phänotypisierung am Standort „Labor“ (Ph2013La)

Im Jahr 2014 konnte in dieser Pflanzung Kronenrost bonitiert werden. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Arten und Generationen, allerdings wurden einzelne Pflanzen jeder Materialgruppen stark befallen (Abbildung 54).

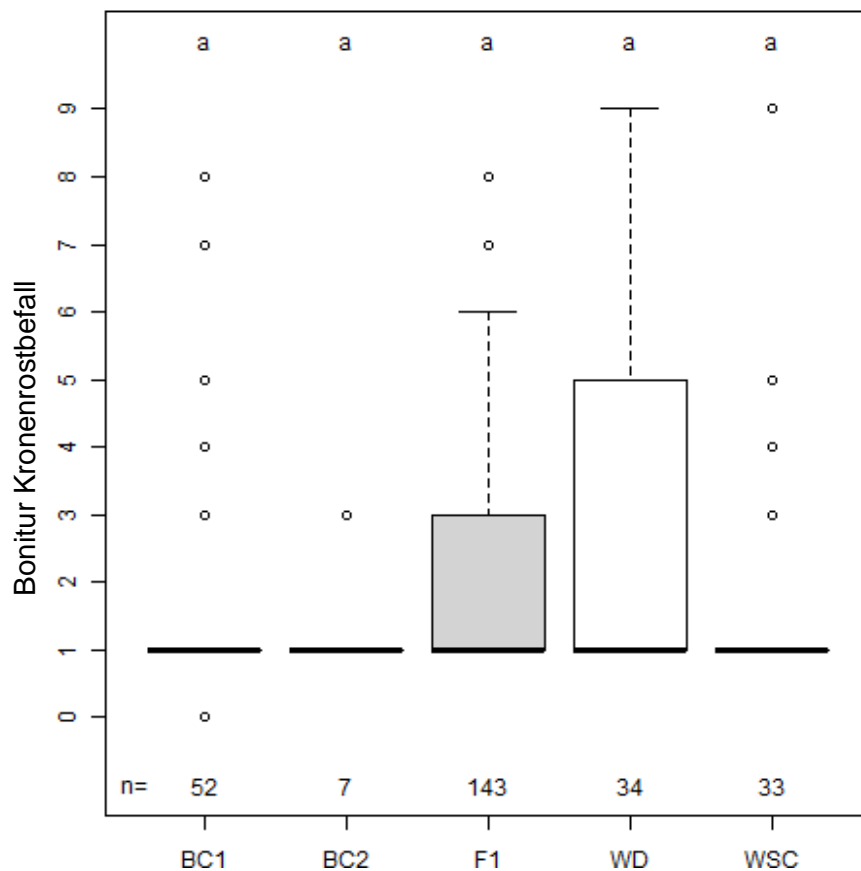


Abbildung 54: Vergleich von Dt. Weidelgras und Wiesenschwingel mit den F1-, BC1- und BC2-Nachkommenschaften bezüglich Kronenrost* in Ph2013La (Kruskal-Wallis-Test, $p < 0,05$)

* Bonitur-Skala 1–9 (0=tot, 1–9 befallsfrei – max. Befall)

In Kr2013Pu wurde nur ein geringer Befall mit Kronenrost festgestellt: lediglich einzelne WSC-Pflanzen zeigten Symptome. Keine Nachkommenschaft wurde von den beiden bonitierten *Puccinia*-Arten gänzlich befallen, Symptome zeigten in der Regel nur einzelne Pflanzen. Einige WSC-Genotypen (WSCAnth2) zeigten ungewöhnlich hohe Befallsraten mit Kronenrost im Gegensatz zu den anderen WSC-Genotypen und den FEL-Pflanzen. Da die Infektion mit den Pilzpathogenen nicht an jedem Standort in jedem Jahr gleich stark ausfiel, wurden wenig betroffene Pflanzungen nicht auf Rostbefall

bonitiert. Zwar zeigten Nachkommenschaften bestimmter Elternpflanzen eine höhere Infektion; das betraf aber eben nur einzelne Nachkommen.

10.3. Diskussion

Bezüglich der Entwicklungsgeschwindigkeit (Ährenschiebendatum ZPAESCH) wurde festgestellt, dass der genetische Einfluss des WD-Elters auf die Kreuzungsnachkommen auch über mehrere Rückkreuzungsgenerationen noch erkennbar war. Mithin war hier ein erblicher Effekt durch die WD-Pflanzen gegeben. In Bezug auf die Massenbildung zeigten die F1-Pflanzen in der Anfangsentwicklung und Massenbildung im Nachwuchs in jeder Pflanzung im Mittel die höchsten Boniturnoten (Tabelle 39). Bei den BC-Pflanzen waren die Boniturnoten im Mittel geringer als bei den F1-Pflanzen. WSC-Pflanzen erhielten im zweiten Standjahr tendenziell höhere Boniturnoten als im ersten. Das bestätigte wiederum die langsamere Etablierung von Wiesenschwingel. Allerdings war bei allen Generationen eine hohe Variabilität der Kreuzungen erkennbar. Ebenso verhielt es sich mit dem Merkmal Auswinterung, wobei hier nicht immer signifikante Unterschiede zwischen den Generationen feststellbar waren. Wie erwartet wiesen die WSC-Pflanzen die beste Winterhärte auf.

Von den Rostkrankheiten waren meist nur einzelne Pflanzen befallen. Für Kronenrostresistenz sind sowohl qualitative als auch quantitative Resistenzmechanismen in Dt. Weidelgras bekannt (Dumsday et al., 2003). Andere Forschungsergebnisse zeigen eine negative Korrelation zwischen Rostresistenz und Ertrag (Reheul & Ghesquière, 1996). Dennoch wurde Kronenrostresistenz aus Wiesenschwingel erfolgreich in Welsches Weidelgras überführt (Armstead et al., 2006). Die eigenen Rückkreuzungen zu WSC sollten daher mit zunehmender BC-Generation eine immer höhere Resistenz aufweisen. Eine generelle Verbesserung der Resistenz konnte hier jedoch nicht festgestellt werden. Daher muss die Identifikation von resistenten Elternpflanzen verstärkt fortgesetzt werden.

Es deutete sich an, dass die FEL-Generationen gegenüber Schwarzrost eine bessere Resistenz aufweisen als die WSC-Pflanzen, die im Rahmen unserer Kreuzungen und Feldversuche verwendet wurden.

Insgesamt lässt sich auch anhand der Feldbonituren feststellen, dass in dem FEL-Bastardmaterial eine hohe Variabilität vorhanden ist, auf deren Grundlage züchterisch weiter erfolgversprechend gearbeitet werden kann.

11. Zusammenfassung

Ziel des Projekts war die Erweiterung der Diversität von diploidem Wiesenschwingel (*Festuca pratensis*, $2n=2x=14$, WSC) durch die Einkreuzung von diploidem Deutschem Weidelgras (*Lolium perenne*, $2n=2x=14$, WD). Die erfolgreiche Erzeugung von F1-Pflanzen war schon vor Projektbeginn sichergestellt. Rückkreuzungen der F1 mit den Elternspezies (BC-Generationen) wurden vor Projektbeginn im Gewächshaus unter Zuhilfenahme der Embryonenkultur durchgeführt; dieses Prozedere erwies sich als ebenso aufwendig wie die Erstellung der F1-Pflanzen selbst. Vorallem da auf den Rückkreuzungen mit WSC das Hauptaugenmerk lag.

Durch zusätzliche Freilandkreuzungen konnte die Anzahl potentieller BC-Pflanzen erhöht werden. Hier musste jedoch aus einer Mehrzahl an Rückkreuzungen zu WD oder Kreuzungen mit anderen FEL-Pflanzen ausselektiert werden. Das erhöhte den Aufwand bei der Aussaat und anschließenden Auswahl verifizierter BC-Pflanzen. Aus diesem Grund wurde die genetische Verifizierung anhand von fünf SSR-Markern etabliert, wodurch die Verifikation der Kreuzungen erleichtert wurde. Eine Feststellung der jeweiligen „wahren“ Vaterpflanze war auch mithilfe von SSR - wie bei den AFLP-Analysen - nicht immer möglich. Anhand der genetischen Analysen konnte festgestellt werden, dass die für WSC-Pflanzen typische Blattrollung und ihr Fehlen bei potentiellen BC-Pflanzen eine hohe Korrelation mit den Marker-Analysen aufwies und somit auch auf das Merkmal „jüngstes Blatt gerollt“ hin selektiert werden konnte.

Aufgrund der Samenernte im Freiland konnten einzelne Pflanzen identifiziert werden, die einen erhöhten Samenansatz und daher auch eine verbesserte weibliche Fertilität aufwiesen. Eine vollständige Restauration der Fertilität konnte in den bisher erstellten BC-Generationen jedoch (erwartungsgemäß) noch nicht festgestellt werden. Bereits in der BC2-Generation konnten im Gewächshaus Pflanzen identifiziert werden, die Pollen aus den Antheren entließen und damit eine verbesserte männliche Fertilität dieser Pflanzen anzeigten. Aber auch in diesen Fällen war die Fertilität nicht generell erhöht (Tabelle 31). Die fertilen BC2-Pflanzen können in zukünftigen Kreuzungen als Pollendonator dienen und so die evt. geringe weibliche Fertilität umgehen, weil WSC dann als Pollenakzeptor (Mutter) dient.

Um die Jugendentwicklung potentieller BC-Pflanzen zu bewerten, konnte eine verbesserte Methode etabliert werden. Wichtige Boniturtermine waren BBCH09 (Auflaufen) und BBCH21 (Beginn der Bestockung), denn der Zeitraum zwischen diesen beiden Stadien erwies sich als gut geeignet für eine Selektion auf schnelle Jugendentwicklung. Durch eine parallele Erfassung des Längenwachstums konnten Pflanzen identifiziert werden, die zwar schnell bestockten, doch in der Blattstreckung zurückblieben und somit auch keine zügige Bestandsetablierung gewährleisten. Im Laufe der Versuche konnten relevante Umwelteffekte auf die Jugendentwicklung identifiziert werden: Dazu gehören die Umgebungstemperatur, das TKG sowie

jahreszeitliche Effekte (Sonneneinstrahlung, etc.). In Relation zu geeigneten Weidelgras- und Wiesenschwingel-Standardsorten konnten in den Versuchen jedoch Pflanzen mit ähnlich zügiger Jugendentwicklung wie bei WD detektiert werden. Der festgestellte Zusammenhang zwischen Massenwachstum und den Parametern Auflaufen bis Wuchshöhe 20 cm (WH4) und Auflaufen bis Bestockung konnte ebenfalls verifiziert werden.

Ein weiterer Ansatz beschäftigte sich mit dem Wurzelwachstum der potentiellen BC-Pflanzen. Das Saatgut einer F1-Pflanze konnte in einem eigens durchgeführten Gewächshausexperiment verwendet und der Aufwuchs beobachtet werden. Die potentiellen BC1-Pflanzen zeigten Heterosiseffekte und wiesen dadurch im Versuch die höchste Wurzelmasse auf. Die WSC-Pflanzen bildeten weniger Wurzelmasse. Ein Grund könnte der zu kurze Versuchszeitraum sein, der es WSC-Pflanzen nicht erlaubte das ausgeprägte Wurzelwerk von Wiesenschwingel zu etablieren. Ob weitere BC-Familien ebenso ausgeprägte Heterosiseffekte im Wurzelwachstum aufweisen, bleibt noch zu überprüfen.

In den Versuchen zur Frosttoleranz, *Microdochium*- und *Xanthomonas*-Resistenz zeigten einzelne Genotypen eine verbesserte oder gleich hohe Widerstandsfähigkeit im Vergleich mit dem toleranten bzw. resistenten Elter. In den geprüften Nachkommenschaften wurde eine hohe Variation festgestellt. Einzelne Pflanzen wiesen die gewünschten Merkmale auf.

Die Boniturergebnisse des Ährenschiebenzeitpunkts (ZPAESCH) weisen auf eine hohe Heritabilität dieses Merkmals hin. In den BC-Generationen war der genetische Effekt des verwendeten WD-Elters noch erkennbar. Die Nachkommenschaften waren hochgradig divers; durch die Verwendung eines frühen oder späten WD-Elters konnte der Zeitpunkt des Ährenschiebens in die jeweilige Richtung gelenkt werden, d.h. frühere oder spätere Nachkommen selektiert werden. WSC weist bezüglich dieses Merkmals gegenüber WD eine geringere Variation auf.

Bezüglich der Massenbildung im Freiland konnten erwartungsgemäß vor allem in der F1 Heterosiseffekte beobachtet werden. Die BC-Generationen wiesen eine geringere Wuchsleistung als die F1 auf, aber häufig noch eine höhere als der WSC-Elter. Sowohl die F1 als auch die BC-Generationen zeigten mit der Zunahme der Hauptnutzungsjahre einen Rückgang der Massenbildung. Aber auch diesbezüglich erwies sich das Material als höchst divers, so dass die Selektion von verbesserten Einzelpflanzen möglich ist.

Bezüglich des Merkmals Winterhärte im Freiland zeigten die FEL-Pflanzen eine mit WSC vergleichbare Leistung. Ein signifikanter Rückgang der Winterhärte durch das Einkreuzen von Weidelgras konnte somit nicht festgestellt werden.

Im Schaugarten wurde Rostbefall, verursacht durch zwei *Puccinia*-Arten beobachtet. Insbesondere der Schwarzrost befiel verstärkt WSC-Pflanzen. Unter den FEL-Pflanzen befanden sich lediglich einzelne befallene Individuen.

Abschließend kann festgestellt werden, dass die verschiedenen Festulolium-Nachkommenschaften (FEL-Generationen) eine hohe phänotypische Variabilität zeigten. Die Feststellungen zu einzelnen Merkmalen (z.B. Blühzeit, Längen- und Massenwuchs) lassen auf das Vorliegen genetischer Variation schließen. Tabelle 31 gibt eine Zusammenfassung der erfassten Merkmale sowie deren Ausprägung in den jeweiligen Züchtungsgenerationen wieder. Nicht immer konnte eine generelle Verbesserung der erwünschten Eigenschaft festgestellt werden, wie beispielsweise bei der Frosttoleranz. Vorallem dann ist eine weitere Beobachtung der Nachkommenschaften und Selektion der vielversprechendsten Einzelpflanzen notwendig. Die vorerst noch nicht voll restaurierte Fertilität der BC-Pflanzen stellt für die weitere Züchtungsarbeit eine gewisse Schwierigkeit, aber kein absolutes Hindernis dar. Da die Rückkreuzungen mit Deutschem Weidelgras wesentlich erfolgreicher waren als diejenigen mit Wiesenschwingel, ist mit diesen Bastarden auch ein großer genetischer Pool für die künftige Weidelgraszüchtung geschaffen worden.

Tabelle 31: Zusammenfassung der Ausprägung der untersuchten Merkmale über Kreuzungseltern und Generationen

Merkmale	WD	WSC	F1	BC1	BC2
Fertilität	+	+	0	0	+ *
Xanthomonas-Resistenz	0	++	Na	0 bis ++	+
Microdochium-Resistenz	+	0	+	+	+
Frosttoleranz	0	++	+	0	0
Jugendentwicklung	+++	0	na	0 bis ++	0 bis +
Wurzelwachstum	++	0	na	+++ **	na
Massenbildung	++	0	+++	+	+
Winterfestigkeit	0	++	+	0	+

0: geringste Ausprägung des Merkmals; +++: höchste Ausprägung des Merkmals

* Einzelne Pflanzen identifiziert, die Pollen aus Antheren entließen, aber keine Kreuzungen durchgeführt

** Alle untersuchten Pflanzen vermutlich Rückkreuzungen zu WD

Literatur

- Angus, J. F., Cunningham, R. B., Moncur, M. W. & Mackenzie, D. H. (1980). Phasic development in field crops I. Thermal response in the seedling phase. *Field Crops Research*, 3, 365-378.
- Arias Aguirre, A., Studer, B., Do Canto, J., Frei, U. & Lübberstedt, T. (2014). Validation of two models for self-incompatibility in autotetraploid perennial ryegrass using high resolution melting-based markers. *Plant Breeding*, 133 (6), 765-770.
- Armstead, I. P., Harper, J. A., Turner, L. B., Skøt, L., King, I. P., Humphreys, M. O., Morgan, W. G., Thomas, H. M. & Roderick, H. W. (2006). Introgression of crown rust (*Puccinia coronata*) resistance from meadow fescue (*Festuca pratensis*) into Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*): genetic mapping and identification of associated molecular markers. *Plant Pathology*, 55 (1), 62-67.
- Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, LfL (2005). Rostbefall an Gräsern in Grünland und Feldfutterbau Bayerns: ein Überblick. http://www.lfl.bayern.de/mam/cms07/publikationen/daten/informationen/p_19979.pdf (Aufgerufen am 27.04.2016).
- Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, LfL (2016). Agrarmeteorologie Bayern. www.wetter-by.de (Aufgerufen am 23.04.2016).
- Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, LfL (2016a). Deutsches Weidelgras - *L. perenne* L. <http://www.lfl.bayern.de/ipz/gruenland/022269/index.php> (Aufgerufen am 26.11.2016).
- Benke, M. (2000). So gelingt die Nachsaat problemlos. *Top Agrar*. 3/2000, 110-114.
- Borstel, U. von, Vormann, M., Leisen, E. (2008). Einfluss der Bewirtschaftungsintensität auf die Durchwurzelungstiefe der Grünlandnarbe. Abschlussbericht. Leitbetriebe ökologischer Landbau Nordrhein-Westfalen. http://www.oekolandbau.nrw.de/pdf/projekte_versuche/lb09_versuchsbericht_2008/23_Durchwurzelungstiefe_FB_08.pdf (Aufgerufen am 11.09.2016)
- Buckner, R. E., Boling, J. A., Burrus, P. B., Bush, L. P., & Hemken, R. A. (1983). Registration of Johnstone Tall Fescue1 (Reg. No. 23). *Crop Science*, 23 (2), 399-400.
- Buckner, R., Burrus, P. & Bush, L. (1977). Registration of Kenhy Tall Fescue1 (Reg. No. 12). *Crop Science*, 17 (4), 672-673.
- Bundesministerium der Justiz (2010). Verordnung über das Artenverzeichnis zum Saatgutverkehrsgesetz. http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/saatartverz_1985/gesamt.pdf (Aufgerufen am 25.02.2015).
- Bundessortenamt (2000). Richtlinien für die Durchführung von landwirtschaftlichen Wertprüfungen und Sortenversuchen.
- Bundessortenamt (2009). Beschreibende Sortenliste, Futtergräser, Esparsette, Klee, Luzerne. Hannover.
- Bundessortenamt (2011). Beschreibende Sortenliste, Futtergräser, Esparsette, Klee, Luzerne. Hannover.
- Bundessortenamt (2013). Beschreibende Sortenliste, Futtergräser, Esparsette, Klee, Luzerne. Hannover.
- Bundessortenamt (2016). Beschreibende Sortenliste, Futtergräser, Esparsette, Klee, Luzerne. www.bundessortenamt.de (Aufgerufen am 01.12.2016).

- Cernoch, V., Houdek, I. & Capka, R. (2004). Festulolium-grass for future. In: *Bericht über die 55. Tagung 2004 der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs*, HBLFA Raumberg – Gumpenstein, 23. – 24. November 2004.
- Cornish, M., Hayward, M. & Lawrence, M. (1979). Self-incompatibility in ryegrass. *Heredity*, 43 (1), 129-136.
- Deutsche Saatveredelung AG (2015). Fedoro. <https://www.dsv-seeds.com/forage/Forage-grass-varieties/festulolium/fedoro.html> (aufgerufen am: 12.03.2016).
- Deutsche Saatveredelung AG (2011). LIFEMA - Wiesenschweidel. http://www.dsv-saaten.de/futterbau_und_gruenland/graeser/wiesenschweidel/ (Aufgerufen am: 28.04.2011).
- Deutscher Wetterdienst (2016). www.dwd.de (Aufgerufen am 23.04.2016).
- Dhanda, S., Sethi, G. & Behl, R. (2004). Indices of drought tolerance in wheat genotypes at early stages of plant growth. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 190 (1), 6-12.
- Dietl, W., Lehmann, J., Jorquera, M. (1998). *Wiesengräser*. Landwirtschaftliche Lehrmittelzentrale Zollikofen.
- Diepolder, M. & Raschbacher, S. (2007). „Kleine Gräserkunde“ - Bestimmung der wichtigsten Gräser des Wirtschaftsgrünlands. http://www.lfl.bayern.de/mam/cms07/iab/dateien/graeserkunde_2.pdf (Aufgerufen am 12.03.2016).
- DLF Trifolium (2010). The Marketing Newsletter - Prograss. http://www.dlf.com/upload/prograss_0610_web_002.pdf (Aufgerufen am: 25.03.2011).
- DLF Trifolium (2011). Achilles/Festulolium. http://www.dlf.com/Home/DLF_Trifolium_D/Futtergraser/Festulolium/Achilles.aspx (Aufgerufen am: 25.03.2011).
- Dummsday, J., Smith, K., Forster, J. & Jones, E. (2003). SSR based genetic linkage analysis of resistance to crown rust (*Puccinia coronata f. sp. lolii*) in. *Plant Pathology*, 52 (5), 628-637.
- Durand, J.-L., Gastal, F., Etchebest, S., Bonnet, A-C., Ghesquière, M. (1997). Interspecific variability of plant water status and leaf morphogenesis in temperate forage grasses under summer water deficit. *European Journal of Agronomy*, 7, 99–107.
- Durand, J.-L., Bariac, T., Ghesquière, M., Biron, P., Richard, P., Humphreys, M., Zwierzykowski, Z. (2007). Ranking of the depth of water extraction by individual grass plants, using natural ¹⁸O isotope abundance. *Environmental and Experimental Botany*, 60, 137–144.
- Ferris, R., Nijs, I., Behaeghe, T. & Impens, I. (1996). Contrasting CO₂ and temperature effects on leaf growth of perennial ryegrass in spring and summer. *Journal of Experimental Botany*, 47 (8), 1033-1043.
- Ghesquière, M., Humphreys, M. & Zwierzykowski, Z. (2010a). Festulolium hybrids: results, limits and prospects. In: *Sustainable Use of Genetic Diversity in Forage and Turf Breeding*. Springer Netherlands. 495-507.
- Ghesquière, M., Humphreys, M. W. & Zwierzykowski, Z. (2010b). Festulolium. In: *Fodder Crops and Amenity Grasses*. Springer Netherlands. 288-311.
- Hahn, H., Schöberlein, W. & Förster, K. (1997). Differentiation of *Festuca pratensis* varieties and Festulolium hybrids by electrophoresis. In: *International Grassland Congress* (Ed.), 29-30.

- Hampton, J. G. (1986). Effect of seed and seed lot 1000-seed weight on vegetative and reproductive yields of 'Grasslands Moata' tetraploid Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, 14 (1), 13-18.
- Hartmann, S., Bauer, J., & Richter, W. (2006). Ergebnisse aus ersten Untersuchungen zur toxischen Wirkung von Rostpilzen an Gräsern auf Säugetierzellen. *Die Zukunft von Praxis und Forschung in Grünland und Futterbau. 50. Jahrestagung der AGGF*, 108-111.
- Hazard, L., Ghesquière, M., & Barraux, C. (1996). Genetic variability for leaf development in perennial ryegrass populations. *Canadian Journal of Plant Science*, 76 (1), 113-118.
- Heinz, S. & Kuhn, G. (2008). 20 Jahre Bodendauerbeobachtung in Bayern - Teil 2: Vegetation auf Äckern und im Grünland. ES-Druck, Tüntenhausen.
- Herndl, M., Kandolf, M., Bohner, A., Krautzer, B., Graiss, W. & Schink, M. (2011). Wurzelparameter von Gräsern, Kräutern und Leguminosen als Grundlage zur Bewertung von Trockenheitstoleranz im Grünland. *Plant Roots in the Soil-Plant-Atmosphere System*, 1, 45-53.
- Humphreys, M. W., MacLeod, C. J. A., Whalley, W. R., Turner, L. B., Farrell, M. S., Ghesquière, M., & Haygarth, P. M. (2013). Designing grass cultivars for droughts and floods. In *Breeding Strategies for Sustainable Forage and Turf Grass Improvement*. Springer Netherlands, 171-179.
- 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.
- Humphreys, M., Turner, L., O'Donovan, S., Macleod, C., King, I., Whalley, W., Haygarth, P., Schnyder, H., Isselstein, J. & Taube, F. (2010). Grass root turn-over for improved soil hydrology to combat flooding. In *Grassland in a changing world. Proc. 23rd General Meeting European Grassland Federation, Kiel, Germany, 29. August-2. September 2010*, Mecke Druck und Verlag, 764-766.
- Jenkin, T. J. (1933). Interspecific and intergeneric hybrids in herbage grasses. Initial crosses. *Journal of Genetics*, 28 (2), 205-264.
- Jenkin, T. J. (1955). Interspecific and intergeneric hybrids in herbage grasses XVI. *Lolium perenne* and *Festuca pratensis* with references to *Festuca loliacea*. *Journal of Genetics* 53 (3), 379-441.
- Klapp, E., Opitz v. Boberfeld, W. (2004). Gräserbestimmungsschlüssel für die häufigsten Grünland- und Rasenräser. Eugen Ulmer GmbH & Co, Stuttgart.
- Kosmala, A., Zwierzykowski, Z., Gąsior, D., Rapacz, M., Zwierzykowska, E., & Humphreys, M. W. (2006). GISH/FISH mapping of genes for freezing tolerance transferred from *Festuca pratensis* to *Lolium multiflorum*. *Heredity*, 96 (3), 243-251
- Larsen, A. (1994). Breeding winter hardy grasses. In *Breeding Fodder Crops for Marginal Conditions*. Springer Netherlands, 149-158.
- Lenuweit, U., & Gharadjedaghi, B. (2002). Biologische Basisdaten zu *Lolium perenne*, *Lolium multiflorum*, *Festuca pratensis* und *Trifolium repens*. Umweltbundesamt, Berlin.
- Lewis, E., Tyler, B. & Chorlton, K. (1973). Development of *Lolium-Festuca* hybrids. *Annual Report of the Welsh Plant Breeding Station for 1972*, 34-37.
- Lundquist, A. (1961). Self-incompatibility in *Festuca pratensis* HUDS. *Hereditas*, 47 (3-4), 542.
- Lunenberg, T. (2012). Genetische Variabilität in frühen Generationen bei Artbastarden zwischen Deutschem Weidelgras und Wiesenschwingel. Master-Thesis. Universität Hohenheim. http://www.lfl.bayern.de/mam/cms07/ipz/dateien/master_thesis_lunenberg_2012.pdf (Aufgerufen am 25.02.2015).

- Mendiburu, F. de (2014). *agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*.
- Mozafar, A. & Oertli, J. J. (1992). Root-zone temperature and salinity: Interacting effects on tillering, growth and element concentration in barley. *Plant and Soil*, 139 (1), 31-38.
- Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15 (3), 473-497.
- Østrem, L., Larsen, A., & Pašakinskienė, I. (2007). Prebreeding of Festulolium (Lolium x Festuca hybrids). *Breeding for seed production for conventional and organic agriculture, XXVI Eucarpia Fodder Crops and Amenity Grasses Section*, 47-51.
- Peacock, J. M. (1975). Temperature and leaf growth in 'Lolium perenne'. II. The site of temperature perception. *The Journal of Applied Ecology*, 12 (1), 115.
- Posselt, U. K. & Altpeter, F. (1994). Improvement of snow mould resistance by conventional and in vitro techniques. *Euphytica*, 77(3), 251-255.
- Puranik, S. & Mathre, D. (1971). Biology and control of ergot on male sterile wheat and barley. *Phytopathology*, 17 (4), 1075-1080.
- Rapacz, M.; Ergon, A.; Höglind, M.; Jørgensen, M.; Jurczyk, B.; Østrem, L.; Rognli, O. A.; Tronsmo, A. M. (2014). Overwintering of herbaceous plants in a changing climate. Still more questions than answers. *Plant Science*, 225, 34-44.
- R Core Team (2014). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria: Springer.
- Reheul, D. & Ghesquière, A. (1996). Breeding perennial ryegrass with better crown rust resistance. *Plant Breeding*, 115 (6), 465-469.
- Robson, M. J. (1974). The effect of temperature on the growth of s170 tall fescue (*Festuca arundinacea*). III. Leaf growth and tiller production as affected by transfer between contrasting regimes. *Journal of Applied Ecology*, 100 (3-4), 265-279.
- Röder, M. S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M. H., Leroy, P. & Ganal, M. W. (1998). A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 149 (4), 2007-2023.
- Saha, M. C., Cooper, J. D., Mian, M. R., Chekhovskiy, K., & May, G. D. (2006). Tall fescue genomic SSR markers: development and transferability across multiple grass species. *Theoretical and Applied Genetics*, 113 (8), 1449-1458.
- Schubinger, F. X. (2014). *Microdochium nivale* (Fries) Samuels & Hallett. <http://pflanzenkrankheiten.ch/de/krankheiten-an-kulturpflanzen/futtergraeser-und-rasen/wiesenfuchsschwanz/226-schneeschimmel-ap> (Aufgerufen am: 13.04.2016).
- Schubinger, F. X. (2016a). Krankheiten an Raigräsern / Weidelgräsern. <http://www.pflanzenkrankheiten.ch/de/krankheiten-an-kulturpflanzen/futtergraeser-und-rasen/weidelgraeser-raibraeser> (Aufgerufen am: 13.04.2016).
- Schubinger, F. X. (2016b). Krankheiten an Wiesenschwingel (*Festuca pratensis*). <http://www.pflanzenkrankheiten.ch/de/krankheiten-an-kulturpflanzen/futtergraeser-und-rasen/wiesenschwingel> (Aufgerufen am: 13.04.2016).
- Schubinger, F. X. (2016c). Schwarzrost. <http://www.pflanzenkrankheiten.ch/de/krankheiten-an-kulturpflanzen/futtergraeser-und-rasen/weidelgraeser-raibraeser/106-puccinia-graminis-lolium> (Aufgerufen am 25.04.2016).
- Schubinger, F. X. (2016d). *Xanthomonas translucens* pv. *graminis*. <http://www.pflanzenkrankheiten.ch/de/krankheiten-an-kulturpflanzen/futtergraeser-und-rasen/weidelgraeser-raibraeser/209-xanthomonas-translucens-graminis-lolium> (Aufgerufen am 15.04.2016).

- Seefeldler, S. & Hartmann, S. (2006). Molekulare Ansätze zur Unterstützung der Gräserzüchtung an der LfL. In: *Die Zukunft von Praxis und Forschung in Grünland und Futterbau. 50. Jahrestagung der AGGF*. 158-161.
- Šimkūnas, A., Valaškaitė, S., & Pašakinskienė, I. (2007). Root growth characteristics of *Festuca*, *Lolium* and *Festulolium* in relation to stress tolerance. *Biologija*, 18(1), 64-68.
- Studer, B., Widmer, F., Enkerli, J. & Koelliker, R. (2006). Development of novel microsatellite markers for the grassland species *Lolium multiflorum*, *Lolium perenne* and *Festuca pratensis*. *Molecular Ecology Notes*, 6 (4), 1108-1110.
- Suter, D., Briner, H., Mosimann, E., Demenga, M. & Jeangros, B. (2007). Offizielle Sortenversuche mit *Festulolium braunii*. *AGRARForschung*, 118 (1), 294-299.
- Tamura, K. I., Yonemaru, J. I., Hisano, H., Kanamori, H., King, J., King, I. P., Tase, K., Sanada, Y., Komatsu, T. & Yamada, T. (2009). Development of intron-flanking EST markers for the *Lolium/Festuca* complex using rice genomic information. *Theoretical and Applied Genetics*, 118 (8), 1549-1560.
- Touno, E., Kushibiki, S., Shingu, H., Shinoda, M., Oshibe, A., Oda, S., & Saiga, S. (2011). Evaluation of festulolium (\times *Festulolium braunii*) 'Paulita' haylage in dairy cows: Nutritive value, dry matter intake, animal performance and rumen degradability. *Grassland Science*, 57 (1), 51-57.
- Tronsmo, A. M., Hsiang, T., Okuyama, H. & Nakajima, T. (2001). Low temperature diseases caused by *Microdochium nivale*. In: *Low Temperature Plant Microbe Interactions Under Snow*. Editors: N. Iriki, D.A. Gaudet, A.M. Tronsmo, N. Matsumoto, M. Yoshida and A. Nishimune. Hokkaido National Agricultural Experiment Station, 75-86.
- UPOV (2002). Allgemeine Einführung zur Prüfung auf Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit und Erarbeitung harmonisierter Beschreibungen von neuen Pflanzensorten. <http://www.upov.int/de/publications/tg-rom/tg001> (Aufgerufen am: 10.03.2011)
- Van Minnebruggen, A., Cnops, G., Saracutu, O., Goormachtig, S., Van Bockstaele, E., Roldan-Ruiz, I. & Rohde, A. (2014). Processes underlying branching differences in fodder crops. *Euphytica*, 195 (2), 301-313.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van de Lee, T., Hornes, M., Friters, A., Pot, J., Paleman, J. & Kuiper, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23 (21), 4407-4414.
- Westermeier, P., Willner, E., Wosnitza, A., Feuerstein, U., Luesink, W., Schulze, S., Schum, A. & Hartmann, S. (2015). Genetische Variation des Merkmals Trockentoleranz in Deutschem Weidelgras (*Lolium perenne* L.). *59. Jahrestagung der AGGF in Aulendorf*. 97-100.
- Wit, F. (1959). Hybrids of ryegrasses and meadow fescue and their value for grass breeding. *Euphytica*, 8 (1), 1-12.
- Zwierzykowski, Z., Kosmala, A., Zwierzykowska, E., Jones, N., Joks, W., Bocianowski, J. (2006). Genome balance in six successive generations of the allotetraploid *Festuca pratensis* \times *Lolium perenne*. *Theoretical and Applied Genetics*, 113 (3), 539-547.

Anhang

Tabelle 32: Nomenklatur der Pflanzen

Bezeichnung	Definition
<i>Art_SortenameZahl</i>	Ein spezieller Genotyp der Sorte, die als Elter verwendet wurde. Beispiel: WD_Aberavon1
<i>Art_Sortenname</i>	verschiedene Pflanzen einer Sorte der Art WD oder WSC, die als Elter verwendet wurden. Beispiel WD_Aberavon
BC1(...	Präfix für verifizierten BC1-Pflanzen, Nachkommen einer Sorte oder Mutterpflanze
BC2(...	Präfix für verifizierten BC2-Pflanzen, Nachkommen einer Sorte oder Mutterpflanze
F1(<i>Art_Sortenname</i>)	F1 Nachkommen verschiedener Pflanzen aus einer Sorte
F1(<i>Art_SortennameZahl</i>)	F1 Nachkommen einer bestimmten Pflanze aus einer Sorte
FEL	<i>Festulolium</i> (<i>Festuca</i> x <i>Lolium</i> Kreuzungen und ihre Nachkommenschaften)
<i>GenerationSorteJahr-Zahl</i>	Verifizierte F1, BC1 oder BC2 Einzelpflanze. Beispiel: F1Arabella2011-156
Nk(BC1...	Präfix für nicht verifizierte Nachkommenschaft von BC1-Pflanzen
Nk(F1...	Präfix für nicht verifizierte Nachkommenschaft von F1 Pflanzen

Tabelle 33: Induktionsmedium für die Embryonenkultur bei Weizen x Mais Kreuzungen (persönl. Mitt. Baumann, IPZ1a)

Makronährstoffe	Konzentration	Einwaage	Zugabe	Stammlösung
	im Medium mg/Ltr.	Stammlösung in g/Ltr.	von....ml/Ltr.	
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	Einwaage	Zugabe	Stammlösung
	im Medium mg/Ltr.	Stammlösung g/Ltr.	von....ml/Ltr.	
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	Einwaage	Zugabe	
	im Medium mg/Ltr.	Stammlösung g/Ltr.	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	
FeNa ₂ -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	

Tabelle 34: Regenerationsmedium für die Embryonenkultur bei Weizen x Mais Kreuzungen (persönl. Mitt. Baumann, IPZ1a).

Makronährstoffe	Konzentration	Einwaage	Zugabe	Stammlösung
	im Medium mg/Ltr.	Stammlösung g/ Ltr.	von....ml/Ltr.	
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	Einwaage	Zugabe	Stammlösung
	im Medium mg/Ltr.	Stammlösung g/Ltr.	von....ml/Ltr.	
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	Einwaage	Zugabe	
	im Medium mg/Ltr.	Stammlösung g/l	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	

Tabelle 35: Verwendete Lösungen zur Embryonenkultur: Hormonbehandlung und Desinfektion der Karyopsen.

Arbeitsschritt	Verwendete Lösungen
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)

**Abbildung 55: Sklerotien des Mutterkornpilzes (*Claviceps purpurea*) im Erntegut von F1-Pflanzen**

Tabelle 36: Mittlere oberirdische Frisch- (FM),Trockenmasse (TM) und Trockensubstanzgehalt (TS) im Versuch Wurzel2014

	Termin 1			Termin 3			Termin 6		
	FM [mg]	TM [mg]	TS [%]	FM [mg]	TM [mg]	TS [%]	FM [mg]	TM [mg]	TS [%]
Nk(F1Arabella2011-156)	24,2 (9,9)* a A**	3,2 (1,3) a A	13,2 (1,5) a AB	34,0 (12,4) a A	5,4 (1,8) a A	16,4 (2,3) ab AB	169,5 (56,7) a A	30,1 (8,8) a A	18,3 (3,6) b AB
Var_WD_Ivana	20,8 (9,3) ab	2,6 (1,2) a	12,7 (1,6) a	30,7 (12,0) a	4,8 (1,8) a	17,2 (7,1) ab	171,0 (60,7) a	28,4 (9,9) a	17,2 (2,1) b
Var_WD_Arabella	14,5 (12,0) bc	1,6 (1,4) b	10,4 (2,3) b	20,4 (13,1) b	3,0 (1,9) b	14,7 (2,0) b	119,1 (64,5) b	19,0 (10,1) b	17,3 (6,5) b
WD Gesamtmittelwert	17,9 (11,0) B	2,1 (1,4) B	11,8 (2,2) B	25,9 (13,5) B	4,0 (2,0) B	16,1 (5,5) B	146,5 (67,2) A	24,0 (11,0) B	17,3 (4,6) B
Var_WSC_Cosima	12,7 (7,4) c	1,7 (1,0) b	12,9 (1,8) a	15,7 (8,9) b	2,8 (1,4) b	18,4 (3,0) ab	78,7 (44,4) bc	14,8 (8,1) bc	20,1 (5,7) ab
Var_WSC_Cosmolit	12,6 (5,3) c	1,7 (0,8) b	14,0 (4,2) a	15,6 (8,0) b	2,8 (1,4) b	18,7 (5,3) a	56,3 (43,9) c	11,2 (7,7) c	26,3 (16,4) a
WSC Gesamtmittelwert	12,6 (6,3) C	1,7 (0,8) B	13,5 (3,4) A	15,6 (8,3) C	2,8 (1,4) C	23,4 (4,4) A	66,3 (45,1) B	12,8 (8,0) C	23,4 (12,8) A

* Wert in Klammer entspricht der Standardabweichung

** Verschiedene Großbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen Nk(F1Arabella2011-156), WD und WSC an; verschiedene Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Sorten an (ANOVA, LSD-Test, $p < 0,05$).

Tabelle 37: Mittlere Wurzellänge [cm] der einzelnen Prüfglieder zu 6 Terminen, sowie der Gesamtmittelwert der Dt. Weidelgras- und Wiesenschwingel-Sorten

	Termin 1	Termin 2	Termin 3	Termin 4	Termin 5	Termin 6
Nk(F1Arabella2011-156)	5,6 (3,3)* a A**	6,3 (3,2) a A	7,0 (3,0) a A	7,0 (3,2) ab A	7,4 (3,0) a A	10,5 (1,7) a A
Var_WD_Ivana	4,5 (2,5) ab	6,1 (2,3) ab	7,0 (2,2) a	7,2 (2,1) a	7,6 (1,7) a	9,9 (2,1) ab
Var_WD_Arabella	2,2 (1,9) c	3,4 (2,2) c	3,5 (3,5) b	4,1 (2,2) c	5,1 (2,1) b	8,2 (2,3) b
WD Gesamtmittelwert	3,4 (2,5) B	4,8 (2,7) AB	5,4 (2,8) AB	5,8 (2,6) AB	6,4 (2,3) AB	9,1 (2,3) AB
Var_WSC_Cosima	3,3 (2,5) bc	4,0 (2,7) bc	4,4 (2,8) b	4,9 (2,8) bc	5,9 (2,8) ab	8,7 (3,0) ab
Var_WSC_Cosmolit	4,0 (2,1) abc	4,8 (2,4) abc	5,5 (2,4) ab	5,6 (2,4) abc	5,7 (2,3) ab	8,2 (2,3) b
WSC Gesamtmittelwert	3,7 (2,3) B	4,4 (2,6) B	5,0 (2,6) B	5,3 (2,6) B	5,8 (2,5) B	8,4 (2,6) B

* Wert in Klammer entspricht der Standardabweichung

** Verschiedene Großbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen Nk(F1Arabella2011-156), WD und WSC an; verschiedene Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Sorten an (ANOVA, LSD-Test, $p < 0,05$).

Tabelle 38: Mittlere Wurzelfrisch- (FM) und Wurzel trockenmasse (TM) sowie Trockensubstanzgehalt (TS) der Prüfglieder und Gesamtmittelwerte von WD und WSC aus Versuch Wurzel2014

	FM [mg]	TM [mg]	TS [%]
Nk(F1Arabella2011-156)	27,6 (15,1)* ab A**	6,6 (3,4) a A	26,3 (11,0) a A
Var_WD_Arabella	21,9 (15,0) ab	5,2 (3,3) ab	24,7 (9,7) a
Var_WD_Ivana	28,9 (16,6) a	7,2 (3,4) a	29,3 (17,1) a
WD Gesamtmittelwert	25,6 (16,1) A	6,2 (3,4) A	27,2 (14,2) A
Var_WSC_Cosima	14,6 (9,7) b	4,0 (2,4) b	29,8 (14,6) a
Var_WSC_Cosmolit	16,4 (23,0) ab	3,2 (2,0) b	25,5 (9,0) a
WSC Gesamtmittelwert	15,6 (18,1) B	3,5 (3,5) B	27,3 (11,8) A

* Wert in Klammer entspricht der Standardabweichung

** Verschiedene Großbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen Nk(F1Arabella2011-156), WD und WSC an; verschiedene Kleinbuchstaben geben signifikante Unterschiede zwischen den Sorten an (ANOVA, LSD-Test, $p < 0,05$).

Tabelle 39: Übersicht der Freilandbonituren der Kreuzungen 2011 bis 2013 in den Pflanzungen zur Phänotypisierung und den Pflanzungen zur Samenernte

Pflanzung	Generation/Art MBANF_2013 (Min, Max); n	MBANF_2014 (Min, Max); n	MBANF_2015 (Min, Max); n	MBNAWUS_07_2012 (Min, Max); n	MBNAWUS_08_2012 (Min, Max); n	MBNAWUS_08/ 09_2013 (Min, Max); n	MBNAWUS_07_2014 (Min, Max); n	MBNAWUS_09_2014 (Min, Max); n	Winterhärte2012/2013 (Min, Max); n	Winterhärte2013/2014 (Min, Max); n	Winterhärte2014/2015 (Min, Max); n
Kr2011Pu BC1	6 (1, 9); 68	3 (1, 7); 68	-	6 (1, 9); 70	5 (1, 9); 69	5 (1, 8); 68	-	4 (1, 8); 68	-3 (-7, 1); 69	-1 (-6, 2); 68	-
Kr2011Pu F1	9 (1, 9); 236	4 (1, 9); 239	-	8 (4, 9); 238	8 (5, 9); 238	7 (2, 9); 239	-	5 (1, 9); 239	-1 (-6, 5); 239	-1 (-5, 4); 239	-
Kr2011Pu WSC	3 (1, 9); 218	4 (1, 9); 254	-	-	-	4 (1, 8); 222	-	5 (0, 9); 253	0 (-1, 6); 132	0 (-6, 6); 259	-

Fortsetzung Tabelle 39

Pflanzung	Generation/Art	MBANF_2013 (Min, Max); n	MBANF_2014 (Min, Max); n	MBANF_2015 (Min, Max); n	MBNAWUS_07_2012 (Min, Max); n	MBNAWUS_08_2012 (Min, Max); n	MBNAWUS_08/09_2013 (Min, Max); n	MBNAWUS_07_2014 (Min, Max); n	MBNAWUS_09_2014 (Min, Max); n	Winterhärte2012/2013 (Min, Max); n	Winterhärte2013/2014 (Min, Max); n	Winterhärte2014/2015 (Min, Max); n
Kr2012Pu BC1	-	3,5 (0, 8); 4	2 (2, 4); 3	-	-	4 (0, 6); 4	-	3 (3, 6); 3	-	-4 (-8, 0); 4	-3 (-4, -1); 3	
Kr2012Pu BC2	-	4 (4, 4); 2	2 (2, 2); 2	-	-	3 (3, 3); 2	-	2 (2, 2); 2	-	-0,5 (-1, 0); 2	-0,5 (-1, 0); 2	
Kr2012Pu F1	-	7 (0, 9); 220	5 (1, 9); 217	-	-	6 (0, 9); 220	-	5 (0, 9); 219	-	-1 (-8, 7); 220	-3 (-7, 1); 219	

Fortsetzung Tabelle 39

Pflanzung	Generation/Art	MBANF_2013 (Min, Max); n	MBANF_2014 (Min, Max); n	MBANF_2015 (Min, Max); n	MBAWUS_07_2012 (Min, Max); n	MBAWUS_08_2012 (Min, Max); n	MBAWUS_08/09_2013 (Min, Max); n	MBAWUS_07_2014 (Min, Max); n	MBAWUS_09_2014 (Min, Max); n	Winterhärte2012/2013 (Min, Max); n	Winterhärte2013/2014 (Min, Max); n	Winterhärte2014/2015 (Min, Max); n
Kr2012Pu	WSC	-	5 (0, 8); 203	4 (1, 8); 201	-	-	4 (0, 7); 203	-	4 (1, 8); 202	-	-2 (-8, 3); 203	-2 (-6, 1); 202
Kr2013Pu	BC1	-	-	5 (1, 8); 53	-	-	-	6 (1, 8); 52	5 (1,8); 52	-	-	-3 (-7, 6); 53
Kr2013Pu	BC2	-	-	6 (2, 9); 7	-	-	-	6 (3, 8); 7	5 (2, 7); 7	-	-	-2 (-7, 2); 7

Fortsetzung Tabelle 39

Pflanzung		Generation/Art																										
		MBANF_2013 (Min, Max); n			MBANF_2014 (Min, Max); n			MBANF_2015 (Min, Max); n			MBAWUS_07_2012 (Min, Max); n		MBAWUS_08_2012 (Min, Max); n		MBAWUS_08/09_2013 (Min, Max); n		MBAWUS_07_2014 (Min, Max); n		MBAWUS_09_2014 (Min, Max); n		Winterhärte2012/2013 (Min, Max); n		Winterhärte2013/2014 (Min, Max); n		Winterhärte2014/2015 (Min, Max); n			
Kr2013Pu	F1	-	-	8 (1, 9); 138	-	-	-	7 (2, 9); 139	7 (0, 9); 139	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-2 (-6, 6); 138
Kr2013Pu	WSC	-	-	5 (1, 7); 163	-	-	-	4,5 (1, 8); 138	4 (0, 7); 138	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-3 (-7, 4); 163
Ph2011Schl	BC1	5 (1, 9); 66	5 (1, 9); 64	5 (1, 8); 64	6 (1, 9); 69	4 (1, 6); 69	4 (1, 6); 66	-	-	-3 (-8, 2); 69	-3 (-7, 0); 64	-3 (-7, 0); 64	-3 (-7, 0); 64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-3 (-7, 0); 64

Fortsetzung Tabelle 39

Pflanzung	Generation/Art	MBANF_2013 (Min, Max); n	MBANF_2014 (Min, Max); n	MBANF_2015 (Min, Max); n	MBNAWUS_07_2012 (Min, Max); n	MBNAWUS_08_2012 (Min, Max); n	MBNAWUS_08/09_2013 (Min, Max); n	MBNAWUS_07_2014 (Min, Max); n	MBNAWUS_09_2014 (Min, Max); n	Winterhärte2012/2013 (Min, Max); n	Winterhärte2013/2014 (Min, Max); n	Winterhärte2014/2015 (Min, Max); n
Ph2011Schl F1		8 (4, 9); 238	8 (1, 9); 238	7 (4, 9); 237	8 (3, 9); 239	5 (3, 8); 238	5 (1, 9); 236	-	-	-2 (-7, 2); 238	-2 (-7, 2); 237	-2 (-7, 2); 237
Ph2011Schl WD		3 (2, 6); 30	6 (1, 9); 30	5 (2, 7); 30	2 (1, 3); 30	2 (1, 3); 30	4 (2, 6); 30	-	-	-3 (-7, 3); 30	-4,5 (-7, 3); 30	-4,5 (-7, 0); 30
Ph2011Schl WSC		4 (2, 6); 17	2 (1, 9); 27	5 (2, 6); 27	1 (1, 2); 17	1 (1, 2); 17	5 (2, 7); 19	-	-	1 (-3, 5); 17	-3 (-7, 2); 27	-3 (-7, 2); 27

Fortsetzung Tabelle 39

	Pflanzung Generation/Art											
		MBANF_2013 (Min, Max); n	MBANF_2014 (Min, Max); n	MBANF_2015 (Min, Max); n	MBNAWUS_07_2012 (Min, Max); n	MBNAWUS_08_2012 (Min, Max); n	MBNAWUS_08/09_2013 (Min, Max); n	MBNAWUS_07_2014 (Min, Max); n	MBNAWUS_09_2014 (Min, Max); n	Winterhärte2012/2013 (Min, Max); n	Winterhärte2013/2014 (Min, Max); n	Winterhärte2014/2015 (Min, Max); n
Ph2012La BC1	-	2,5 (1, 4); 8	1 (1, 5); 8	-	-	3 (2, 5); 8	3 (1, 5); 8	2 (1, 6); 8	-	-1,5 (-3, 0); 8	-3 (-5, 1); 8	
Ph2012La BC2	-	3 (2, 4); 2	2,5 (2, 3); 2	-	-	3 (3, 3); 2	2 (2, 2); 2	2 (2, 2); 2	-	0 (0, 0); 2	-2,5 (-3, -2); 2	
Ph2012La F1	-	6 (1, 9); 221	5 (1, 9); 219	-	-	6 (1, 9); 221	5 (0, 9); 221	6 (1, 9); 219	-	1 (-6, 5); 221	-2 (-5, 3); 219	

Fortsetzung Tabelle 39

Pflanzung	Generation/Art											
	MBANF_2013 (Min, Max); n											
	MBANF_2014 (Min, Max); n											
	MBANF_2015 (Min, Max); n											
	MBNAWUS_07_2012 (Min, Max); n											
	MBNAWUS_08_2012 (Min, Max); n											
	MBNAWUS_08/09_2013 (Min, Max); n											
	MBNAWUS_07_2014 (Min, Max); n											
	MBNAWUS_09_2014 (Min, Max); n											
	Winterhärte2012/2013 (Min, Max); n											
	Winterhärte2013/2014 (Min, Max); n											
	Winterhärte2014/2015 (Min, Max); n											
Ph2012La	WD	-	3 (1, 6); 32	3 (1, 7); 31	-	-	3 (0, 5); 31	3 (1, 6); 32	4 (1, 5); 31	-	0 (-2, 0); 32	-3 (-6, 4); 31
Ph2012La	WSC	-	4 (2, 6); 24	3 (2, 5); 24	-	-	4 (2, 5); 24	3 (2, 6); 24	4 (2, 7); 24	-	0 (-3, 2); 27	-0,5 (-6, 2); 24
Ph2013La	BC1	-	-	4 (1, 9); 51	-	-	-	6 (1, 9); 52	6 (1, 9); 51	-	-	-1 (-8, 5); 51

Fortsetzung Tabelle 39

Pflanzung	Generation/Art	MBANF_2013 (Min, Max); n	MBANF_2014 (Min, Max); n	MBANF_2015 (Min, Max); n	MBNAWUS_07_2012 (Min, Max); n	MBNAWUS_08_2012 (Min, Max); n	MBNAWUS_08/09_2013 (Min, Max); n	MBNAWUS_07_2014 (Min, Max); n	MBNAWUS_09_2014 (Min, Max); n	Winterhärte2012/2013 (Min, Max); n	Winterhärte2013/2014 (Min, Max); n	Winterhärte2014/2015 (Min, Max); n
Ph2013La	BC2	-	-	4 (1, 7); 7	-	-	-	7 (3, 9); 7	7 (2, 9); 7	-	-	0 (-1, 3); 7
Ph2013La	F1	-	-	6 (1, 9); 143	-	-	-	7 (1, 9); 143	7 (1, 9); 143	-	-	-1 (-5, 6); 143
Ph2013La	WD	-	-	4 (2, 8); 33	-	-	-	4 (1, 9); 33	5 (1, 7); 34	-	-	-0,5 (-4, 5); 33

Fortsetzung Tabelle 39

Ph2013La WSC	Pflanzung Generation/Art
-	MBANF_2013 (Min, Max); n
-	MBANF_2014 (Min, Max); n
3 (1, 6); 33	MBANF_2015 (Min, Max); n
-	MBNAWUS_07_2012 (Min, Max); n
-	MBNAWUS_08_2012 (Min, Max); n
-	MBNAWUS_08/09_2013 (Min, Max); n
2 (1, 6); 32	MBNAWUS_07_2014 (Min, Max); n
4 (1, 8); 34	MBNAWUS_09_2014 (Min, Max); n
-	Winterhärte2012/2013 (Min, Max); n
-	Winterhärte2013/2014 (Min, Max); n
-1 (-6, 3); 32	Winterhärte2014/2015 (Min, Max); n

- = nicht bonitiert