

Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung
der Technischen Universität München

Einfluß von Cytoplasma und Heterozygotie auf die Merkmalsvariabilität
in Kreuzungsnachkommenschaften von *Solanum tuberosum* L.

Alexander Braun

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan
für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München
zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Agrarwissenschaften

genehmigten Dissertation

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. A. Gierl

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. G. Wenzel
2. Univ.-Prof. Dr. G. Forkmann

Die Dissertation wurde am 18.12.2002 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für
Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 10.04.2003 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	9
2.1 Pflanzenmaterial	9
2.1.1 Reziproke Kreuzungen	9
2.1.2. Anzucht der Kreuzungshybriden	11
2.1.3 Verwandtschaftsanalyse	12
2.2 Feldversuche	13
2.2.1 Feldbonituren	14
2.2.2 Test der Pollenvitalität	15
2.3 Lösungen	15
2.4 Extraktion und Konzentrationsschätzung genomischer DNA	17
2.5 Charakterisierung der Cytoplasmakonfiguration	18
2.6 AFLP-Analyse	20
2.7 SSR-Analyse	23
2.8 Parameter zur Schätzung der Heterozygotie	26
2.8.1 Relativer Heterozygotie Index (RHI)	26
2.8.2 Inzuchtgrad (Homozygotie)	26
2.8.3 Heterozygotie an nicht homozygoten Loci	26
2.9 Charakterisierung der Allelfrequenzen der Marker	27
2.10 Einzelmarkerregression	27
2.11 Verwandtschaftsanalyse	28
2.11.1 Molekulare Daten	28
2.11.2 Bestimmung der genetischen Ähnlichkeit	28
2.11.3 Clusteranalyse und Hauptkoordinatenanalyse	29
2.12 Vergleich der Markersysteme	29
2.12.1 Diversität Index	30
2.12.2 Effektives Multiplex Verhältnis (EMR)	30
2.12.3 Markerindex	31
2.13 Statistische Methoden und Software	31
3. Ergebnisse	32
3.1 Einfluss von Cytoplasma und Heterozygotie auf die Merkmalsvariabilität	32
3.1.1 Charakterisierung der Cytoplasmakonfiguration	32

3.1.2 Einfluss des Cytoplasmas auf die Kreuzungseignung	33
3.1.3 Pollenuntersuchung	34
3.1.4 Feldversuche	38
3.1.4.1 Stärkegehalt	38
3.1.4.2 Einzelstaudenertrag	42
3.1.4.3 Pflanzenentwicklung	43
3.1.4.4 Knollenschönheit	44
3.1.4.5 Knollengröße	45
3.1.5 Charakterisierung der Populationen mittels molekularen Markern	46
3.1.5.1 Markerdaten	46
3.1.5.2 Relativer Heterozygotie Index	46
3.1.5.3 Homozygotie (Inzuchtgrad)	48
3.1.5.4 Heterozygotie an nicht homozygoten Loci	48
3.1.5.5 Beziehung zwischen Heterozygotie und Merkmalsvariabilität	48
3.1.5.6 Rangkorrelationskoeffizienten	50
3.1.5.7 Allelfrequenzen der SSR-und AFLP-Marker bei Autotetraploiden	50
3.1.6 Einzelmarkerregression	53
3.2 Verwandtschaftsanalyse	55
3.2.1 Molekulare Markerdaten	55
3.2.1.1 Auswertung der SSR-Muster	56
3.2.2 Genetische Ähnlichkeiten basierend auf AFLP-Markerdaten	58
3.2.2.1 Clusteranalyse basierend auf AFLP-Markern	59
3.2.3 Auf SSR-Markerdaten basierende genetische Ähnlichkeiten	66
3.2.3.1 Clusteranalyse basierend auf SSR-Markern	67
3.2.4 Hauptkoordinatenanalyse	73
3.2.5 Vergleich der Markersysteme	74
3.2.5.1 Ähnlichkeitskoeffizienten, Dendrogramme und Hauptkoordinaten	74
3.2.5.2 Maßzahlen zur Markerbewertung	76
3.2.5.3 Gruppierung nach Merkmalsausprägungen	77
3.2.5.4 Anzahl der verwendeten Marker für eine Clusteranalyse	77
4. Diskussion	78
4.1 Einfluss des Cytoplasmas auf die Merkmalsvariabilität	78
4.1.1 Kreuzungseigenschaften	78

4.1.2 Cytoplasma und Ertragsparameter	81
4.1.3 Bedeutung des Cytoplasmas für die Kartoffelzüchtung	84
4.2 Charakterisierung der Populationen mittels molekularer Marker	87
4.2.1 Erfassung von Heterozygotie und Homozygotie	87
4.2.2 Heterozygotie und Merkmalsvariabilität	89
4.2.3 Allelfrequenzen der molekularen Marker	90
4.3 Verwandtschaftsanalyse	92
5. Zusammenfassung	101
6. Literatur	103
7. Anhang	118
7.1 Liste der in der Verwandtschaftsanalyse untersuchten Sorten	118
7.2 Stammbäume der in der Verwandtschaftsanalyse untersuchten Sorten	119

Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Erwartete Spaltungsverhältnisse eines dominanten Markers in einer Kreuzung von Autotetraploiden	6
Tab. 2.1	Kreuzungseltern der Jahre 1998 und 1999	10
Tab. 2.2	Lösung modifiziert nach MORTENSON et al. (1964)	15
Tab. 2.3	Spezifische Primer zur Identifizierung der Cytoplasma-konfiguration	19
Tab. 2.4	Zusammensetzung der PCR-Reaktionskomponenten	19
Tab. 2.5	PCR-Temperaturprofil	20
Tab. 2.6	Adapter und Primer für die AFLP-Analyse	20
Tab. 2.7	Reaktionsansatz für die Restriktion und Ligation	21
Tab. 2.8	Mastermix für die Präamplifikation	22
Tab. 2.9	Temperaturprofil der Präamplifikation	22
Tab. 2.10	Mastermix für die selektive Amplifikation	22
Tab. 2.11	Temperaturprofil der selektiven Amplifikation	23
Tab. 2.12	Liste der verwendeten Mikrosatellitenpaare	24
Tab. 2.13	Reaktionsansatz für die Mikrosatelliten-PCR	25
Tab. 2.14	Temperaturprofil für die Mikrosatelliten-PCR	25
Tab. 3.1	Übersicht über den Kreuzungserfolg (1998) bei unterschiedlicher Cytoplasma-Konfiguration des Pollenspenders	33
Tab. 3.2	Testkreuzungsprogramm 1999	34
Tab. 3.3	Fertilitätsuntersuchungen an Nachkommen von W / γ -Typen	35
Tab. 3.4	Abstammung der Sorten mit W/ γ -Cytoplasma	36
Tab. 3.5	Stärkegehalte (%) der Populationen MP und PM	38
Tab. 3.6	Stärkegehalte (%) der Populationen MT und TM	39
Tab. 3.7	Stärkegehalte (%) der Populationen BP und PB	39
Tab. 3.8	Stärkegehalte (%) der Populationen PT und TP	40
Tab. 3.9	Korrelationen und Bestimmtheitsmaße zwischen den Messwerten (Jahre/Wiederholungen) der Population PT	41
Tab. 3.10	Korrelationen und Bestimmtheitsmaße zwischen den Messwerten (Jahre/Wiederholungen) der Population TP	41
Tab. 3.11	Einzelstaudenertrag (kg)	42

Tab. 3.12	Pflanzenentwicklung (cm) bei Blühbeginn	43
Tab. 3.13	Knollenschönheit	44
Tab. 3.14	Knollengröße	45
Tab. 3.15	Relativer Heterozygotie Index (RHI) basierend auf SSR-Markerdaten	46
Tab. 3.16	Relativer Heterozygotie Index (RHI) basierend auf AFLP-Markerdaten	46
Tab. 3.17	Inzuchtgrad (Homozygotie)	48
Tab. 3.18	Heterozygotie an nicht homozygoten Loci	48
Tab. 3.19	Beziehung zwischen Merkmalsausprägungen und Heterozygotie-Indizes	49
Tab. 3.20	Korrelationen zwischen Heterozygotie-Parametern und Knollenbonituren	50
Tab. 3.21	AFLP-Marker: Herkunft, sowie Anteil von Simplex; Duplex und Doppel-Simplex-Markern an den polymorphen Fragmenten der Population TP	51
Tab. 3.22	AFLP-Marker: Herkunft, sowie Anteil von Simplex; Duplex und Doppel-Simplex-Markern an den polymorphen Fragmenten der Population PT	51
Tab. 3.23	SSR-Marker: Herkunft, sowie Anteil von Simplex; Duplex und Doppel-Simplex-Markern an den polymorphen Fragmenten der Population TP	52
Tab. 3.24	SSR-Marker: Herkunft, sowie Anteil von Simplex; Duplex und Doppel-Simplex-Markern an den polymorphen Fragmenten der Population PT	52
Tab. 3.25	Einzelmarkerregression für das Merkmal Stärkegehalt (%)	53
Tab. 3.26	Polymorphieniveau der einzelnen AFLP-Primerkombinationen	55
Tab. 3.27	Übersicht über die Anzahl verwendeter Primerkombinationen/-paare, deren Amplifikationsprodukte und Anzahl polymorpher Fragmente	56
Tab. 3.28	Ähnlichkeiten der Voll- und Halbgeschwister Zuchtstämme, sowie der Sorten	58
Tab. 3.29	Vergleich der Ähnlichkeitskoeffizienten verschiedener Untercluster	60

Tab. 3.30	Ähnlichkeiten der Voll- und Halbgeschwisterzuchtstämme, sowie der Sorten basierend auf SSR-Markerdaten	66
Tab. 3.31	Schätzwerte der genetischen Ähnlichkeitskoeffizienten nach DICE (1945) getrennt nach Markersystem	76
Tab 3.32	Maßzahlen zur Markerbewertung	76

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Freilegung der Stolonen	9
Abb. 2	Schema des Diallels	12
Abb. 3	Feldversuch in Roggenstein 2001	14
Abb. 4	Unterscheidung von Cytoplasmotypen mittels PCR-Primern	32
Abb. 5a,b	Herkunft des W/ γ -Cytoplasmas	37
Abb. 6	F ₁ -Knollen im Vergleich zu den Knollen der Eltern	44
Abb. 7	Prozentuale Abweichung der RHI _{AFLP} von den RHI _{SSR} am Beispiel der Population PT	47
Abb. 8	Elektropherogramm eines Mikrosatellitenlocus	57
Abb. 9	AFLP-Dendrogramm (Überblick)	62
Abb. 9a	AFLP-Dendrogramm (Untercluster 1 und 2)	63
Abb. 9b	AFLP-Dendrogramm (Untercluster 3 und 4)	64
Abb. 9c	AFLP-Dendrogramm (Untercluster 5 und 6)	65
Abb. 10	SSR-Dendrogramm (Überblick)	69
Abb. 10a	SSR-Dendrogramm (Untercluster 1 und 2)	70
Abb. 10b	SSR-Dendrogramm (Untercluster 3 bis 5)	71
Abb. 10c	SSR-Dendrogramm (Untercluster 6 bis 8)	72
Abb. 11	Hauptkoordinatenanalyse basierend auf AFLP-Daten	73
Abb. 12	Hauptkoordinatenanalyse basierend auf SSR-Daten	74

Abkürzungsverzeichnis

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
APS	Ammoniumsulfat
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
bp	Basenpaare
BSA	Rinderserumalbumin
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
DI	Diversitäts Index
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNase	Desoxyribonuklease
dNTP	Desoxynukleotid
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EMR	Effective Multiplex Ratio
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
kb	Kilobase
MI	Marker Index
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PCR	Polymerase Chain Reaction
PIC	Polymorphic Information Content
PVP	Polyvinyl Pyrolidone
QTL	Quantitative Trait Loci
r	Korrelationskoeffizient
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RHI	Relativer Heterozygotie Index
RNase	Ribonuklease
rpm	rounds per million
SCAR	Sequence Characterised Amplified Region
SDRF	Single Dose Restriction Fragment
SSR	Simple Sequence Repeat
s_x	Standardabweichung
TEMED	Tetramethylethylendiamin
TRIS	2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propandiol
UPGMA	Unweighted Pair Group Method, average linkage

1. Einleitung

Die europäische Kulturkartoffel (*Solanum tuberosum* L. ssp. *tuberosum*) gehört zur Familie der Nachtschattengewächse (*Solanaceae*) und ist zusammen mit ihren Wildarten, von denen mehr als 200 bekannt sind, unter der Subsektion *Potatoe* in 19 Serien eingeteilt. Neben 6 regional kultivierten Arten und verschiedenen, enger verwandten Wildarten, wurde sie der Serie XVI *Tuberosa* zugeordnet (HAWKES 1990). Es handelt sich um eine autotetraploide Art ($2n = 4x = 48$), deren Ursprung sich von wenigen Einfuhren der Subspezies *Solanum tuberosum* L. ssp. *andigena*, im späten 16. Jahrhundert, aus Südamerika herleiten lässt (BRADSHAW and MACKAY 1994). Im Gegensatz zur Kulturart sind die meisten Wildarten nur diploid ($2n = 2x = 24$), jedoch sind neben triploiden ($3x$) und pentaploiden ($5x$) auch einige Arten mit bis zu sechs Chromosomensätzen bekannt (ROSS 1986).

Auf dem diploiden Niveau sind Kartoffelarten aufgrund von gametischer Selbstinkompatibilität, die hauptsächlich auf S-Allelen basiert, obligatorische Fremdbefruchter, während sie auf dem tetraploiden Niveau oft selbstkompatibel sind und nach einigen Selbstungen Inzuchtdepression zeigen (HAWKES 1994).

Die praktische Züchtung basiert bis heute immer noch ausschließlich auf phänotypischer Selektion. Stetig steigende Anforderungen, in den letzten Jahren verstärkt auch an die Verarbeitungsqualität, führen dazu, dass in den Zuchtprogrammen ein vermehrter Aufwand betrieben werden muss, der sich unter anderem in der Produktion einer größeren Sämlingszahl widerspiegelt. Dies soll die Selektion auf einer möglichst breiten genetischen Basis garantieren und somit den Anteil an Genotypen in den Nachkommenschaften erhöhen, die Träger erwünschter Merkmalskombinationen sind. Heute werden jährlich pro Zuchtbetrieb zwischen 50.000 und 200.000 Sämlinge angezogen. Für die Züchtung einer neuen Sorte muss ein Zeitraum von ca. 10 Jahren veranschlagt werden (TIEMANN 1997).

Einen neuen Impuls erhielt die Kartoffelzüchtung durch Entdeckung von dihaploiden Genotypen in den Nachkommen von tetraploiden Kartoffeln (HOUGAS and PELOQUIN 1957, 1958). In der Folgezeit wurde die parthenogenetische Induktion Dihaploider aus tetraploiden Genotypen durch Bestäubung mit dem Pollen der Wildart *S. phureja*, entwickelt und verbessert (HOUGAS et al. 1964; FRANSEN 1967; HERMSEN and VERDENIUS 1973; HUTTEN et al. 1994).

Mit der Antherenkultur wurde eine weitere Technik zur Entwicklung Dihaploider propagiert (NITSCHKE and WENZEL 1977). Die Interdihaploidkreuzung mit anschließender mitotischer oder meiotischer Retetraploidisierung, mittels Colchizinierung bzw. über unreduzierte Gameten, versprach die komplexe tetrasome Vererbung der Kulturkartoffel zu umgehen (CHASE 1963) und die Kombination speziell quantitativer Merkmale zu erleichtern. Eine Weiterentwicklung dieses Gedankens stellt das analytisch-synthetische Züchtungsschema von WENZEL et al. (1979) dar. Dieses Modell bezieht neben der dihaploiden auch die monohaploide Ebene ein, um die Selektion und Kombination wertvoller Eigenschaften noch gezielter durchführen zu können. Die Retetraploidisierung erfolgt hier mittels der Protoplastenfusion, wodurch die Kerngenome zweier diploider Fusionspartner unter Umgehung der meiotischen Rekombination addiert werden.

Die somatische Hybridisierung bietet neben der Erweiterung der genetischen Basis der Kulturkartoffel, der Kombination komplex vererbter Merkmale, sowie der Überwindung natürlicher Kreuzungsbarrieren (MATTHEIJ et al. 1992; HELGESON et al. 1993; NYMANN and WAARA 1997; THIEME et al. 1997), auch die Möglichkeit zur Untersuchung der Effekte unterschiedlicher Plastiden-Mitochondrien-Konfigurationen bei Pflanzen mit gleichartig zusammengesetzten Kerngenomen (LOESSL et al. 1994). Im Gegensatz zur sexuellen Kreuzung, bei der ein maternaler Erbgang des Cytoplasmas vorliegt, konnten bei Fusionshybriden der Kartoffel Rearrangements der mitochondrialen DNA nachgewiesen werden, während bei den Chloroplasten vorwiegend die Segregation in einen der elterlichen Typen beobachtet wurde (KEMBLE et al. 1986; XU et al. 1993; LOESSL et al. 1994; CARDI et al. 1999; BASTIA et al. 2000). Ferner schlossen LOESSL et al. (1994, 1998) aus ihren Ergebnissen, dass der Mitochondrien-Typ auf Stärkegehalt und Ertrag von Fusionshybriden einen Einfluss hat.

HOSAKA and HANNEMAN (1988a,b) charakterisierten diverse Wildarten, sowie Kartoffelsorten mittels RFLP und identifizierten verschiedene Chloroplastentypen. Die Mehrzahl der Sorten wies dabei den sogenannten T-Typ auf, was auf eine enge Basis des europäischen Kulturkartoffel-Genpools hindeutet. Weitere Arbeiten bestätigten diese geringe Diversität der Chloroplasten (WAUGH et al. 1990; POWELL et al. 1993). LOESSL et al. (1998) fanden das im deutschen Sortenspektrum zwei Chloroplastentypen (T,W) und drei Mitochondrientypen (α ,

β , γ) dominieren. Zwischen den verschiedenen Plastom- und Chondriom-Typen konnten Kopplungen beobachtet werden.

Bei der Kartoffel werden vor allem die häufig vorzufindenden Sterilitäten auf kerncytoplasmatische Interaktionen zurückgeführt (GRUN et al. 1977; GRUN 1979).

Unterschiede bezüglich verschiedener Merkmalsausprägungen bei Nachkommen aus diversen reziproken Kreuzungen (SANFORD and HANNEMAN 1979; HOOPES et al. 1980) deuten ebenfalls auf einen Einfluss des Cytoplasmas hin.

Dihaploidzüchtung und Protoplastenfusion werden mittlerweile von verschiedenen Instituten, aber auch von privaten Zuchtbetrieben durchgeführt. Trotz beachtlicher Fortschritte (HOFFERBERT 1996; SCHWARZFISCHER et al. 1998), steht die Zulassung einer Fusionshybride als Sorte noch aus.

Um 1960 entstand die Hypothese der maximalen Heterozygotie (DEMARLY 1963; BINGHAM 1980), die einen starken Einfluss auf die Entwicklung von Strategien zur Verbesserung von autotetraploiden Kulturpflanzen hatte. Sie geht davon aus, dass heterozygote Polyploide mehr als zwei verschiedene Allele auf einem bestimmten Locus tragen können. Für die tetraploide Kartoffel bedeutet dies, dass bei ihr bis zu vier verschiedene Allele je Locus vorliegen können. Jeder Locus hat das Potential für allelische Interaktionen erster-, zweiter-, oder dritter Ordnung. Der These folgend, hängt die Leistungskraft (Ertrag, Fertilität, etc.) stark von der Intralocusdiversität ab. So sollten autotetraploide Genotypen, die eine große Häufigkeit von tetra- oder triallelen chromosomalen Segmenten aufweisen, jenen in der Leistung überlegen sein, die vorwiegend di- oder monoallelisch sind.

Verschiedene Experimente wurden seither durchgeführt, um die Bedeutung von genetischen Interaktionen an multiallelischen Loci auf die Leistungsfähigkeit von Autopolyploiden zu untersuchen. So fanden MENDOZA und HAYNES (1974) bei der Kartoffel, sowie DUNBIER und BINGHAM (1975) für die ebenfalls autotetraploide Luzerne (*Medicago sativa* L.) Hinweise, die diese Theorie unterstützen. Die Ergebnisse von SANFORD und HANNEMANN (1982) zeigen einerseits das Potential des Konzeptes der Erhöhung der Heterozygotie, lassen aber auch auf einen heterotischen Schwellenwert schließen, dessen Überschreitung zu keiner weiteren Leistungssteigerung führt. CHASE (1963) und MENDIBURU et al. (1974) schlugen ein analytisches Züchtungsschema vor, dass sich nach der maximalen Heterosis richtet. Beide Ansätze beinhalten die Kreuzung von vier divergenten diploiden Eltern, um zwei verschiedene diploide Hybride zu erzeugen. Diese sollen

ihrerseits kombiniert und anschließend polyploidisiert werden, um tetraploide Genotypen zu erstellen, deren Genom sich aus allen vier Eltern zusammensetzt. Als Ziel wurde die Erhöhung der Anzahl tetra-alleler Loci gesehen.

Erst BONIERBALE et al. (1993) versuchten als erste diese Hypothese direkt mittels molekularer Marker (RFLPs) nachzuvollziehen. Deren Ergebnisse deuten an, dass die maximale Heterozygotie keine universelle Maßzahl ist, sondern abhängig vom genetischen Hintergrund des zu untersuchenden Materials.

Seit nunmehr über einem Jahrzehnt werden molekulare Marker als Werkzeug eingesetzt, um den Züchtungsfortschritt zu beschleunigen. Ihre Evaluierung und Einsatz zur Genomkartierung, Marker gestützten Selektion, Genotypisierung und Bestimmung von Verwandtschaftsverhältnissen sind vielfach dokumentiert (MOHAN et al. 1997). Ausgehend von einer ersten, auf RFLP basierenden Genomkarte bei einer Kulturpflanze, der Tomate (BERNATZKY and TANKSLEY 1986), wurden einfacher zu handhabende, auf der PCR-Reaktion (MULLIS et al. 1987; SAIKI et al. 1988) aufbauende DNA-Marker, wie RAPDs (WILLIAMS et al. 1990), SSRs (AKKAYA et al. 1992; MORGANTE and OLIVIERI 1993) und AFLPs (VOS et al. 1995) entwickelt und eingesetzt.

Auch bei der Kartoffel erfolgten umfangreiche Analysen, die gängige Markertechniken einschlossen. GEBHARDT et al. (1989a) und GÖRG et al. (1992) setzten RFLPs zur Genotypisierung von diploiden Zuchtstämmen und Kultursorten ein, um deren Anwendbarkeit für eine Sortenidentifizierung hinsichtlich des Sortenschutzes und der Charakterisierung von genetischen Ressourcen zu demonstrieren. In der Folge wurden weitere Markersysteme wie RAPDs (HOSAKA et al. 1994), AFLPs (KIM et al. 1998), ISSRs (PROVAN et al. 1996) und SSRs (PROVAN et al. 1996a) für die Untersuchung der genetischen Diversität von Sorten, sowie den Verwandtschaftsverhältnissen bei Wildarten (SPOONER et al. 1996) evaluiert. Molekulare Marker konnten ferner erfolgreich zur Identifizierung von Fusionshybriden eingesetzt werden (XU et al. 1993a; PROVAN et al. 1996b; THIEME and HACKAUF 1998; MATTHEWS et al. 1999).

Die Entwicklung einer effektiven Methode zur Erstellung Dihaploider aus tetraploidem Ausgangsmaterial (HERMSEN and VERDENIUS 1973) hatte auch eine große Auswirkung auf die Durchführung genetischer Studien bei der Subspezies *tuberosum*. Sie ermöglichte die Erstellung diploider Kartierungspopulationen zur Umgehung der komplexen tetrasomen Vererbung. Eine erste genetische Karte

wurde von BONIERBALE et al. (1988) vorgestellt. Sie zeigten ebenso wie GEBHARDT et al. (1991) die Homeologien zwischen den Genomen der Kartoffel und der Tomate (*Lycopersicon esculentum*), mit gleicher Basischromosomenzahl ($x = 12$), auf.

Weitere Untersuchungen wurden in der Folge durchgeführt, um die Vererbung von Merkmalen aufzuklären, sowie molekulare Marker für eine markergestützte Selektion (MAS) zu entwickeln.

Während VAN ECK et al. (1993a,b) sich mit der Untersuchung der Anthocyanpigmentierung der Kartoffel, sowie der Kartierung von Loci für die Schalen- und Blütenfarbe, auf morphologische Merkmale konzentrierten, befassten sich die meisten anderen Arbeiten mit der Lokalisierung von Resistenzloci gegen bedeutende Schädlinge und Krankheiten. So konnte die Lage der Resistenzloci *Gro1* und *H1*, gegen die Pathotypen *Ro1* und *Ro4* des Nematoden *Globodera rostochiensis*, identifiziert werden (BARONE et al. 1990; GEBHARDT et al. 1993; PINEDA et al. 1993). Von den 11 bekannten dominanten *R*-Genen (*R1-R11*) die rassenspezifische Resistenzen gegen den Pilz *Phytophthora infestans* vermitteln, konnten vier (*R1*, *R3*, *R6*, *R7*) kartiert werden (LEONARDS-SCHIPPERS et al. 1992; EL-KHARBOTLY et al. 1994, 1996).

Andere Studien beschäftigten sich mit der Erfassung quantitativ vererbter Eigenschaften. Diese umfassten u.a. die Analyse der Resistenzen gegen *Phytophthora infestans* (LEONARDS-SCHIPPERS et al. 1994; COLLINS et al. 1999; OBERHAGEMANN et al. 1999), gegen die durch das Bakterium *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* hervorgerufene Schwarzbeinigkeit (ZIMNOCH-GUZOWSKA et al. 2000), sowie den Nematoden *Globodera pallida* (KREIKE et al. 1994; ROUPPE VAN DER VOORT et al. 2000). Aber auch Eigenschaften wie Keimruhe; Knollen-ertrag und Stärkegehalt standen im Blickpunkt (FREYE et al. 1994; VAN DEN BERG et al. 1996; SCHÄFER-PREGL et al. 1998).

Die auf dem diploiden Niveau gefundenen Ergebnisse wurden von einigen Arbeitsgruppen bezüglich ihrer Übertragbarkeit auf die tetraploide Stufe, auf der die traditionelle Züchtung basiert, evaluiert.

RAPD- und daraus entwickelte SCAR-Marker die eine Kopplung mit dem *Ns* Locus aufweisen, der für eine hypersensitive Reaktion der Pflanze gegen eine Infektion durch das S-Virus (PVS) verantwortlich ist, eigneten sich nicht zur Charakterisierung resistenter tetraploider Klone (MARCZEWSKI et al. 1998,

2001). Das gleiche gilt für die von NIEWÖHNER et al. (1995) entwickelten allelspezifischen Primer zur Detektion der *Gro1* und *H1* Resistenzallele.

Verfahren zur Studie der genetischen Kopplung bei Polyploiden wurden von WU et al. (1992) und SORRELS (1992) diskutiert. Diese basieren auf sogenannten single-dose restriction fragments (SDRF), simplex vererbten Marker-Allelen (dominanten Markern) und wurden ursprünglich für die RFLP-Technik entwickelt. Kreuzt man Autotetraploide, so werden für einen dominanten Marker die in Tab. 1 aufgeführten Spaltungsverhältnisse erwartet, wobei Bivalentenpaarung vorausgesetzt wird.

Tab. 1: Erwartete Spaltungsverhältnisse eines dominanten Markers in einer Kreuzung von Autotetraploiden:

Kreuzung		Spaltung
Simplex x Nulliplex	Aaaa x aaaa	1 : 1
Duplex x Nulliplex	AAaa x aaaa	5 : 1
<u>Eltern nicht unterscheidbar:</u>		
Doppelsimplex	Aaaa x Aaaa	3 : 1
Duplex x Simplex	AAaa x Aaaa	11 : 1
Duplex x Duplex	AAaa x AAaa	35 : 1
Sonstige Kombinationen ergeben <u>homogene</u> Nachkommenschaften		

In jüngster Zeit wurde dieser Lösungsansatz, mit Aufkommen der AFLP- und SSR-Markertechniken, wieder aufgegriffen. Basierend auf single- (simplex) oder double- (duplex) dose Markern, führten BRIGNETI et al. (1997) eine 'bulk segregant analysis' (BSA) durch und konnten drei AFLP-Marker identifizieren, die mit dem dominant, monogen vererbten Gen *Ry_{sto}* gekoppelt sind. Den gleichen Ansatz nach MICHELMORE et al. (1991) nutzten BENDAHAMANE et al. (1997), um den *Rx*-Locus auf Basis einer spaltenden tetraploiden F₁-Population zu lokalisieren. Eine partielle Kopplungskarte der tetraploiden Kartoffel wurde 1998 von MEYER et al. vorgestellt. Darauf aufbauend wurden Marker die mit quantitativer Resistenz gegen *Globodera pallida* assoziiert sind, identifiziert (BRADSHAW et al. 1998).

Zur Konstruktion von Kopplungskarten mittels molekularer Marker in Autopolyploiden liegen bisher jedoch hauptsächlich nur theoretische Betrachtungen und Simulationen vor (HACKET et al. 1998; LUO et al. 2001; RIPOL et al. 1999; WU et al. 2001).

Ziel dieser Arbeit ist die Überprüfung der Arbeitshypothese, ob eine Beziehung zwischen Cytoplasmahintergrund und Merkmalsparametern, wie Stärkegehalt und Ertrag besteht. Es soll untersucht werden ob die Ergebnisse von LOESSL et al. (1994) auf der tetraploiden Ploidiestufe nachvollziehbar sind, um Effekte definierter Plasmahintergründe auch gezielt für Kreuzungsprogramme in praktischen Zuchtbetrieben nutzbar zu machen. Reziproke Populationen, die sich jeweils in ihrem Plasma unterscheiden, sollen dabei genutzt werden, um dessen Wirkungen auch bei meiotisch rekombiniertem Kernhintergrund quantifizieren zu können.

Die Hypothese der maximalen Heterozygotie soll mittels molekularer Marker direkt auf genomischer Ebene anhand der tetraploiden reziproken F_1 -Populationen überprüft werden. Es stellt sich die Frage ob diese These, auf der die Strategien für die Kartoffelzüchtung basieren, mit den gewählten Markertechniken und Parametern nachvollziehbar ist, d.h. eine Verbindung zwischen berechnetem Heterozygotiegrad und Merkmalsvariabilität besteht.

Ein Vergleich der reziproken Populationen bezüglich ermittelter Heterozygotie und den Frequenzen der Markerallele soll zeigen, ob die diesbezüglich theoretisch zu erwartenden gleichen Streuungen auch in der Realität beobachtet werden können. Ist dies der Fall, so können Populationsunterschiede in der Merkmalsvariabilität deutlicher auf Cytoplasma-Wirkungen zurückgeführt werden.

Die Betrachtung der Allelfrequenzen lässt ferner einer Diskussion über den Nutzen der verwendeten Marker für die Kartierung Autotetraploider, basierend auf dem SDRF-Ansatz (WU et al. 1992) zu.

Ferner sollte die genetische Diversität unterschiedlicher Kartoffelherkünfte mittels molekularen Markern geschätzt werden. Es galt zu beantworten, ob die ermittelten Verwandtschaftsverhältnisse anhand bekannter Stammbäume nachvollziehbar sind und inwiefern Unterschiede zwischen Ergebnissen bestehen, die mit unterschiedlichen Markersystemen gewonnen wurden. Können letztendlich zukünftige Zuchtprogramme auf Basis genetischer Distanzen effektiver geplant und durchgeführt werden ?

Zusammengefasst wurden folgende Punkte bearbeitet:**A Cytoplasma**

- Erstellung tetraploider reziproker Kreuzungspopulationen mit definiertem Cytoplasma-Hintergrund.
- Durchführung von Feldversuchen zur Evaluierung phänotypischer Daten.

B Cytoplasma und Kerngenom

- Charakterisierung der Allelfrequenzen und Schätzung der Heterozygotie zwischen und innerhalb der reziproken Populationen mittels molekularer Marker.
- Untersuchung des Einflusses von Heterozygotie, bzw. definiertem Cytoplasma auf die Merkmalsvariabilität der Genotypen.

C Kerngenom

- Untersuchung der genetischen Diversität von tetraploiden Kartoffelsorten und Zuchtstämmen mittels AFLP- und SSR-Markern.
- Vergleich der beiden Markersysteme und daraus folgend Einschätzung der Nutzbarkeit PCR-gestützter Markertechniken für den Einsatz in der praktischen Kartoffelzüchtung.

2. Material und Methoden

2.1 Pflanzenmaterial

2.1.1 Reziproke Kreuzungen

Im Frühjahr 1998 wurden reziproke Kreuzungen durchgeführt, um Populationen für die Untersuchung der Hypothese der maximalen Heterozygotie unter Berücksichtigung des Cytoplasmahintergrundes zu erstellen. Reziproke Populationen eignen sich hierfür, da sie einerseits jeweils die selben Kreuzungseltern aufweisen, jedoch aufgrund der maternalen Vererbung, bei entsprechender Elternwahl ein unterschiedliches Cytoplasma besitzen.

Die Kreuzungen wurden mit tetraploiden Genotypen durchgeführt. Ausgangsmaterial bildeten 40 Sorten aus der Beschreibenden Sortenliste (BUNDES-SORTENAMT 1996) mit verschiedenen Eigenschaften wie Reifegruppe, Nutzungsform, sowie unterschiedlicher Cytoplasma-Konfiguration nach der Einteilung von LÖSSL et al. (1998, 1999).



Abb. 1: Freilegung der Stolonen

Die Kreuzungen erfolgten unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus. Um eine verstärkte Blütenbildung zu induzieren wurden die Elternklone nach der

"Abmelkmethode" auf Stein angezogen (THIJN 1954). Hierzu wurden die Stolonen der Pflanzen mittels starkem Wasserstrahl freigelegt (Abb. 1), sich neubildende Knollen entfernt und damit eine Umleitung der Assimilate bewirkt. Ferner wurde jede Pflanze auf 3-4 Triebe zurückgeschnitten. Die Kastration der Blüten der als Mutter verwendeten Pflanzen sollte einer Selbstung vorbeugen.

Tab. 2.1: Kreuzungseltern der Jahre 1998 und 1999

Cytoplasma-Konfiguration W/ α ¹								
Genotyp	RG ²	Jahr ³	Genotyp	RG ²	Jahr ³	Genotyp	RG ²	Jahr ³
Panda	4w	2	Patrona	3w	1	Adretta	3s	1
Artana	4w	2	Ponto	3w	2	Karlana	2s	1
Tomba	4w	1	Pepo	3w	1	Astra	2s	1
Ulme	4w	1	Donella	4s	1	Rita	1s	1
Combi	4w	1	Karsta	4s	1	Molli	1s	1
Cytoplasma-Konfiguration W/ β ¹								
Produzent	4w	1	Thomana	3w	1	Karat	2s	1
Indira	4w	1	Mira	2w	2	Berber	1s	1
Walli	3w	1	Aula	4s	1	Ukama	1s	1
Sommerg.	3w	1	Agria	3s	1	Leyla	1s	1
Rustica	3w	2	Erntestolz	3s	1	Atica	1s	1
Mentor	3w	1	Selma	3s	1			
Cytoplasma-Konfiguration W/ γ ¹								
Sibu	4w	2	Bettina	3s	2	Sanira	4s	3
Assia	3w	2	Forelle	2s	2	Alwara	3s	3
Tomensa	2w	2	Felicitas	2s	2	Gambria	3s	3
Petra	2w	2	Pirola	4w	3	Kuras	4w	3
Tempora	2w	3	Aiko	3w	3	Heidrun	-	3
Ute	2w	2	Uno	3w	3	Pluto	-	3
Fox	2w	3	Helios	3w	3			

¹nach Lössl et al. (1998, 1999)

²Reifegruppe und Nutzungsrichtung: 1 = sehr früh; 2 = mittelfrüh; 3 = mittelspät; 4 = spät / s = Speise, w = Wirtschaft

³Bei Kreuzung eingesetzt im Jahr: 1 = 1998; 2 = 1998 und 1999; 3 = 1999

Die Kreuzungen wurden in großem Umfang geplant, da bei der Kartoffel häufig über Sterilität in verschiedenen Formen berichtet wurde, welche die Durchführung von Kreuzungsprogrammen, speziell von Reziproken, erschwert (CLARK 1927; GRUN et al. 1977; SANFORD and HANNEMANN 1979; HOOPES et al. 1980). Nach Auswertung der Kreuzungseignung der unterschiedlichen Sorten wurde postuliert, dass die W/ γ -Konfiguration in Verbindung mit einem Cytoplasmatisch-Männlichen-Sterilitäts-System (CMS) steht (vgl. Kap. 3.1.2).

Ein Testkreuzungsprogramm in 1999 sollte diese Annahme überprüfen. Zu diesem Zweck wurden Kreuzungen, wie zuvor beschrieben, durchgeführt. Als Pollenspender fanden hier vorwiegend Genotypen mit W/γ -Konfiguration Verwendung. Die Sorten Ponto und Mira, die sich 1998 als sehr fertile Polleneltern erwiesen, dienten als Standard. Die Mutterpflanzen wiesen unterschiedliche Cytoplasma-Konfigurationen auf. In Tab. 2.1 sind die in den beiden Jahren für Kreuzungen eingesetzten Genotypen zusammengefasst.

2.1.2 Anzucht der Kreuzungshybriden

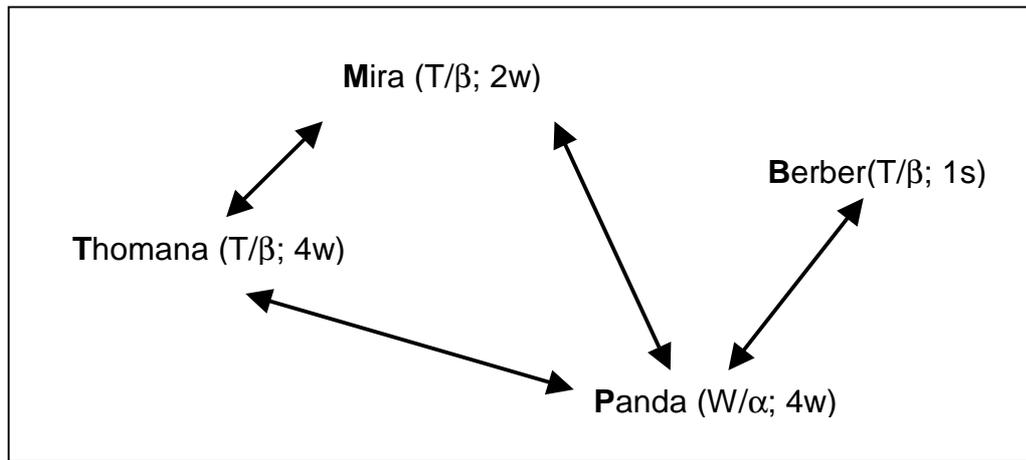
Die Aussaat des erzeugten Saatgutes erfolgte in Anzuchtschalen. 8 reziproke Populationen wurden aufgrund folgender Kriterien ausgewählt:

- Menge des je Population erzeugten Saatgutes.
- Reifegruppe bzw. Nutzungsform (Wirtschafts- bzw. Speisetyp) der Elternklone (Eingruppierung nach Bundessortenamt 1996).
- Unterschiedlicher Cytoplasmahintergrund der Eltern (Einteilung nach LOESSL et al. 1998,1999).

Die gewählten Populationen stellen zudem ein Diallel dar (Abb. 2). Der Cytoplasmotyp W/γ wurde nicht berücksichtigt, da hier keine reziproken Populationen erstellt werden konnten (vgl. Kap. 3.1.2).

Je Population kamen mindestens 100 Samen zur Aussaat. Nach Erreichen einer Pflanzenhöhe von ca. 4 cm erfolgte die Pikierung. Jede Pflanze wurde in einen Topf mit ca. 3,8 l Fassungsvermögen gepflanzt, um eine optimale Topfknollenentwicklung zu gewährleisten. Nach Abreife der Pflanzen wurden die Knollen geerntet und bei 5°C eingelagert.

Die Bezeichnung der erstellten Populationen erfolgte nach dem folgenden Schema: Die Anfangsbuchstaben der Eltern kennzeichnen die jeweilige Population, wobei die Stellung der Buchstaben Auskunft über die Kreuzungsrichtung gibt, z.B. **MP** (Mira x Panda) oder **PM** (Panda x Mira).



Cytoplasmakonfiguration der Elternklone: W/ α , T/ β ;
 Reifegruppe bzw. Nutzungsform: Speise- (s) bzw. Wirtschaftssorte (w); sehr frühe (1);
 frühe (2) und mittelspäte bis späte Sorte (4).
 Kreuzungsrichtung: \longrightarrow

Abb. 2: Schema des Diallels

Insgesamt 8 Populationen wurden letztendlich im Feld geprüft. Die beiden reziproken Populationen aus der Kreuzung von Panda und Thomana wurden dabei als Zentrale Populationen ausgewählt. Anhand der an ihnen zusätzlich erfolgten molekularen Charakterisierung sollte neben der Frage des Einflusses des Cytoplasmas auf die Merkmalsvariabilität ebenfalls die Hypothese der maximalen Heterozygotie untersucht werden. Alle anderen Populationen, die zum Teil nur in eingeschränkter Anzahl vorlagen, dienten als Nebenpopulationen hauptsächlich zur Gewinnung zusätzlicher Informationen bezüglich der Frage des Cytoplasmeeinflusses.

2.1.3 Verwandtschaftsanalyse

Insgesamt 69 tetraploide Genotypen wurden bezüglich ihrer genetischen Ähnlichkeit untersucht. Es handelte sich dabei um 37 Sorten deren Auswahl nach unterschiedlicher Herkunft (Züchterhaus), Reifegruppe, Nutzungsform und Cytoplasmotyp erfolgte, sowie 32 A-Stämmen aus einem aktuellen Zuchtprogramm der Fa. Kartoffelzucht Böhm und ihres Kooperationspartners Fa. Dr. R.J. Mansholt's Veredelingsbedrijf (Niederlande) mit Schwerpunkt Chipseignung. Die Stämme weisen alle die Sorte Agria in ihrem Stammbaum auf und spiegeln verschiedene Verwandtschaftsebenen wieder. Diese beinhalten mehrere Voll- und Halbschwistergruppen. Klone der verschiedenen Sorten wurden von den entsprechen-

enden Züchterhäusern zur Verfügung gestellt und im Gewächshaus des Institutes herangezogen. Von den Zuchtstämmen wurden Blattproben im Zuchtgarten der Station Kaltenberg/Bayern der Fa. Kartoffelzucht Böhm genommen.

Die untersuchten Genotypen, einschließlich ihrer Stammbäume werden, soweit dies zur Klärung von Sachverhalten dient, im Ergebnisteil (Kap. 3.2) besprochen. Eine ausführliche Auflistung inklusive zusätzlicher Informationen (Stammbäume, Herkunft, Reifegruppe, etc.) findet sich im Anhang.

2.2 Feldversuche

Feldversuche wurden zweijährig am Standort Roggenstein bei Fürstenfeldbruck/Bayern angelegt. Da nur relativ wenige, ausreichend große Knollen aus der Gewächshausvermehrung zur Verfügung standen, wurden im Jahr 2000 acht reziproke Populationen nach der Standardmethode ohne Wiederholung (MUNZERT 1992) angebaut und in regelmäßigen Abständen Standards gesetzt. Eine Parzelle bestand aus 5 Stauden und wurde von rotschaligen Genotypen eingefasst.

Im Jahr 2001 beschränkte sich der Feldversuch (Abb. 3) auf zwei reziproke Populationen (Zentrale Populationen), jedoch in dreifacher Wiederholung. Je Parzelle wurden 7 Knollen gepflanzt. Der Versuch wurde als randomisierte Blockanlage angelegt. Der Pflanzabstand innerhalb der Reihe betrug 35cm und zwischen den Reihen 75cm. In beiden Versuchsjahren wurden die Knollen Anfang Mai gelegt und das Kraut wurde Ende August mit Reglone (2,5 l/ha) abgetötet. Als Herbizid fanden Bandur und Sencor, als Insektizid Ripcord, Pirimor und Plenum und als Fungizid Acrobat, Brestan, Manex, Ridomil, Tanos und Shirlan Verwendung.



Abb. 3: Feldversuch in Roggenstein 2001

2.2.1 Feldbonituren

Während der Vegetationsperiode wurde die Pflanzenentwicklung (Höhe in cm) bei Blühbeginn gemessen. Am Erntegut erfolgte angelehnt an Hofferbert (1996), die Beurteilung der Knollenschönheit (9 = sehr formschön; 5 = leichte Mängel; 1 = sehr schlecht), und der Knollengröße (vorherrschende Knollenfraktion: 9 = sehr großfallend; 5 = mittel-fallend; 1 = sehr kleinfallend), sowie die Erfassung des Einzelstaudenertrags in Kilogramm. Der Stärkegehalt in Prozent wurde nach der Unterwassergewichtsmethode mit einer Stärkewaage (Fa. MEKU) ermittelt.

Die oben beschriebenen Bonituren erfolgten an den beiden Zentralen Populationen, die auch molekularbiologisch charakterisiert wurden. An den 6 reziproken Populationen (Nebenpopulationen), die ausschließlich im Jahr 2000 im Feldversuch standen, wurde nur der Stärkegehalt (%) erfasst.

2.2.2 Test der Pollenvitalität

Pollen wurde bezüglich seiner Keimfähigkeit mittels *In vitro* Keimschlauchwachstumstest nach MORTENSON et al. (1964) überprüft. Dazu wurde eine Pollenprobe 15 min mit einer Lösung (Tab. 2.2) versetzt, um die Keimung des Pollenschlauches zu stimulieren. Es erfolgte die Schätzung der prozentualen Keimungsrate und ein Vergleich mit Pollen von Standardsorten.

Tab. 2.2: Lösung modifiziert nach MORTENSON et al. (1964)

H ₃ BO ₃	100 ppm
Ca(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O	300 ppm
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	200 ppm
KNO ₃	100 ppm
Saccharose	15% (w/v)

pH 5,8

2.3 Lösungen

Die Lösungen für die molekularbiologischen Arbeiten basieren auf SAMBROCK et al. (1989).

CTAB-Extraktionspuffer (2x conc.)

Reagenz	Konzentration
CTAB	2 % (w/v)
1 M Tris-HCl (pH 8,0)	200 mM
0,5 M EDTA	20 mM
NaCl	1,4 M
PVP (M = 40.000)	1 % (w/v)
β-Mercaptoethanol	2 % (v/v)

DNase-freie RNase (10 mg/ml)

DNase-freie RNase A wurde in einer sterilen Lösung von 10 mM Tris-HCl (pH 7,5) und 15 mM NaCl gelöst, 15 min auf 100°C erhitzt, anschließend abgekühlt, aliquotiert und bei -20°C gelagert.

TE-Puffer

Reagenz	Konzentration
1 M Tris-HCl (pH 8,0)	10 mM
0,5 M EDTA (pH 8,0)	1 mM

ad H₂O_{bidest.}

50 x TAE-Puffer

Reagenz	Konzentration
Tris	2 M
Essigsäure (99,7 %)	1 M
EDTA	50 mM

Mit Essigsäure (99,7%) wird ein pH-Wert von 7,6 eingestellt

Ethidiumbromid-Lösung (10mg/ml)

Das eingewogene Ethidiumbromid mit H₂O_{bidest.} auf das Endvolumen auffüllen und lösen. Anschließend bei 4°C dunkel lagern.

10x Beladungspuffer für Agarosegele

Reagenz	Konzentration
EDTA	0,2 M
Glycerin	40% (v/v)
Bromphenolblau	0,03% (w/v)

10x TBE-Puffer

Reagenz	Konzentration
Tris (Amresco)	0,89 M
Borsäure (Amresco)	0,89 M
EDTA (Amresco)	20 mM

Beladungspuffer für Polyacrylamid Gele (ABI 377 Sequencer)

Dextran-Blau in Formamid bis zur Sättigung lösen.

Polyacrylamid-Gel (5%) für die Elektrophorese auf dem ABI Prism™ 377 Sequencer

Reagenz	Menge
Long Ranger Gel Solution (FMC)	2,5 ml
Harnstoff (Amresco)	9,0 g
H ₂ O _{bidest.}	13,0 ml
10% APS (Amresco)	125 µl
TEMED (Amresco)	17,5µl
Gesamtvolumen	25 ml

Aufgrund der längeren Auftrennungsstrecke der Fragmente wurde für die AFLPs das doppelte Gelvolumen (50 ml) im Vergleich zu den Mikrosatelliten (25 ml) benötigt.

TE_{0,1}-Puffer

Reagenz	Konzentration
1 M Tris-HCl (pH 8,0)	20 mM
0,5 M EDTA (pH 8,0)	0,1 mM

ad H₂O_{bidest.}

2.4 Extraktion und Konzentrationsschätzung genomischer DNA

Von den molekularbiologisch zu charakterisierenden Genotypen wurden ca. 5-7g junge Blätter abgeschnitten, mit flüssigem Stickstoff schockgefroren und unter ständiger Kühlung gemörsert. Das fein gemahlene Material wurde in 50ml Falcon-Röhrchen überführt und bei -20°C bis zur Weiterverarbeitung gelagert. Anschließend erfolgte die Isolierung genomischer DNA modifiziert nach der CTAB-Methode (SAGHAI-MAROOOF et al. 1984).

Das gefrorene Pflanzenmaterial wurde mit 15ml, auf 65°C vorgewärmten, 2x CTAB-Extraktionspuffer versetzt, kurz homogenisiert und anschließend 90 min bei 65°C in einem Wasserbad unter leichtem Schütteln inkubiert. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur, wurden 15ml Chloroform/Isoamylalkoholgemisch (24:1) zu den Proben hinzugegeben, 30 min in einem Überkopfschüttler (Reax 2, Fa.

Heidolph) extrahiert und anschließend zur Phasentrennung 20 min bei 3000 rpm und 20°C zentrifugiert (Varifuge 3.2 RS, Fa. Heraeus).

Nach Überführung der wässrigen Phase in neue Falcon-Röhrchen und Zugabe von jeweils 20 µl RNase A (10 mg/ml), erfolgte 30 min bei 40°C eine Inkubation.

Nach Abkühlung wurden erneut 15ml Chloroform/Isoamylalkohol (24:1) zu den Proben hinzugegeben, wie oben beschrieben, im Überkopfschüttler extrahiert und anschließend zentrifugiert. Der Überstand wurde wieder in einen neuen Satz Falcon-Röhrchen überführt, 15ml eiskaltes Isopropanol (-20°C) zugegeben und unter leichtem Schütteln der Gefäße die DNA ausgefällt. Das fädige Präzipitat wurde mittels Glashaken in ein 1,5 ml Reaktionsgefäß überführt und mit 70%igem Ethanol mindestens einmal gewaschen. Abschließend erfolgte die vollständige Entfernung des Ethanols in einer Vakuumzentrifuge (BH-VC 300 Vacuum Concentrator, Fa. Bachhofer) und die nun getrocknet vorliegende DNA konnte mittels TE-Puffer zur gewünschten Konzentration rückgelöst werden.

Um die Konzentration der DNA zu schätzen wurden Aliquots der Proben mit Beladungspuffer versetzt, homogenisiert und zusammen mit einer definierten Menge Lambda-DNA/Hind III-Standard (MBI-Fermentas) auf ein 0,8%iges Agarosegel aufgetragen.

Für die Herstellung des Gels wurden 0,8g Agarose je 100ml 1x TAE-Puffer zugegeben und unter Rühren aufgekocht. Zur Anfärbung der Lösung erfolgte die Zugabe von 5µl Ethidiumbromid je 100ml Gellösung während der Abkühlungsphase. Ethidiumbromid interkaliert zwischen die Basenstapel der DNA, wodurch diese im UV-Licht sichtbar gemacht werden kann

2.5 Charakterisierung der Cytoplasmakonfiguration

Die Charakterisierung der Chloroplasten- und Mitochondrien-Typen erfolgte mit den von LOESSL et al. (1999, 2000) beschriebenen spezifischen Primerpaaren (Tab. 2.3).

Tab. 2.3: Spezifische Primer zur Identifizierung der Cytoplasmakonfiguration

CP-Primer¹	Sequenz
ALC_1	5'-TAG AAT CAG GAG GTC TT-3'
ALC_3	5'-TTA CTC ACG GCA ATC-3'
MT-Primer²	Sequenz
ALM_1	5'-CAC AAA TCC ATC TTT GTT TAT GC-3'
ALM_3	5'-GCG TTG GCT TAC AGC GAA ACT AG-3'
ALM_4	5'-AAT AAT CTT CCA AGC GGA GAG-3'
ALM_5	5'-AAG ACT CGT GAT TCA GGC AAT-3'
ALM_6	5'-AAT TAG GCC CGG CTA GGA ACA-3'
ALM_7	5'-AAC CCA GTC CCT ATG GTA TCT CCT-3'

¹Primer zur Identifizierung des Plastiden-Typs

²Primer zur Identifizierung des Mitochondrien-Typs

Zur Differenzierung zwischen dem W- und T-Typ wurden die Primer ALC_1 und ALC_2 kombiniert. Die Mitochondrien-Typen wurden mit den Primerkombinationen ALM_1 / ALM_3, ALM_4 / ALM_5 und ALM_6 / ALM_7 charakterisiert.

Die Zusammensetzung der PCR-Komponenten für einen Reaktionsansatz ist in Tab. 2.4 aufgeführt.

Tab. 2.4: Zusammensetzung der PCR-Reaktionskomponenten

Reagenz	Volumen je Reaktionsansatz
DNA (20 ng/µl)	1,5 µl
10x PCR-Puffer (Qiagen)	2,0 µl
dNTPs (je 5mM)	1,0 µl
Primer 1 (10pmol/µl)	1,0 µl
Primer 2 (10pmol/µl)	1,0 µl
Taq DNA-Polymerase (5 U/µl; Qiagen)	0,14 µl
H ₂ O _{bidest.} für PCR	13,36
Gesamtvolumen	20,0 µl

Die Fragment-Amplifikation erfolgte in einem MJ Research PTC 200 Thermocycler unter Verwendung des in Tab. 2.5 angegebenen Temperaturprofils. Die Amplifikationsprodukte wurden zur Visualisierung auf ein 2%iges Agarosegel aufgetragen.

Tab. 2.5: PCR-Temperaturprofil

	Temperatur (°C)	Dauer (min)	Zyklen
Vorheizen	95	3:00	1
Denaturierung	94	0:30	} 35 Zyklen
Annealing	44 (57)*	0:30	
Polymerisation	72	0:30	
Abkühlen	4	∞	

* Annealing-Temperatur CP-PCR: 44°C; MT-PCR: 57°C

2.6 AFLP-Analyse

Die von ZABEAU und VOS (1993) entwickelte AFLP-Technik (Amplified Fragment Length Polymorphism) basiert auf der selektiven PCR-Amplifikation von Restriktionsfragmenten eines kompletten Verdauens genomischer DNA. Sie besteht aus den Schritten der Restriktion und Ligation, Präamplifikation und selektiver Amplifikation.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine multifluorophore AFLP-Analyse, angelehnt an das 'AFLP™ Plant Mapping' Protokoll (Fa. PERKIN ELMER) und SCHWARZ et. al. (2000) durchgeführt. Die zur Durchführung der Analyse eingesetzten Adapter und Primer sind in Tab. 2.6 zusammengefasst. Die selektiven *EcoRI*-Primer waren an ihrem 5'-Ende mit dem Fluoreszenzfarbstoff 5-FAM (5-Carboxy-Fluorescein) markiert. Im Ergebnisteil (Kap. 3.2.1) sind selektive Primerkombinationen in abgekürzter Form (E-ANN; M-CNN) unter Angabe der jeweils veränderten selektiven Basen (N) aufgeführt.

Tab. 2.6: Adapter und Primer für die AFLP-Analyse

AFLP-Adapter:	5'-Sequenz-3'
<i>EcoRI</i> A1	CTC GTA GAC TGC GTA CC
<i>EcoRI</i> A2	AAT TGG TAC GCA GTC TAC
<i>MseI</i> A1	GAC GAT GAG TCC TGA G
<i>MseI</i> A2	TAC TCA GGA CTC AT
Präamplifikationsprimer:	5'-Sequenz-3'
P1 (<i>EcoRI</i>)	CTG CGT TAC CAA TTC A
P2 (<i>MseI</i>)	GAT GAG TCC TGA GTA AC
Selektive AFLP-Primer:	5'-Sequenz-3'
<i>EcoRI</i> (E)	CTG CGT TAC CAA TTC ANN
<i>MseI</i> (M)	GAT GAG TCC TGA GTA ACNN

Im Vorfeld erfolgte die Präparation der Adapter. Die als Einzelstrang vorliegenden Oligonukleotid-Adaptoren wurden zusammengemischt, so dass die Konzentration der Arbeitslösung 5 pmol/ μ l für *Eco*RI und 50 pmol/ μ l für *Mse*I betrug. Im Thermoblock wurden die Gemische auf 95°C erhitzt und unter langsamen Abkühlen zu Doppelsträngen annealt.

Restriktion und Ligation erfolgten in einem Reaktionsansatz (Tab. 2.7). Die gemeinsame Durchführung der enzymatischen Spaltung der DNA und Ligation der doppelsträngigen Adaptoren war in einem Arbeitsschritt möglich, da durch die Anlagerung der Linker die Erkennungssequenzen der Restriktionsenzyme nicht wiederhergestellt wurden. 500 ng DNA wurden in ein 1,5 ml Reaktionsgefäß überführt und mit sterilem, bidestilliertem Wasser auf ein Volumen von 5,5 μ l aufgefüllt. Nach Zugabe des Mastermix (Tab 2.7) erfolgte die Restriktion und Ligation in einem 37°C Wasserbad für 3 Stunden. Abschließend wurden die Reaktionsprodukte mit TE_{0,1}-Puffer auf 200 μ l Gesamtvolumen verdünnt und bei -20°C gelagert.

Tab 2.7: Reaktionsansatz für die Restriktion und Ligation

Reagenz	Volumen je Reaktionsansatz
10x T4 DNA-Ligase-Puffer mit ATP (NEB)	10 μ l
BSA (1mg/ml)	0,55 μ l
NaCl (0,5 M)	1,1 μ l
<i>Mse</i> I-Adaptor (50 pmol/ μ l)	1,0 μ l
<i>Eco</i> RI-Adaptor (5 pmol/ μ l)	1,0 μ l
<i>Mse</i> I (4 U/ μ l; NEB)	0,25 μ l
<i>Eco</i> RI (20 U/ μ l; NEB)	0,25 μ l
T4 DNA-Ligase (8U/ μ l; NEB)	0,126 μ l
H ₂ O _{bidest.} für PCR	0,124 μ l
Gesamtvolumen	5,5 μl

NEB = Fa. New England Biolabs

Als Template für die Präamplifikation dienten 4,0 μ l verdünntes Reaktionsprodukt aus der Restriktion-Ligation. Dieses wurde in einem 0,2 ml Reaktionsgefäß vorgelegt und je Ansatz 16 μ l Mastermix (Tab. 2.8) hinzugegeben. Die PCR erfolgte in einem MJ Research PTC 200 Thermocycler nach dem in Tab. 2.9 angegebenen Temperaturprofil.

Tab. 2.8: Mastermix für die Präamplifikation

Reagenz	Volumen
10x PCR-Puffer (Qiagen)	2,0 µl
dNTPs (je 5 mM)	0,8 µl
Präselectives AFLP-Primer-Paar (je 2,5 pmol/µl)	1,0 µl
Taq DNA-Polymerase (5 U/µl; Qiagen)	0,1 µl
H ₂ O _{bidest.}	12,1 µl
Gesamtvolumen	16,0 µl

Zur Überprüfung der Reaktion wurden 10 µl des Präamplifikates auf ein 2%iges Agarosegel aufgetragen. Eine erfolgreiche Reaktion wurde durch einen Schmier im Bereich von 100-1500 bp angezeigt. Das verbliebene Präamplifikationsprodukt (10 µl) wurde mit TE_{0,1}-Puffer auf 200µl Gesamtvolumen aufgefüllt.

Tab. 2.9: Temperaturprofil der Präamplifikation

	Temperatur (°C)	Dauer (min)	Zyklen
Halten	72	2:00	1
Denaturierung	94	0:20	} 20
Annealing	56	0:30	
Polymerisation	72	2:00	
Halten	60	30:00	1
Abkühlen	4	∞	

Die selektive Amplifikation erfolgte mit *EcoRI*- und *MseI*-Primern die jeweils mit drei selektiven Primern verlängert waren. Als Template für die PCR-Reaktion wurden je Ansatz 3 µl des verdünnten Präamplifikationsproduktes eingesetzt und 17 µl Mastermix (Tab. 2.10) hinzugegeben.

Tab. 2.10: Mastermix für die selektive Amplifikation

Reagenz	Volumen
10x PCR-Puffer (Qiagen)	2,0 µl
dNTPs (je 5 mM)	0,8 µl
<i>MseI</i> -Primer	1,0 µl
<i>EcoRI</i> -Primer	
Taq DNA-Polymerase (5 U/µl; Qiagen)	0,1 µl
H ₂ O _{bidest.}	12,1 µl
Gesamtvolumen	16,0 µl

Für die Amplifikation der Fragmente fand das in Tabelle 2.11 aufgeführte Temperaturprofil Verwendung.

Tab. 2.11: Temperaturprofil der selektiven Amplifikation

	Temperatur (°C)	Dauer (min)	Zyklen
Vorheizen	94	2:00	1
Denaturierung	94	0:20	} (-1,0°C/Zyklus)
Annealing	66	0:30	
Polymerisation	72	2:00	
Denaturierung	94	0:20	} 19
Annealing	56	0:30	
Polymerisation	72	2:00	
Halten	60	30:00	1
Abkühlen	4	∞	

Die mit dem Fluoreszenzfarbstoff 5-FAM (5-Carboxy-Fluorescein) markierten Fragmente wurden mit einem ABI Prism™ 377 Sequencer, in einem 5%igen denaturierenden Polyacrylamid-Gel (0,2 mm dick; 36 cm Leseweite), aufgetrennt. Jede Geltasche wurde mit einem Gesamtvolumen von 3,0 µl beladen. Dieses setzte sich aus 2,0 µl Probenvolumen, 0,84 µl Formamid/Dextran-Blau Beladungspuffer und 0,16 µl internen Standard, dem Farbstoff GeneScan 500 Rox, zusammen. Die Auftrennung erfolgte über 4 Stunden bei einer Elektrophoresespannung von 2500 V.

2.7 SSR-Analyse

Für die Analysen wurden 26 SSR-Primerpaare (Tab. 2.12), deren Sequenzen in den Publikationen von KAWCHUK et al. (1996)* und MILBOURNE et al. (1998) beschrieben sind, ausgewählt. Die mit den Fluoreszenzfarbstoffen 5-FAM und HEX (4,7,2',4',5',7'-Hexachloro-6-Carboxy-Fluorescein) markierten Primer wurden bezüglich der PCR-Bedingungen und ihrer Eignung zum Multimix optimiert. Dies geschah im Hinblick auf eine multicolorfluoreszenz Detektion mit einem ABI Prism™ 377 Sequencer. In Tabelle 2.13 und 2.14 sind der Reaktionsansatz bzw. das Temperaturprofil der Mikrosatelliten-PCR aufgeführt.

Tab. 2.12: Liste der verwendeten Mikrosatellitenpaare

Primer		Primer Sequence 5' - 3'	Tm (°C)	PROD (bp)	LG	LABEL
STM1049	F	CTACCAGTTTGTGGATTGTGGTG	59,5	189	I	FAM
	R	AGGGACTTTAATTTGTTGGACG				
STM2020	F	CCTTCCCCTTAAATACAATAACCC	60	162	I	HEX
	R	CATGGAGAAGTGAAAACGTCTG				
STM0038	F	AACTCTAGCAGTATTTGCTTCA	53,9	108	II	FAM
	R	TTATTTAGCGTCAAATGCATA				
STM1064	F	GTTCTTTTGGTGGTTTTCT	53,7	204	II	HEX
	R	TTATTTCTCTGTTGTTGCTG				
STM1053	F	TCTCCCCATCTTAATGTTTC	54,1	172	III	FAM
	R	CAACACAGCATCAGATCATC				
STM1069	F	ATGCTAACTTGGACACTTA	47,8	393	III	FAM
	R	AGTCTCTCAGGAGGATTAC				
STM3016	F	TCAGAACACCGAATGGAAAAC	60	151	IV	HEX
	R	GCTCCAACCTACTGGTCAAATCC				
STM1031	F	TGTGTTTGTCTTCTGTAT	44,5	276	V	FAM
	R	AATTCTATCCTCATCTCTA				
Lemalx	F	CTCACCCACAAAGAAAATTC	54,5	126	V	FAM
	R	CTAACAAACATTGTACAACAATAATC				
STM0019	F	AATAGGTGTAAGTACTGACTCTCAATG	52,7	204	VI	HEX
	R	TTGAAGTAAAAGTCCTAGTATGTG				
STM1100	F	GCTTCGCCATCTTAATGGTTA	58,7	173	VI	FAM
	R	TCTTCGAAGGTACGTTTAGACAA				
STM0028	F	CATAAATGGTTATACACGCTTTGC	59,9	145	VII	HEX
	R	TAATGGAGTTCCTGAAAAGAAAGG				
STM1003	F	CACTTAATATGGAATAGAGGAAGTA	53,5	172	VII	HEX
	R	GAAGTATGCTTTATCATTCA				
STM1024	F	ATACAGGACCTTAATTTCCCAA	60	143	VIII	FAM
	R	TCAAAACCCAATTCAATCAAATC				
STM3010	F	TCATGAGTGCTGGTGCTACC	59,9	120	VIII	HEX
	R	GTCTTAACAGCAGATCAACAATGG				
STM1021	F	GGAGTCAAAGTTTGCTCACATC	59,4	181	IX	FAM
	R	CACCCTCAACCCCATATC				
STM1051	F	TCCCCTTGGCATTCTTCTCC	65,5	225	IX	HEX
	R	TTTAGGGTGGGGTGAGGTTGG				
STM0051	F	TACATACATACACACGCG	54	115	X	HEX
	R	CTGCAACTTATAGCCTCCA				
STM2012	F	GCGGCCGCTTCTCAGCCAA	62	247	X	FAM
	R	TCTCGTTCAATCCACCAGATC				
STM0025	F	GTTTCATGATTGTGAATGCTC	54	146	XI	HEX
	R	ATGACTCAACCCCAAATG				
STM0037	F	AATTTAACTTAGAAGATTAGTCTC	48	90	XI	FAM
	R	ATTTGGTTGGGTATGATA				
STM0003	F	GGAGAATCATAACAACCAG	50,5	141	XII	HEX
	R	AATTGTAACCTCTGTGTGTGTG				
STM0030	F	AGAGATCGATGTAAAACACGT	54	147	XII	FAM
	R	GTGGCATTGATGGATT				
MSK01*	F	TCT CTT GAC ACG TGT CAC TGA AAC		210-252		FAM
starch synthetase	R	TCA CCG AAT ACA GTA GGC AAG AGA				

MSK02*	F	TCT CTT GAC ACG TGT CAC TGA AAC	336-378	FAM
starch synthetase	R	TTG CCA TGT GAT GTG TGG TCT ACA A		
MSK03*	F	CAT GTG GTT GTT AGA CAC CAC TAG T	318-364	HEX
Proteinase inhibitor I	R	TTT GGC ACA AGC AAG GGT AGA AGG	490-494	

F = forward; R = reverse; TM = Schmelztemperatur; PROD = Größe des erwarteten Amplifikationsproduktes; LG = Kopplungsgruppe; LABEL = Markierung

Maximal konnten die Produkte aus drei verschiedenen PCR-Ansätzen parallel elektrophoretisch aufgetrennt werden. Das Auftragsvolumen betrug 3 µl und setzte sich analog zu den AFLP-Fragmenten aus den selben Anteilen der Komponenten zusammen. Die Auftrennung erfolgte über 2 Stunden bei 750 V auf einem 5%igen denaturierenden Polyacrylamid-Gel (0,2 mm dick; 24 cm Leseweite).

Tab. 2.13: Reaktionsansatz für die Mikrosatelliten-PCR

Reagenz	Volumen je Reaktionsansatz
DNA (20 ng/µl)	1,5 µl
10x PCR-Puffer (Qiagen)	2,0 µl
dNTPs (je 5mM)	1,0 µl
F-Primer 1 (10pmol/µl)	1,0 µl
R-Primer 2 (10pmol/µl)	1,0 µl
Taq DNA-Polymerase (5 U/µl; Qiagen)	0,14 µl
H ₂ O _{bidest.} für PCR	13,36
Gesamtvolumen	20,0 µl

Tab. 2.14: Temperaturprofil für die Mikrosatelliten-PCR

	Temperatur (°C)	Dauer (min)	Zyklen
Halten	95	2:00	1
Denaturierung	95	0:10	} 35
Annealing	x	0:30	
Polymerisation	72	0:50	
Halten	72	15:00	1
Abkühlen	4	∞	

x = 50, 55, 57, 60°C (Annealingtemperatur wurde je nach Primerpaar variiert)

2.8 Parameter zur Schätzung der Heterozygotie

Molekulare Markerdaten dienen dazu, die Beziehungen zwischen maximaler Heterozygotie und diversen phänotypischen Merkmalen direkt auf molekularer Ebene zu untersuchen. Als Markersysteme wurden AFLPs und Mikrosatelliten genutzt. Zur Beschreibung von Heterozygotie bzw. Homozygotie auf molekularer Ebene wurden die folgenden Parameter berechnet:

2.8.1 Relativer Heterozygotie Index (RHI)

Der Relative Heterozygotie Index (RHI) ist definiert als Quotient aus der Summe der amplifizierten Fragmente eines Genotypen und der Gesamtsumme der in der zugehörigen Population beobachteten Fragmente (GEBHARDT et al. 1989b).

$$RHI = \frac{\sum \text{Fragmente} / \text{Genotyp}}{\sum \text{Fragmente} / \text{Population}}$$

Dem RHI liegt die Annahme zugrunde, dass in heterozygoten Genotypen mehr Fragmente amplifiziert bzw. aufgedeckt werden, als in Genotypen die homozygoter sind. Der RHI wurde für jeden Genotyp getrennt nach Markersystem berechnet und mit den zugehörigen phänotypischen Daten verglichen.

2.8.2 Inzuchtgrad (Homozygotie)

Dieser Index ist modifiziert nach BONIERBALE et al. (1993) als Prozentsatz von beobachteten SSR-Loci eines Genotypen, die nur 1 Fragment (Allel) zeigen, definiert. Ursprünglich für RFLPs entwickelt, wurde dieser Index ausschließlich für Mikrosatellitendaten berechnet, da vorausgesetzt wurde, dass ein SSR-Primerpaar genau einen Locus aufdeckt.

2.8.3 Heterozygotie an nicht homozygoten Loci

Dieser zweite Parameter für Heterozygotie ist definiert als die durchschnittliche Anzahl an Fragmenten, die bei einem Genotyp an Loci beobachtet wurden, die mehr als 1 Fragment zeigen (BONIERBALE et al. 1993). Im Gegensatz zum

Relativen Heterozygotie Index (vgl. Kap. 2.8.1) ist er unabhängig zum Index für Homozygotie.

Aus den selben, obengenannten Gründen (vgl. Kap 2.8.2) konnte dieser Parameter ausschließlich für die Mikrosatellitendaten berechnet werden.

2.9 Charakterisierung der Allelfrequenzen der Marker

Ausgehend von dem 'single-dose restriction fragment' (SDRF)-Ansatz (WU et al. 1992; SORRELS 1992) für die Kartierung der autotetraploiden Kulturkartoffel wurden die Frequenzen von Mikrosatelliten- und AFLP- Markern untersucht.

Die Marker wurden danach unterschieden, ob sie maternale oder parentale Herkunft hatten, bzw. bei beiden Eltern vorlagen. Marker, die ein 1:1 Spaltungsverhältnis aufwiesen und nur von einem Elter stammten, wurden als Simplex-Marker, also in einfacher Dosis vorliegend, betrachtet. Lagen sie hingegen in einem 5:1 Verhältnis vor, wurden sie als Duplex-Marker (doppelte Dosis) gewertet. Marker mit einem 3:1 Verhältnis, die von beiden Eltern stammten, wurden als Doppelsimplex-Marker eingestuft (vgl. Tab. 1). Mit dem χ^2 -Test wurde die Signifikanz der Spaltungsverhältnisse mit einem Signifikanzniveau von 95% überprüft.

Die oben erwähnten Untersuchungen wurden für beide reziproken Populationen getrennt durchgeführt, um sich ein Bild über eventuell vorliegende Unterschiede machen zu können. Diese Informationen wurden als hilfreich für die Interpretation möglicher phänotypischer Variation zwischen den Reziproken betrachtet. Die Allelfrequenzen wurden verglichen, um weiterführende Aussagen bezüglich möglicher Cytoplasmaeinflüsse machen zu können.

Zusätzlich wurden Informationen über die Eignung der jeweiligen Markertechniken für die Kartierung von Autotetraploiden nach dem oben genannten Ansatz erwartet.

2.10 Einzelmarkerregression

Die Beziehung zwischen der Spaltung eines spezifischen SSR- bzw. AFLP-Fragmentes und den verschiedenen Merkmalsausprägungen wurde mittels Einzelmarkerregression überprüft. Hierdurch sollten Rückschlüsse über potentielle Molekulare Marker und die Stärke der Korrelation erfolgen.

2.11 Verwandtschaftsanalyse

2.11.1 Molekulare Daten

Zur statistischen Auswertung der molekularen Daten erfolgte die Erfassung der polymorphen Fragmente in binärer Form (1 = Bande vorhanden, 0 = Bande nicht vorhanden).

Die Anzahl amplifizierter Fragmente, sowie der Anteil polymorpher (monomorpher) Fragmente je Primerkombination/Primerpaar wurde ermittelt. Daraus konnte der durchschnittliche und prozentuale Anteil an polymorphen Fragmenten die das jeweilige Markersystem generierte, hergeleitet werden.

Neben der Anzahl der je Mikrosatelliten-Primerpaar über alle untersuchten Genotypen detektierten Allele erfolgte zusätzlich eine Zusammenfassung der Allel-Muster je Primerpaar, um die Intralocusdiversität zu beschreiben. Jedes SSR-Primerpaar amplifiziert meist Fragmente eines spezifischen Locus. Für Primer wie MSK03 (Proteinase Inhibitor I), deren Amplifikationsprodukte verschiedenen Loci zugeordnet werden können (KAWCHUK et al. 1996), wurden diese getrennt betrachtet. Die Allel-Muster gehen in die Berechnung des Diversitätsindex für Mikrosatelliten (vgl. Kap. 2.12.1) ein.

2.11.2 Bestimmung der genetischen Ähnlichkeit

Basierend auf einer binären Datenmatrix (1/0-Matrix) wurde die genetische Ähnlichkeit (GS) zwischen den verschiedenen Genotypen geschätzt. Als Proximitätsmaß diente der DICE-Koeffizient (1945), auch oft als NEI and LI-Koeffizient (1979) bezeichnet (ROLF 2000). Die genetische Ähnlichkeit zwischen jeweils zwei Genotypen A und B (Paarvergleich) berechnet sich nach der Formel:

$$GS_{Dice} = \frac{2a}{2a + (b + c)}$$

Hierbei ist:

a = Anzahl der Banden, die bei beiden Genotypen vorliegen

b = Anzahl der Banden die ausschließlich bei Genotyp A vorkommen

c = Anzahl der Banden die ausschließlich bei Genotyp B vorkommen

Aus der Differenz von eins und der genetischen Ähnlichkeit kann dann die genetische Distanz (GD) nach DICE (1945) für das jeweilige Paar abgeleitet werden.

2.11.3 Clusteranalyse und Hauptkoordinatenanalyse

Eine Clusteranalyse sollte die Beziehungen zwischen den untersuchten Genotypen verdeutlichen. Als Fusionsalgorithmus wurde der UPGMA (unweighted pair-group method, arithmetic average) gewählt, d.h. es wurden damit solche Genotypen zu Gruppen zusammengefasst, die zueinander die geringste mittlere genetische Distanz aufweisen. Dieser Algorithmus zählt zu den agglomerativ hierarchischen Verfahren und wird in der Literatur auch als Average Linkage Methode bezeichnet (BACKHAUS et al. 2000).

Die Überprüfung der Kongruenz zwischen der Ähnlichkeitsmatrix, die der Clusteranalyse zugrunde liegt, und dem resultierenden Dendrogramm erfolgte über die Berechnung der cophenetischen Korrelation (r_{cs}) nach SNEATH and SOKAL (1973). Hierzu wurden aus dem Ergebniss der Clusteranalyse ('tree matrix') eine Matrix der cophenetischen Werte berechnet und diese dann zum Vergleich mit der zugrundeliegenden Ähnlichkeitsmatrix herangezogen.

Zusätzlich wurde zur weiteren graphischen Verdeutlichung der Zusammenhänge eine Hauptkoordinatenanalyse durchgeführt. Ausgehend von der Ähnlichkeitsmatrix wurden die ersten drei Hauptkoordinaten berechnet und in einer zweidimensionalen Graphik dargestellt. Hierzu wurde die DCENTER- und EIGEN-Prozedur verwendet.

2. 12 Vergleich der Markersysteme

Um die Wertigkeit der verwendeten Markersysteme für eine Verwandtschaftsanalyse besser beurteilen zu können, erfolgte in Anlehnung an die Arbeiten von POWELL et al. (1996) und MILBOURNE et al. (1997) die Berechnung der nachfolgend erläuterten Maßzahlen.

2. 12.1 Diversität Index

Der Diversität Index (DI) beschreibt die durchschnittlich erwartete Heterozygotie für einen Marker. Diese wird nach NEI (1973) aus den Quadratsummen der Allelhäufigkeiten berechnet.

Bei den AFLPs wurde jedes einzelne Allel als eigenständiger Locus betrachtet und der Diversitätsindex als:

$$DI = 1 - \sum p_i^2$$

berechnet, wobei p_i die Häufigkeit des i -ten Allels ist.

Für Mikrosatelliten wurde vorausgesetzt, dass jedes Primerpaar einen einzelnen Locus aufdeckt, weshalb der DI nach der Formel:

$$DI = 1 - \sum pg^2$$

berechnet wurde, wobei pg als die Häufigkeit eines individuellen Genotyps definiert ist. Darunter versteht man die Häufigkeit eines spezifischen Allelmusters das an einem Locus beobachtet wird.

Abschließend wurde aus den Einzelwerten für jedes Markersystem der durchschnittliche Diversität Index $DI_{av(p)}$ berechnet, der in der Literatur (BOHN et al. 1998; LÜBBERSTEDT et al. 2000) auch oft als PIC-Wert (Polymorphic Information Content) bezeichnet wird.

2.12.2 Effektives Multiplex Verhältnis (EMR)

Unter EMR (Effective Multiplex Ratio) versteht man die Anzahl polymorpher Loci, die in einem interessierenden Genpool je Experiment analysiert werden. Er ist definiert als:

$$EMR = \text{Anteil polymorpher Banden} \times \text{Locizahl pro PE}$$

wobei eine Probeneinheit (PE) bei AFLPs mit einer Primerkombination und bei SSR mit einem Primerpaar gleichzusetzen ist. Für jedes Markersystem wurde das durchschnittliche EMR berechnet.

2.12.3 Markerindex

Der Markerindex für ein bestimmtes Markersystem ist definiert als das Produkt aus dessen durchschnittlichen Diversität Index und des Effektiven Multiplex Verhältnisses (EMR).

$$MI = DI \times EMR$$

2.13 Statistische Methoden und Software

Die mittels ABI Prism™ 377 Sequencer elektrophoretisch aufgetrennten fluoreszenz-markierten Fragmente (vgl. Kap. 2.6; 2.7) wurden semiautomatisch mit GeneScan™ vers. 2.0.2 und Genotyper™ vers. 2.0 Software analysiert (SCHWARZ et al. 2000).

Mit den entsprechenden Prozeduren des Programmpakets NTSYS-pc 2.1 (ROHLF 2000) wurden die Berechnungen für die Clusteranalyse und Hauptkoordinatenanalyse durchgeführt. Sonstige statistische Berechnungen erfolgten mit Hilfe des Programms EXCEL 6.0 bzw. mit dem SPSS 10.0 Programmpaket. Die verwendeten statistischen Methoden sind bei KÖHLER et al. (1992) und SACHS (1999) beschrieben. Die Datensätze wurden mittels des Kolmogorov-Smirnov-Tests auf Normalverteilung und die Varianzhomogenität nach dem Levene-Test geprüft. Zur Prüfung signifikanter Mittelwertunterschiede bei mindestens intervallskalierten, normalverteilten Daten wurde der T-Test herangezogen. Lag keine Normalverteilung vor, wurde der U-Test nach *MANN* und *WHITNEY* durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Einfluss von Cytoplasma und Heterozygotie auf die Merkmalsvariabilität

3.1.1 Charakterisierung der Cytoplasmakonfiguration

Die Cytoplasma-Konfigurationen der zum Kreuzen verwendeten Sorten konnten mit den verwendeten Primern (vgl. Kap. 2.5) unterschiedlich gut charakterisiert werden. Mit den Primern ALC_1 und ALC_3 erhielt man die erwarteten Produkte von ca. 622 bp für den W-Typ und 381 bp für den T-Typ und konnte somit die beiden Plastiden-Typen klar unterscheiden (Abb. 4).

Die zur Charakterisierung der Mitochondrien-Typen eingesetzten Primer zeigten hingegen deutliche Unterschiede. Während mit der Kombination aus ALM_4 / ALM_5 eine Unterscheidung möglich war (Abb. 4), zeigten die Primer ALM_1 / ALM_3 bzw. ALM_6 / ALM_7 bei einigen Genotypen zusätzliche Amplifikationsprodukte, die in diesen Fällen eine Typenunterscheidung nicht erlaubte. Speziell ALM_6 / ALM_7 wurden entwickelt, um einen verbesserten Nachweis des γ -Typs zu liefern.

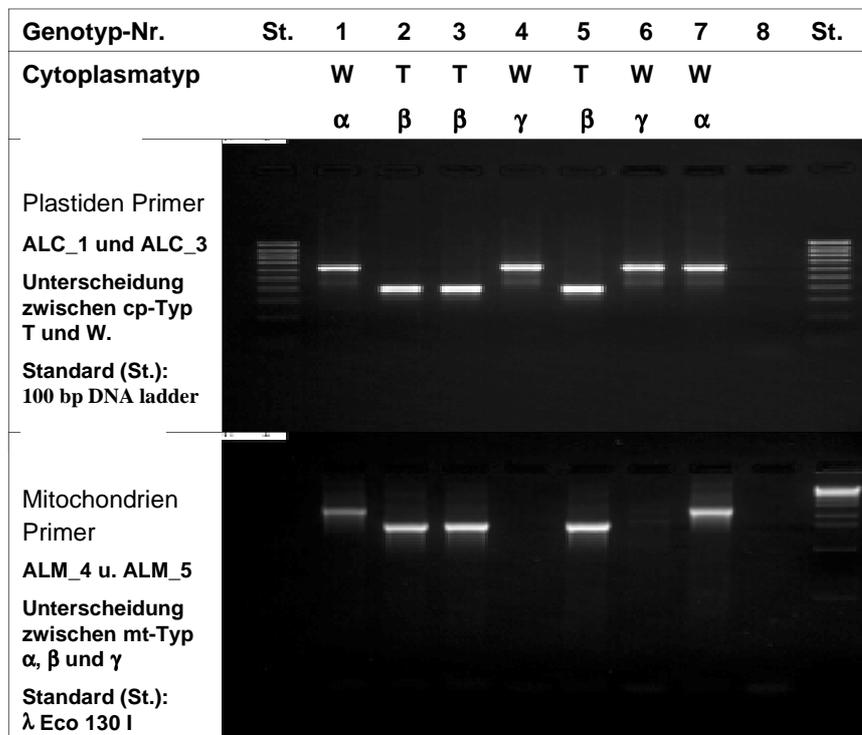


Abb. 4: Unterscheidung von Cytoplasmatypen mittels PCR-Primern. Spur: (1) Ponto, (2) Mentor, (3) Rustica, (4) Forelle, (5) Agria, (6) Bettina, (7) Panda, (8) Kontrolle

Konnte mit den Primern ALM_4 und ALM_5 für den α - bzw. β -Mitochondrientyp ein direkter Nachweis über die Amplifikation zweier spezifischer Fragmente von 2,4 bzw. 1,6 kb erfolgen, so wahr eine Charakterisierung des γ -Typs nur indirekt möglich (Abb. 4). Im Gegensatz zum α -Typ erhielt man mit diesen Primern kein Amplifikationsprodukt.

3.1.2 Einfluss des Cytoplasmas auf die Kreuzungseignung

Im Jahr 1998 wurden 40 Genotypen mit dem Ziel kombiniert, reziproke Kreuzungskombinationen mit definiertem Cytoplasmahintergrund zu erstellen. Insgesamt wurden 2188 Handkreuzungen durchgeführt. Es ergaben sich daraus 320 Kombinationen, von denen 167 Kombinationen (55%) einen Beerenansatz zeigten. Nur 21 Kombinationen waren reziprok (13%).

Die Auswertung der Kreuzungseignung zeigte, dass mit Pollen der Cytoplasma-Konfiguration W/ γ , trotz umfangreicher Kreuzungen (586 Einzelkreuzungen), kein Beerenansatz bei den bestäubten Mutterpflanzen herbeigeführt werden konnte. Hingegen war bei den anderen Cytoplasma-Typen ein Beerenansatz von ca. 70% festzustellen (Tab. 3.1). Je Beere lagen ca. 40-150 Samen vor. Bezüglich der Eignung als Mutterpflanze konnten keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Typen beobachtet werden.

Tab. 3.1: Übersicht über den Kreuzungserfolg (1998) bei unterschiedlicher Cytoplasma-Konfiguration des Pollenspenders

	Cytoplasma-Konfiguration			Σ
	W/ α	T/ β	W/ γ	
Σ Einzelkreuzungen %	867 39,6%	735 33,6%	586 26,8%	2188 100%
Σ Kombinationen %	124 38,8%	114 35,6%	82 25,6%	320 100%
Σ *Beerenansatz %	86 69,4%	81 71,1%	0 0%	167 52,2%

* Anzahl der erfolgreichen Kombinationen mit Beerenansatz.

Dies ließ vermuten, das der W/ γ -Typ in Verbindung mit einem Cytoplasmatisch-Männlichen-Sterilitäts-System (CMS) steht. Zur Überprüfung dieser Annahme erfolgte 1999 ein Testkreuzungsprogramm. Als Pollenspender wurden 20 Geno-

typen, die eine W/γ-Konfiguration aufweisen, eingesetzt. Als Standard dienten die Sorten Ponto und Mira (vgl. Kap. 2.1.1).

Insgesamt wurden 435 Handkreuzungen durchgeführt. Es ergaben sich daraus 97 Kombinationen, von denen nur 8 (8,2%) einen Beerenansatz zeigten. Wie im Vorjahr führte keine Kreuzung mit Pollen von Sorten mit W/γ-Typ zu einem Beerenansatz (Tab 3.2). Trotz des relativ geringen Kreuzungsumfangs zeigten die Standardsorten eine gute Fertilität. Von den hier angesetzten 12 Kombinationen führten 8 zu einen Beerenansatz (66,7%).

Tab. 3.2: Testkreuzungsprogramm 1999

	Cytoplasma-Konfiguration			Σ
	W/α	T/β	W/γ	
Σ Einzelkreuzungen	22	27	386	435
%	5,1%	6,2%	88,7%	100%
Σ Kombinationen	6	6	85	97
%	6,2%	6,2%	87,6%	100%
Σ *Beerenansatz	2	6	0	8
%	25%	75%	0%	100%

* Anzahl der erfolgreichen Kombinationen mit Beerenansatz.

3.1.3 Pollenuntersuchung

Bei der sexuellen Kreuzung von Kartoffeln liegt eine maternale Vererbung des Cytoplasmas vor (LÖSSL et al. 1994). Handelt es sich bei der beobachteten Sterilität um ein CMS-System, so müssen alle Nachkommen einer Mutterpflanze mit W/γ-Typ ebenfalls pollensteril sein. In Zusammenarbeit mit der Bayerischen Landesanstalt für Pflanzenbau und Bodenkultur (LPB) wurde dieser Fragestellung nachgegangen. Hierzu wurden 1999 Pollenproben von 70 Zuchtstämmen der LBP genommen. Von diesen Stämmen, die Nachkommen von insgesamt 9 Sorten des W/γ-Typs darstellen, zeigte kein einziger Pollenschlauchkeimung (Tab. 3.3).

Acht Stämme, bei denen es sich um Nachkommen der Sorte Ute (3), Felicitas (2), Kuras (2) und Sibü (2) handelte, bildeten überhaupt keinen Pollen. Die Standardsorten Artana, Panda, Ponto, Ulme und Mira wiesen eine Keimungsrate von ca. 10-20% auf, während der Pollen der Sorte Alwara (W/γ- Typ) keine Keimung zeigte.

Tab. 3.3: Fertilitätsuntersuchungen an Nachkommen von W / γ -Typen

Mutterpflanze	Untersuchte Nachkommen	Keimungsrate (%)
Assia	15	0
Helios	3	0
Sibu	17	0
Ute	1	0
Petra	2	0
Uno	1	0
Ute	10	0
Felictas	9	0
Kuras	12	0
Summe	70	

Eine zusätzliche Evaluierung des Kartoffelzuchtprogrammes der Bayerischen Landesanstalt für Pflanzenbau und Bodenkultur (LBP) bekräftigt ebenfalls die Annahme der Kopplung eines CMS-Systems mit dem W/ γ -Typ. Nachkommen aus Kreuzungen mit maternalen Eltern, die dieses Plasma besitzen, wiesen praktisch immer Pollensterilität auf. Solche Genotypen zeigten in Kreuzungsprogrammen, dass sie als Pollenelter ungeeignet sind (pers. Mitteilung J. SCHWARZFISCHER, LBP). Die Stammbäume der Sorten mit W/ γ -Cytoplasma wurden recherchiert (Tab. 3.4), um Gemeinsamkeiten erkennen zu können.

Informationen über die Herkünfte mussten dabei aus verschiedenen Quellen (HAMESTER and HILS 1999; STEGEMANN and LOESCHKE 1976; STEGEMANN and SCHICK 1982,1985; SWIEZYNSKY et al. 1997; pers. Mitteilungen verschiedener Züchter) zusammengetragen werden.

Die Übersicht in Tab. 3.4 zeigt, dass bis auf vier, für die keine weitergehenden Informationen verfügbar waren, alle aufgeführten Sorten mit W/ γ -Cytoplasma die Zuchtstämme MPI 65.346/19, MPI 65.346/9, MPI 55.957.54, MPI 50.140/5 oder MPI 61.303/34 und MPI 49.767/7 des Max-Planck-Institutes für Züchtungsforschung in Köln (MPI) als maternale Vorfahren aufweisen.

Aus Abbildung 5 (a, b) geht hervor, dass der W/ γ -Cytoplasmatyp über die Wildart *S. stoloniferum* in das deutsche Sortenspektrum gelangt sein muss. Alle Sorten mit diesem Cytoplasma lassen sich praktisch auf zwei Einkreuzungen dieser Wildart zurückführen. In Tab. 3.4 sind die Stämme, nach diesen beiden Herkünften unterteilt, farbig gekennzeichnet.

Tab. 3.4: Abstammung der Sorten mit W/γ-Cytoplasma (geordnet nach Züchter)

Sorte	Zücht. ¹	RG ²	PVY ³	Jahr ⁴	Abstammung	Vorfahre (maternal)
Bettina	BAV	3s	RR	1988	Franzi x 795/883	MPI 61.303/34
Petra	BAV	2w	1	1991	Assia x 8290/582	MPI 65.346/19
Pirola	BAV	4w	RR	1976	(MPI 49.767/7 x Eva) x MPI 185/14	
Üte	BAV	2w	RR	1982	MPI 65.346/19 x Gamma	
Roeslau	BAV	-	RR	1983	MPI 65.346/19 x Gamma	
Assia	UNI	3w	RR	1980	MPI 65.346/19 x UP 5.332/10	
Azur	UNI	2w	1	1993	?	
Fox	UNI	2w	1	1981	MPI 65.346/9 UPN 1623/11	
Pareka	BOE	4w	5	1992	Darwina x (Amara x ?)	
Kuras	BOE	4w	-	1993	Brda x VK 69-491	MPI 55.957.54
Gambria	NKZ	3s	6	1995	Ronea x Berber	MPI 61.303/34
Sanira	NKZ	4s	1	1992	Hilta x ?	
Tomensa	NKZ	2w	2	1989	Sämling x Taiga	
Tempora	NKZ	2w	2	1978	Ebstorf 44/33 x (Lori x E59/77)	MPI50.140/5
Padea	BER	2w	3	1995	Tanja x Berd. 84/1339	MPI 61.303/34
Alwara	LAN	3s	1	1985	290/76 x Desiree	MPI 61.303/34
Felicitas	LAN	2s	1	1993	372/73 x 195/72	MPI 61.303/34
Heidrun	LAN	-	RR	1978	MPI 61.303/34 x Humalda	
Forelle	NOS	2s	RR	1979	MPI 64.956/68 x AM 62.740	MPI50.140/5
Helios	SAR	3w	1	1993	Ute x ?	MPI 65.346/19
Sibu	SAR	4w	1	1993	Roeslau x Certa	MPI 65.346/19
Uno	SAR	3w	1	1994	Roeslau x?	MPI 65.346/19
Pluto	AUS	-	-	1992	Pirola x Certa	MPI 49.767/7
Aiko	NDP	3w	5	1989	Assia x Juliver	MPI 65.346/19

¹Züchterhaus (BAV: Bavaria Saat, UNI: Uniplanta, BOE: Kartoffelzucht Böhm, NKZ: Nordkartoffel, BER: Berding, LAN: Lange, NOS: Nordsaat, SAR: Saka-Ragis, AUS: Niederösterreichische Saatbaugenossenschaft, NDP: Norddeutsche Pflanzenzucht); ²Reifegruppe und Nutzungsrichtung (1 = sehr früh; 2 = mittelfrüh; 3 = mittelspät; 4 = spät / s = Speise, w = Wirtschaft); ³Einstufung der PVY-Resistenz (RR = extreme Resistenz, Anfälligkeit 9 = sehr hoch bis 1 = sehr gering); ⁴Jahr der Zulassung

Die erwähnten MPI-Stämme dienten dazu, das Resistenzgen Ry_{sto} gegen das Kartoffelvirus Y aus *S. stoloniferum* in deutsche Sorten zu übertragen (Ross 1986). Dies drückt sich dadurch aus, dass die meisten in Tab. 3.4 aufgeführten Sorten als gering anfällig bzw. extrem resistent gegen den Y-Virus eingestuft worden sind.

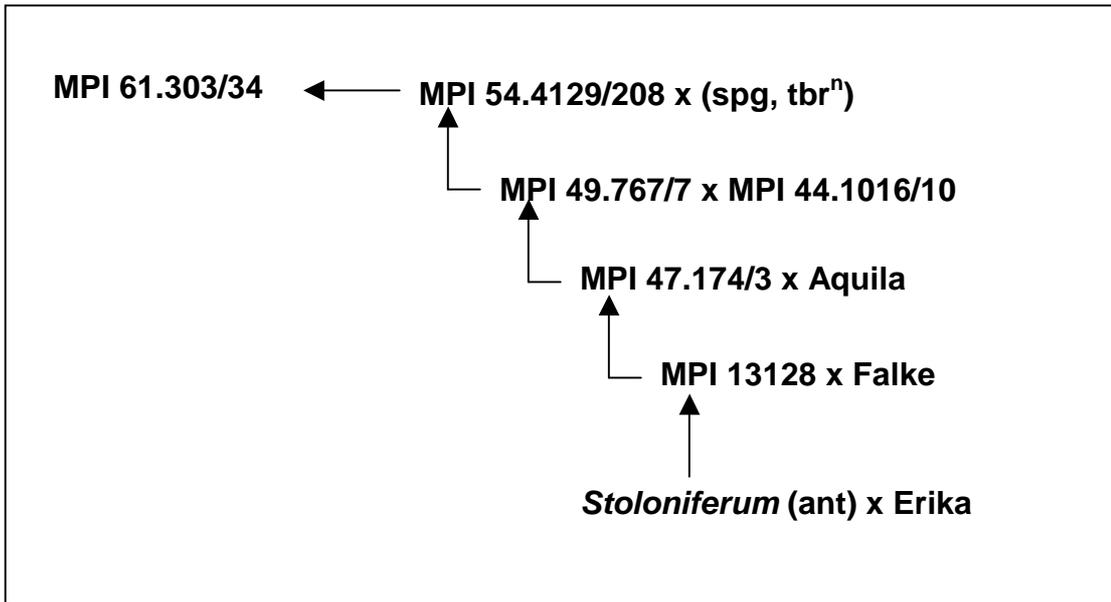


Abb. 5 (a): Herkunft des W/γ-Cytoplasmas

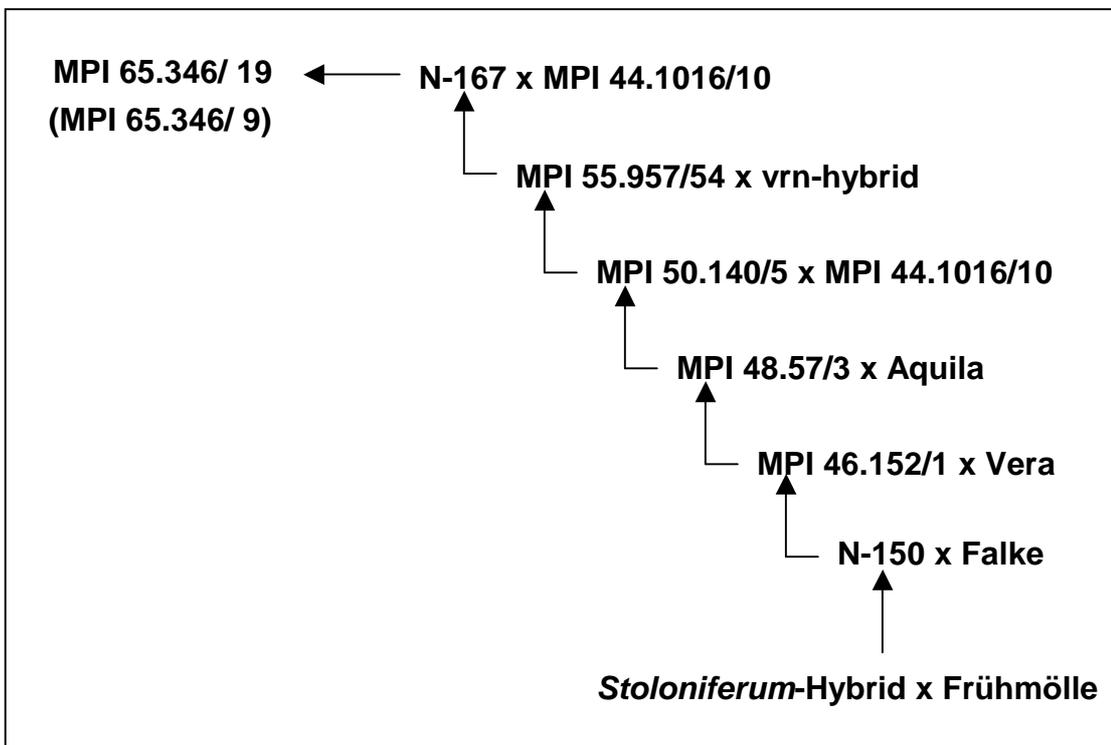


Abb. 5 (b): Herkunft des W/γ-Cytoplasmas

3.1.4 Feldversuche

Die Auswertung der Feldversuche erfolgte unter der Fragestellung, ob Unterschiede zwischen den reziproken Populationen vorliegen und somit Anhaltspunkte für den Einfluss des cytoplasmatischen Hintergrundes auf diverse Merkmalsausprägungen, vorrangig den Stärkegehalt und den Staudenertrag, gegeben sind. Die Versuchsergebnisse der zentralen Populationen flossen ferner in die Überprüfung der Hypothese der maximalen Heterozygotie ein (siehe Kap. 3.1.5). An diesen wurden die in Kap. 2.2.1 beschriebenen Feldbonituren im vollen Umfang durchgeführt.

3.1.4.1 Stärkegehalt

Sechs Populationen wurden ausschließlich im Jahr 2000 angebaut (vgl. Kap. 2.2). Es handelte sich dabei um die reziproken F₁-Populationen **MP** (Mira x Panda), **PM** (Panda x Mira), **MT** (Mira x Thomana), **TM** (Thomana x Mira), **BP** (Berber x Panda), sowie **PB** (Panda x Berber). Diese Populationen wurden ergänzend zu den Hauptpopulationen untersucht. Es sollten mögliche Einflüsse eines unterschiedlichen Cytoplasmahintergrundes auf die Ertragskomponente Stärkegehalt aufgedeckt werden.

Bei den Populationen MP und PM wurden Stärkegehalte zwischen 12,6 und 20,9% bzw. 8,1 und 21,3% gemessen. Die Mittelwerte lagen mit 15,47 bzw. 15,23 auf dem gleichen Niveau (Tab. 3.5).

Tab. 3.5: Stärkegehalte (%) der Populationen MP und PM

Population	Stärkegehalt			
	N	MW	Spannbreite	s _x
MP	78	15,47	12,6-20,9	1,76
PM	100	15,23	8,1-21,3	2,13

Die Datensätze zeigten Normalverteilung. Mittels T-Test konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Populationen bezüglich der Mittelwerte nachgewiesen werden.

Von den reziproken F₁-Populationen MT und PM konnte nur eine relativ geringe Anzahl an Genotypen im Feld getestet werden (Tab. 3.6). Die Stärkegehalte variierten hier zwischen 9,8 und 18,2% bei MT, sowie 12,8 und 18,5% bei TM. Die

Mittelwerte unterschieden sich nicht wesentlich, was mittels T-Test bestätigt wurde. Diese beiden Populationen dienten als Kontrolle, da bei beiden der gleiche Cytoplasmahintergrund vorlag. Ein Unterschied der Mittelwerte hätte hier auf weitere Einflussfaktoren als das Cytoplasma hingewiesen.

Tab. 3.6: Stärkegehalte (%) der Populationen MT und TM

Population	Stärkegehalt			
	N	MW	Spannbreite	s _x
MT	16	14,33	9,8-18,2	2,34
TM	31	14,80	12,8-18,5	1,36

Bei den reziproken Populationen BP und PB konnten aus den Samen ebenfalls nur relativ wenige Pflanzen herangezogen werden. In dieser Kombination fand mit Berber ein Speisetyp Berücksichtigung. Auch hier konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Reziproken festgestellt werden (Tab. 3.7). Deutlich ist hier jedoch der Einfluss von Berber zu erkennen. Im Gegensatz zu den anderen Populationen, die ausschließlich auf Kreuzungen von Stärkesorten basieren, liegt hier ein durchschnittlich geringerer Stärkegehalt vor.

Tab. 3.7: Stärkegehalte (%) der Populationen BP und PB

Population	Stärkegehalt			
	N	MW	Spannbreite	s _x
BP	20	12,37	9,60-15,50	1,76
PB	27	12,29	8,40-15,80	1,82

Die Stärkegehalte der als Standard angebauten Eltern fielen im Versuchsjahr gering aus. So konnten bei jeweils 5 Wiederholungen im Durchschnitt bei Panda nur 14,88%, Thomana 14,73% und Berber 9,4% Stärke ermittelt werden. Die durchschnittlich 11,8% Stärke, die bei Mira gemessen wurden, lagen deutlich unter den Erwartungen für eine Wirtschaftssorte. Dies mag damit erklärt werden, dass von Mira im Versuchsjahr Knollen aus einem Nachbau gelegt werden mussten, da zertifiziertes Pflanzgut aufgrund der Streichung aus der Sortenliste nicht mehr verfügbar war. Hierfür spricht auch eine im Vergleich zu den anderen Sorten recht hohe Standardabweichung.

Die zentralen Populationen **PT** (Panda x Thomana) und **TP** (Thomana x Panda) standen zweijährig im Feldversuch. Die Ermittlung des Stärkegehaltes erfolgte im Jahr 2000 in einfacher und im Folgejahr in dreifacher Wiederholung. Aus Tab. 3.8 geht hervor, dass bei beiden Populationen bezüglich des Stärkegehaltes zwischen den Jahren und den Wiederholungen keine großen Differenzen zu beobachten sind. Auch zwischen den Populationen sind bei Mittelwerten von ca. 15% und Streubreiten der Messwerte von ca. 10 bis knapp 20% keine großen Unterschiede zu erkennen. Ein mit 16,25% geringfügig höherer Mittelwert liegt bei Population TP im ersten Versuchsjahr vor.

Für die Standards wurden in 2000 bei jeweils 5 Wiederholungen für Panda durchschnittlich 14,88% und Thomana 14,73% Stärke ermittelt, während die Werte im zweiten Jahr (6 Wiederholungen) mit 17,03% bzw. 16,26% höher lagen.

Tab. 3.8: Stärkegehalte (%) der Populationen PT und TP

Stärkegehalt 2000				
Population	N	MW*	Spannbreite	s_x
PT	91	15,67	11,5 – 19,2	1,68
TP	79	16,25a	12,6 – 19,8	1,67
Stärkegehalt 2001				
PT (1)	90	15,33	9,9 – 19,9	2,26
TP (1)	76	15,36	10,5 – 18,6	1,85
PT (2)	90	15,07b	11,3 – 18,7	1,74
TP (2)	77	15,49	10,3 – 20,1	2,17
PT (3)	88	15,06b	10,4 – 18,8	1,85
TP (3)	77	15,45	11,0 – 18,9	1,89

Werte die durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet sind unterscheiden sich signifikant ***p<0,05**

Eine einfaktorielle Varianzanalyse zeigte Mittelwertunterschiede an. Der Scheffe Test deckte signifikante Unterschiede zwischen dem ersten Versuchsjahr der Population TP und der zweiten und dritten Wiederholung der reziproken Population PT im Jahr 2001 auf (Tab. 3.8). Die restlichen drei Wiederholungen TP(1), TP(2) und TP(3) unterscheiden sich nicht von denen der Population PT. Zwischen den Wiederholungen einer Population, unabhängig vom Anbaujahr, konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Korrelationen zwischen den Messwerten der Populationen wurden berechnet, um sich einen Überblick über mögliche Schwankungsursachen der Stärkeerträge zu machen. Bei Population PT sind alle Wiederholungen unabhängig vom Versuchs-

jahr positiv miteinander korreliert (Tab. 3.9). Die 3 Wiederholungen des Jahres 2001 [PT(1)-PT(3)] sind untereinander jedoch deutlich höher korreliert als mit den Werten aus dem Vorjahr (PT). Die Differenzen innerhalb eines Jahres sind hier also geringer als zwischen den Jahren.

Tab. 3.9: Korrelationen und Bestimmtheitsmaße (*kursiv*) zwischen den Messwerten (Jahre/Wiederholungen) der Population PT

	PT	PT (1)	PT (2)	PT (3)
PT	1			
PT (1)	0,208* <i>0,043</i>	1		
PT (2)	0,352** <i>0,124</i>	0,478** <i>0,228</i>	1	
PT (3)	0,299** <i>0,089</i>	0,552** <i>0,304</i>	0,416** <i>0,173</i>	1

**P = 0,01; *P = 0,05

Die Messwerte der Population TP sind vor allem zwischen den Wiederholungen in 2001 relativ stark korreliert, was an Bestimmtheitsmaßen von 0,31 bis 0,56 deutlich wird (Tab. 3.10). Das Versuchsjahr 2000 (TP) weist hingegen nur eine Korrelation mit der zweiten Wiederholung [TP(2)] auf.

Tab. 3.10: Korrelationen und Bestimmtheitsmaße (*kursiv*) zwischen den Messwerten (Jahre/Wiederholungen) der Population TP

	TP	TP (1)	TP (2)	TP (3)
TP	1			
TP (1)	0,209	1		
TP (2)	0,389** <i>0,151</i>	0,555** <i>0,308</i>	1	
TP (3)	0,169	0,640** <i>0,409</i>	0,603** <i>0,363</i>	1

**P = 0,01; *P = 0,05

Zwischen den beiden Populationen kann man keinen systematischen Unterschied zwischen den Stärkegehalten beobachten. Der Unterschied der Wiederholung TP zu PT(2) und PT(3) scheint vielmehr auf zufälligen Jahreseinflüssen zu beruhen,

da auch zu den eigenen Wiederholungen (Tab. 3.10) des Folgejahres TP(1) und TP(3) keine signifikanten Korrelationen bestehen. Auf Schwankungen zwischen den Anbaujahren deuten auch die Werte der Standards hin.

Insgesamt betrachtet, konnten bei allen untersuchten reziproken Kombinationen keine Unterschiede bezüglich des Stärkegehaltes beobachtet werden. Es liegen somit keine Hinweise für einen Einfluss des Plasmas auf den Stärkegehalt bei tetraploiden Kreuzungsnachkommen vor.

3.1.4.2 Einzelstaudenertrag

Ertragserhebungen erfolgten im Jahr 2001 in dreifacher Wiederholung. Die Mittelwerte der Population PT schwanken zwischen 0,68 und 0,80 kg (Tab. 3.11), während die von TP mit 0,74 und 0,76 fast identisch sind.

Tab. 3.11: Einzelstaudenertrag (kg)

Population	Einzelstaudenertrag 2001			
	N	MW*	Spannbreite	s _x
PT (1)	90	0,72	0,16 – 1,35	0,23
TP (1)	78	0,74	0,21 – 1,49	0,26
PT (2)	90	0,80a	0,32 – 1,31	0,20
TP (2)	78	0,74	0,20 – 1,33	0,25
PT (3)	90	0,68b	0,19 – 1,68	0,23
TP (3)	76	0,76	0,26 – 1,55	0,24

Werte die durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet sind unterscheiden sich signifikant ***p = 0,05**

Eine starke Streuung der Werte liegt vor. So wurden Staudenerträge von 0,16 kg bis ca. 1,7 kg berechnet. Die durchschnittlichen Erträge der Standards liegen zum Vergleich, mit 0,79 kg (s_x = 0,12) bei Panda und 0,98 (s_x = 0,10) bei Thomana im oberen Bereich der Mittelwerte bzw. deutlich darüber.

Eine einfaktorielle Varianzanalyse zeigte Mittelwertunterschiede an. Mittels des Scheffe-Tests wurden signifikante Unterschiede zwischen PT(2) und PT(3) festgestellt, die auf Umwelteinflüsse zurückgehen müssen. Zwischen den reziproken Populationen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

3.1.4.3 Pflanzenentwicklung

Die Pflanzenentwicklung wurde in Höhe (cm) bei Blühbeginn gemessen. In 2001 wurden Daten wie im Vorjahr nur in einfacher Wiederholung erfasst. Die Pflanzenhöhen schwankten im Jahr 2000 bei Population PT zwischen 32 und 80 cm (Tab 3.12) und unterschieden sich nicht wesentlich von den Messwerten von TP. Im folgenden Jahr lagen wiederum nur geringe Unterschiede in den Spannbreiten der Messwerte vor. Die maximale Höhe lag aber jeweils um 10 cm unter den in 2000 gemessenen Werten.

Tab. 3.12: Pflanzenhöhe (cm) bei Blühbeginn

Pflanzenhöhe 2000				
Population	N	MW*	Spannbreite	s_x
PT	91	55,04 b	32 – 80	8,06
TP	79	55,00 b	34 – 82	9,9
Pflanzenhöhe 2001				
PT	89	50,70 a	30 – 70	8,82
TP	79	54,39 b	38 – 70	7,74

Werte die durch unterschiedliche Buchstaben gekennzeichnet sind unterscheiden sich signifikant * $p < 0,05$

Eine einfaktorielle Varianzanalyse wies jedoch auf Gruppenunterschiede hin. Der multiple Mittelwertvergleich (Scheffe-Test) zeigte, dass die durchschnittliche Pflanzenhöhe der Population PT mit 50,7 cm in 2001 signifikant geringer ist. Alle anderen Mittelwerte beider Populationen unterscheiden sich nicht über beide Versuchsjahre hinweg. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass keine Unterschiede zwischen den Reziproken vorliegen. Der signifikant, aber geringfügig geringere Mittelwert von PT in 2001 lässt sich höchstwahrscheinlich auf Umwelteffekte zurückführen. Dies wird auch durch die berechneten Maßkorrelationskoeffizienten nach Pearson gestützt. Zwischen den Messwerten der Population TP aus zwei Versuchsjahren besteht eine signifikante ($p = 0,01$) Korrelation von $r = 0,479$, was bei einem Bestimmtheitsmaß von $B = 0,229$, ca. 23% Prozent bedeutet. Etwas schwächer ($p = 0,001$) ist auch die Korrelation zwischen den Messwertpaaren von PT. Bei einem Koeffizienten von $r = 0,436$ ($B = 0,190$) liegt eine Korrelation von 19% vor.

3.1.4.4 Knollenschönheit

Die Knollenschönheit wurde im ersten Versuchsjahr bonitiert und die Einzelnoten für jede Population gemittelt. Die vergebenen Noten deckten jeweils fast die gesamte Spannweite von formschön (8) bis sehr schlechte Form (1) ab (Tab. 3.13). Die Mittelwerte sind mit jeweils 3,6 Punkten relativ gering ausgefallen und liegen deutlich unter der Note 5 (leichte Mängel). Dies konnte man bei einer unselektierten F_1 -Population erwarten. Die Standards erhielten im Vergleich mit 7 und 8 für Panda bzw. Thomana hohe Noten. In Abb. 6 ist ein Beispiel unterschiedlich eingestufter F_1 -Knollen im Vergleich zu den Elternknollen gegeben.

Tab. 3.13: Knollenschönheit

Population	Knollenschönheit			
	N	MW	Spannbreite	s_x
PT	91	3,66	1 - 8	1,89
TP	78	3,63	1 - 8	1,7

Die Daten lagen nicht normalverteilt vor. Mit dem daraufhin durchgeführten U-Test nach MANN und WHITNEY konnten keine Unterschiede zwischen den Populationen aufgedeckt werden.

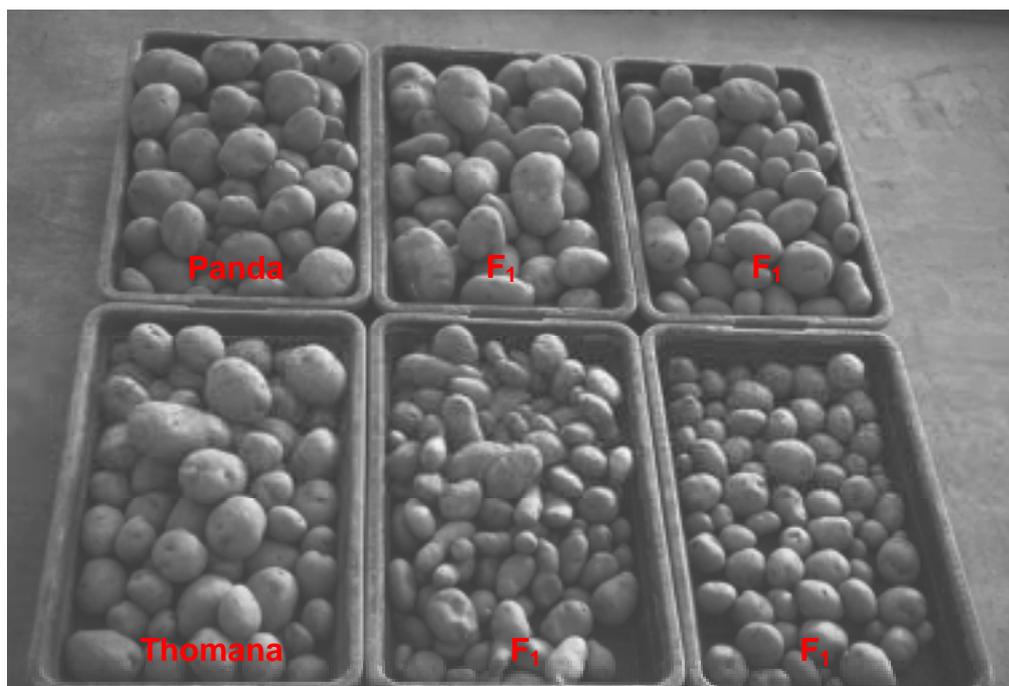


Abb. 6: F_1 -Knollen im Vergleich zu den Knollen der Eltern

3.1.4.5 Knollengröße

Als Knollengröße wurde die in den Erntepartien vorherrschende Knollenfraktion im ersten Versuchsjahr bonitiert. Die Mittel, sowie die Variationsbreiten der Bonituren beider Populationen unterscheiden sich praktisch nicht (Tab. 3.14). Die Standards lagen mit 6 (Panda) und 7 Punkten (Thomana) über dem Durchschnitt der Population.

Tab. 3.14: Knollengröße

	Knollengröße			
Population	N	MW	Spannbreite	s_x
PT	91	5,09	2 – 8	1,21
TP	78	5,05	2 – 8	1,37

Auch hier musste aufgrund der Datenlage der U-Test nach MANN und WHITNEY durchgeführt werden. Es konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Zusammenfassend konnten aus den oben dargestellten Ergebnissen der Feldversuche keine signifikanten Unterschiede zwischen den reziproken Populationen bezüglich der untersuchten Merkmale festgestellt werden. Ein besonderes Augenmerk wurde hier vor allem aufgrund des Postulats von LÖSSL et al. (1994) auf den Stärkegehalt und den Einzelstaudenertrag gelegt. Auch wenn hier wenige Mittelwertunterschiede festzustellen waren, so sind diese aufgrund der Datenlage, Jahres- bzw. Umwelteinflüssen zuzuordnen. Eventuelle Cytoplasma-Wirkungen sind nicht festzustellen.

3.1.5 Charakterisierung der Populationen mittels molekularen Markern

Die zentralen Populationen PT und TP aus der reziproken Kreuzung der Sorten Panda x Thomana wurden mit Hilfe von molekularen Markern charakterisiert. Zur Beschreibung von Heterozygotie bzw. Homozygotie auf der molekularen Ebene wurden verschiedene Parameter berechnet (vgl. Kap. 2.8). Ferner wurden die Frequenzen der Markerallele ermittelt.

3.1.5.1 Markerdaten

Insgesamt konnten jeweils 425 Polymorphismen mit 10 AFLP-Primerpaaren und 61 Polymorphismen mit 25 SSR-Primerpaaren bei beiden Populationen aufgedeckt werden. Die Populationen umfassten, wie schon zuvor beschrieben, 79 (TP) und 91 (PT) Genotypen.

3.1.5.2 Relativer Heterozygotie Index

Der Relative Heterozygotie Index (RHI) wurde getrennt für die AFLP- und SSR-Markerdaten berechnet. Der RHI schätzt das Gesamtniveau der Heterozygotie eines Individuums.

Spannbreiten und Mittelwerte der beiden reziproken Populationen unterscheiden sich nicht wesentlich, sowohl bei Indizes, die auf SSR- (Tab. 3.15), als auch auf AFLP-Markerdaten (Tab. 3.16) basieren.

Tab. 3.15: Relativer Heterozygotie Index (RHI) basierend auf SSR-Markerdaten

Population	N	MW	Spannbreite	s_x
TP	79	0,713	0,617 – 0,800	0,036
PT	91	0,727	0,617 – 0,803	0,039

Mittels T-Test konnten sowohl bei den RHI_{SSR} , als auch bei den RHI_{AFLP} keine signifikanten Unterschiede für die Populationsmittel nachgewiesen werden.

Tab. 3.16: Relativer Heterozygotie Index (RHI) basierend auf AFLP-Markerdaten

Population	N	MW	Spannbreite	s_x
TP	79	0,718	0,631 – 0,803	0,039
PT	91	0,716	0,641 – 0,793	0,035

Die Größenordnungen der Indizes unterscheiden sich nicht zwischen den beiden Markersystemen. So liegen Mittelwerte zwischen 0,71 und ca. 0,73 vor.

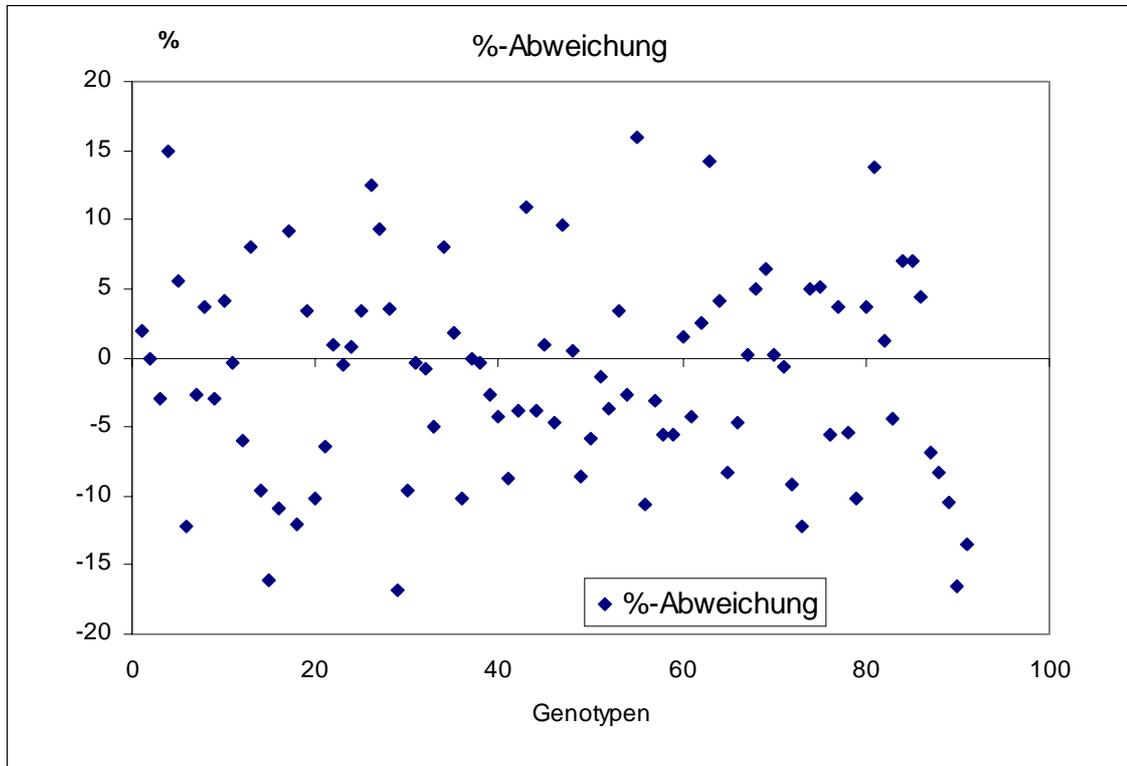


Abb. 7: Prozentuale Abweichung der RHI_{AFLP} von den RHI_{SSR} am Beispiel der Population PT

Korrelationen zwischen den RHI's wurden berechnet. Es konnte keine Korrelation zwischen den RHI_{AFLP} und den RHI_{SSR} festgestellt werden. Bei Population TP wurde ein Masskorrelationskoeffizient von $r = -0,024$ berechnet, während dieser bei PT $r = -0,037$ betrug. Die einzelnen Genotypen werden also durch die beiden verschiedenen RHI's bezüglich ihrer Heterozygotie unterschiedlich bewertet. Beispielhaft ist für Population PT die prozentuale Abweichung der RHI_{AFLP} von den RHI_{SSR} für die einzelnen Genotypen dargestellt (Abb. 7). Diese Abweichungen bewegen sich in einer Größenordnung von $\pm 16\%$, überschreiten aber in den meisten Fällen jedoch nicht mehr als $\pm 10\%$.

3.1.5.3 Homozygotie (Inzuchtgrad)

Dieser ursprünglich für RFLPs entwickelte Parameter, konnte nur für die co-dominanten Mikrosatelliten berechnet werden. Er beschreibt den Prozentsatz von beobachteten SSR-Loci eines Genotypen, die nur 1 Fragment (Allel) zeigen.

Im vorliegenden Fall konnte, je nach Genotyp, nur bei 9 bis 16 der 26 untersuchten Loci ein Fragment amplifiziert werden. Die sich daraus ergebenden Homozygotie-Indizes sind in Tab. 3.17 aufgeführt. Mit durchschnittlich 46% weisen die Genotypen eine große Zahl an Loci mit nur einem Allel auf, was für einen hohen Inzuchtgrad der Populationen spricht. Die Homozygotie-Indizes der Population TP zeigten keine Normalverteilung. Der daraufhin durchgeführte U-Test wies auf keine Lageunterschiede zwischen den Gruppen hin.

Tab. 3.17: Inzuchtgrad (Homozygotie)

Population	N	MW	Spannbreite	s _x
TP	79	46,4	34,6 – 61,5	5,6
PT	91	46,1	34,6 - 61,5	6,6

3.1.5.4 Heterozygotie an nicht homozygoten Loci

Die Genotypen der untersuchten Populationen zeigten durchschnittlich 2,29 (TP) bzw. 2,48 (PT) Allele, an Loci die mehr als 1 Fragment aufweisen (Tab. 3.18). Die Spannbreiten bewegen sich in derselben Größenordnung. Mittels T-Test konnte jedoch ein signifikanter Unterschied zwischen den Populationsmittelwerten nachgewiesen werden.

Tab. 3.18 Heterozygotie an nicht homozygoten Loci

Population	n	MW**	Spannbreite	s _x
TP	79	2,29	2,00 – 2,73	0,149
PT	91	2,48	2,14 – 2,92	0,151

**P = 0,01

3.1.5.5 Beziehung zwischen Heterozygotie und Merkmalsvariabilität

Regressionsanalysen wurden durchgeführt, um der Frage nachzugehen, ob Beziehungen zwischen Heterozygotie (Homozygotie)-Indizes und Merkmalsausprägungen vorliegen. Berechnungen erfolgten für alle Parameter, sowie Stärke-

gehalt, Einzelstaudenertrag und Pflanzenhöhe der zentralen Populationen. Sie wurden sowohl für einzelne Wiederholungen, als auch für Mittelwerte durchgeführt. Signifikante Beziehungen sind in Tab 3.19 aufgeführt.

Korrelationen liegen ausschließlich bei Population PT vor. Hier konnten Signifikanzen zwischen RHI_{SSR} und dem Stärkegehalt (%) bei der dritten Wiederholung im Jahr 2001 und dem Mittelwert 2000 (MW) festgestellt werden. Diese liegen jedoch bei den anderen Wiederholungen, wie auch dem gewogenen Mittelwert beider Versuchsjahre (GM) dieses Ertragsparameters nicht vor. Zwischen RHI_{AFLP} und Stärkegehalt (3. Wiederholung 2001) gibt es eine negative Korrelation. Ferner liegt eine Korrelation von $r = 0,306$ zwischen RHI_{SSR} und der Pflanzenhöhe in 2000 vor.

Tab. 3.19: Beziehung zwischen Merkmalsausprägungen und Heterozygotie-Indizes

Population	Merkmal	Einflussvariable	R-Quadrat	Vorzeichen Korrelation	p-Wert
PT	Stärke (3)	RHI_{SSR}	0,061	+	0,020
PT	Stärke (MW)	RHI_{SSR}	0,043	+	0,048
PT	Höhe 2000	RHI_{SSR}	0,093	+	0,003
PT	Stärke (3)	RHI_{AFLP}	0,044	-	0,049
PT	Stauden (3)	Homozyg.	0,060	+	0,020
PT	Stauden (MW)	Homozyg.	0,052	+	0,030
PT	Stärke (1)	Heterozyg.	0,060	+	0,020
PT	Stärke (3)	Heterozyg.	0,084	+	0,006
PT	Stärke (MW)	Heterozyg.	0,090	+	0,004
PT	Stärke (GM)	Heterozyg.	0,060	+	0,019
PT	Höhe 2000	Heterozyg.	0,060	+	0,020

Die Homozygotie-Indizes zeigen mit $r = 0,244$ bzw. $r = 0,277$ sehr geringe Korrelationen zum Staudenertrag (3. Wiederholung) und dessen Jahresmittelwert in 2001. Für den Parameter Heterozygotie an nicht homozygoten Loci konnten die meisten Korrelationen berechnet werden. Eine schwache Korrelation besteht zur Pflanzenhöhe 2000. Mit dem Stärkegehalt ist er z.T. hochsignifikant korreliert. Diese Signifikanzen konnten bei zwei Wiederholungen 2001, sowie beim Jahresmittelwert und beim gewogenen Mittel beider Versuchsjahre ermittelt werden. Zum Stärkgehalt 2000 und zur 2. Wiederholung 2001 gibt es hingegen keine Korrelation.

3.1.5.6 Rangkorrelationskoeffizienten

Der Spearmansche Rangkorrelationskoeffizient wurde berechnet, um Beziehungen zwischen den Bonituren (Knollenschönheit, Knollengröße) und den verschiedenen Heterozygotie-Parametern aufzudecken. Die ermittelten Koeffizienten sind in Tab. 3.20 aufgeführt.

Ausschließlich zwischen den RHI_{AFLP} und der Knollengröße (vorherrschende Knollenfraktion) konnte hier eine signifikante negative Korrelation mit $R = -0,311$ bei Population TP festgestellt werden.

Tab. 3.20: Korrelationen zwischen Heterozygotie-Parametern und Knollenbonituren

Parameter (Population)	Schönheit	Größe
RHI_{SSR} (TP)	0,03	-0,063
RHI_{SSR} (PT)	0,097	-0,05
RHI_{AFLP} (TP)	-0,168	-0,311**
RHI_{AFLP} (PT)	0,093	0,125
Homozygotie (TP)	-0,201	-0,055
Homozygotie (PT)	-0,036	0,053
Heterozygotie (TP)	-0,146	-0,108
Heterozygotie (PT)	0,083	0,111

**P = 0,01; *P = 0,05 (2-seitig)

3.1.5.7 Allelfrequenzen der SSR-und AFLP-Marker bei Autotetraploiden.

Die Häufigkeiten der Allele im Kerngenom wurden erfasst und verglichen, um zu überprüfen, ob zwischen den reziproken Populationen tatsächlich ausschließlich Unterschiede bezüglich des Cytoplasma-Hintergrundes bestehen. Nur wenn dies der Fall ist, können letztendlich sichere Aussagen über den Einfluss des Cytoplasmas auf die Merkmalsvariabilität, auch bei meiotisch rekombiniertem Kernhintergrund, gemacht werden.

Ferner bietet sich hier zusätzlich die Möglichkeit, Erkenntnisse über das Potential von AFLP- und Mikrosatelliten-Markern für die Kartierung der autotetraploiden Kartoffel zu erhalten.

Mit 10 AFLP- Primerpaaren konnten bei den zentralen Populationen insgesamt 425 Polymorphismen aufgedeckt werden. Diese, sowie der Anteil, der die erwarteten Spaltungsverhältnisse aufweist, ist für beide Populationen getrennt in

Tab. 3.21 und 3.22 aufgeführt. Für beide Populationen wurde die gleiche Anzahl an Polymorphismen detektiert. 146 AFLP-Fragmente stammen von der Sorte Panda, 118 von Thomana und 161 konnten bei beiden Eltern (Gemeinsam) beobachtet werden, spalten jedoch bei den Nachkommen.

Bei Population TP (Tab. 3.21) zeigen 121 AFLP-Marker ein 1:1 Spaltungsverhältnis (Simplex). 68 stammten von Panda und 53 von Thomana. Ein 5:1 Verhältnis (Duplex) zeigten 40 Marker (17 von Panda; 23 von Thomana). Von den 264 Polymorphismen die nur einem Elter zuzuordnen sind, zeigten insgesamt 161 (60,98%) eine signifikante Spaltung. Eine 3:1 Spaltung (Doppelsimplex) zeigten nur 55 (34,16%) von 161 überprüften Polymorphismen.

Tab. 3.21: AFLP-Marker: Herkunft, sowie Anteil von Simplex, Duplex und Doppelsimplex-Markern an den polymorphen Fragmenten der Population TP

Elter	Polymorph	Simplex	%	Duplex	%
Panda	146	68	46,58	17	11,64
Thomana	118	53	44,91	23	19,49
Summe	264	121	45,83	40	15,15
	Polymorph	Doppelsimplex	%		
Gemeinsam	161	55	34,16		

Der Anteil von Simplex- und Duplex-Markern ist bei Population PT (Tab. 3.22) mit 146 (55,3%) bzw. 45 (17,5%) etwas größer als bei TP. Insgesamt weisen 191 (72,35%) der 264 Polymorphismen eine signifikante Spaltung auf. Auch der Anteil von Doppelsimplex-Markern ist hier mit 59 (36,65%) größer.

Tab. 3.22: AFLP-Marker: Herkunft, sowie Anteil von Simplex, Duplex und Doppelsimplex-Markern an den polymorphen Fragmenten der Population PT

Elter	Polymorph	Simplex	%	Duplex	%
Panda	146	89	60,96	22	15,06
Thomana	118	57	48,31	23	19,49
Summe	264	146	55,30	45	17,05
	Polymorph	Doppelsimplex	%		
Gemeinsam	161	59	36,65		

Zwischen den beiden reziproken Populationen konnten Unterschiede im Anteil signifikant spaltender Marker beobachtet werden. Von den insgesamt 425 AFLP-

Polymorphismen zeigten 216 (50,82%) bei TP und 250 (58,82%) bei PT die erwarteten Spaltungsverhältnisse. Häufig wurde der χ^2 -Tabellenwert bei einer der Populationen nur knapp überschritten, wodurch ein Marker nur einseitig als signifikant spaltend gewertet wurde. Dies deutet darauf hin, dass die vorliegenden Unterschiede auf die insgesamt kleinen Populationsgrößen zurückzuführen sind.

19 Mikrosatelliten-Polymorphismen können Panda und 14 Thomana zugeordnet werden, während 28 nur in der Population spalten. In Tab. 3.23 und Tab. 3.24 sind die Daten für beide Populationen zusammengefasst.

Tab. 3.23: SSR-Marker: Herkunft, sowie Anteil von Simplex, Duplex und Doppelsimplex-Markern an den polymorphen Fragmenten der Population TP

Elter	Polymorph	Simplex	%	Duplex	%
Panda	19	10	52,63	4	21,05
Thomana	14	7	50,00	3	21,43
Summe	33	17	51,51	7	21,21
	Polymorph	Doppelsimplex	%		
Gemeinsam	28	5	17,86		

Bezüglich der Anzahl signifikanter Simplex und Duplex-Marker liegen nur geringfügige Unterschiede zwischen den Reziproken vor. Auffällig ist hier vor allem der höhere Anteil an Doppelsimplex-Markern bei PT mit 9 (32,14%) gegenüber TP mit 5 (17,86%). Die Unterschiede sind jedoch nicht so groß, dass sie auf prinzipiell unterschiedliche Spaltungsverhältnisse zwischen den Populationen hinweisen.

Tab. 3.24: SSR-Marker: Herkunft, sowie Anteil von Simplex, Duplex und Doppelsimplex-Markern an den polymorphen Fragmenten der Population PT

Elter	Polymorph	Simplex	%	Duplex	%
Panda	19	10	52,63	5	26,32
Thomana	14	9	64,29	2	14,29
Summe	33	19	57,58	7	21,21
	Polymorph	Doppelsimplex	%		
Gemeinsam	28	9	32,14		

3.1.6 Einzelmarkerregression

Exemplarisch wurden für die Mikrosatellitenfragmente Einzelmarkerregressionen durchgeführt, um mögliche Beziehungen zwischen der An- bzw. Abwesenheit eines Fragmentes und dem Stärkegehalt (%) zu ermitteln. Als phänotypische Daten wurden der Mittlere Stärkegehalt (MW) des Jahres 2000, sowie das gewogene arithmetische Mittel aus beiden Versuchsjahren verrechnet (Tab. 3.25)

Tab. 3.25: Einzelmarkerregression für das Merkmal Stärkegehalt (%)

Population TP					
Marker (bp)	Merkmal	R- Quadrat	Vorzeichen Korrelation	p-Wert	Information (LG)
MSK01 (245)	Stärke (MW)	0,048	-	0,050	Stärkesynth.
MSK01 (247)	Stärke (MW)	0,114	+	0,002	Stärkesynth.
STM3016 (107)	Stärke (MW)	0,053	+	0,041	IV
Lemalx (131)	Stärke (MW)	0,114	+	0,001	V
STM2012 (249)	Stärke (MW)	0,068	+	0,020	X
STM2012 (254)	Stärke (MW)	0,067	+	0,021	X
MSK01 (245)	Stärke (GM)	0,076	-	0,014	Stärkesynth.
MSK01 (247)	Stärke (GM)	0,131	+	0,001	Stärkesynth.
Lemalx (131)	Stärke (GM)	0,184	+	0,000	V
STM3016 (107)	Stärke (GM)	0,048	+	0,050	IV
Population PT					
MSK01 (253)	Stärke (MW)	0,047	+	0,039	Stärkesynth.
STM3016 (107)	Stärke (MW)	0,043	+	0,049	IV
STM0003 (146)	Stärke (MW)	0,043	-	0,048	XII
MSK01 (253)	Stärke (GM)	0,131	+	0,000	Stärkesynth.

Für beide Populationen konnten Marker ermittelt werden, die mit dem Merkmal korreliert sind. Bei Population PT korrelieren bis auf STM2012 (249) und (254) alle gefundenen Marker sowohl mit den arithmetischen Stärkemittel aus 2000 (MW) als auch mit dem gewogenen Mittel (GM) aus beiden Versuchsjahren signifikant. Interessant ist, dass bei beiden Populationen verschiedene Fragmente, die von dem Primerpaar MSK01 amplifiziert wurden, vorliegen. MSK01 ist mit dem Stärkesynthese gen assoziiert (KAWCHUK et al. 1996). Während das Fragment MSK01 (245 bp) negativ mit dem Stärkegehalt korreliert ist, zeigen MSK01 (247) und MSK01 (253) recht hohe positive R²-Werte. Nach diesen Bestimmtheitsmaßen wären 11,4 bzw. 13,1 % der Variation bezüglich des Merkmals durch die Marker zu erklären.

Um die Ergebnisse der Regressionsanalyse zu überprüfen, wurden für jeden der Marker Untergruppen gebildet, bestehend aus Genotypen die das Fragment aufweisen und solchen bei denen es nicht vorliegt. Die Mittelwerte bezüglich der zugehörigen phänotypischen Daten wurden ermittelt und mittels unverbundenem T-Test auf signifikanten Unterschied getestet. Die Ergebnisse der Regressionsanalyse wurden bestätigt. Signifikante Mittelwertunterschiede wurden nachgewiesen. Die Gruppe der Genotypen mit Fragment zeigten immer im Mittel einen um ca. 1% höheren Stärkegehalt. Bei Marker MSK01 (245) weist die Gruppe der Genotypen ohne Fragment einen höheren Stärkegehalt analog zur negativen Korrelation (vgl. Tab. 3.25) auf.

3.2 Verwandtschaftsanalyse

3.2.1 Molekulare Markerdaten

Insgesamt wurden 69 tetraploide Genotypen (37 Sorten und 32 A-Stämme) mit 6 AFLP-Primerkombinationen untersucht. Die Analyse mittels SSR-Markern und der Vergleich zwischen den beiden Markersystemen erfolgte, um den Aufwand in einem vertretbaren Rahmen zu halten, nur bei 47 Genotypen (37 Sorten, 10 Zuchtstämmen). Bei den 10 Zuchtstämmen handelt es sich um zufällig ausgewählte Repräsentanten unterschiedlicher Kreuzungsnachkommenschaften.

Die 6 AFLP-Primerkombinationen amplifizierten 529 Fragmente, von denen 359 (67,86%) polymorph waren. Je Primerkombination lagen durchschnittlich 88,17 Fragmente vor. Der Polymorphiegrad (polymorphe Banden/Gesamtfragmentenzahl) für die einzelnen Primerkombinationen lag zwischen 54,88% für die Primerkombination *EcoRI*-AAT/*MseI*-CCA und 81,01% für *EcoRI*-AGA/*MseI*-CGA (Tab. 3.26). Im Durchschnitt konnten 59,83 polymorphe Fragmente je Primerkombination ermittelt werden (Tab. 3.26).

Tab. 3.26: Polymorphieniveau der einzelnen AFLP-Primerkombinationen

Primerkombination	Σ amplifizierte Fragmente	Σ polymorphe Fragmente	Σ monomorphe Fragmente	% polymorphe Fragmente
E-AAT + M-CCA	82	45	37	54,88
E-AAT + M-CCC	98	63	35	64,29
E-AGA + M-CGA	79	64	15	81,01
E-ACA + M-CAC	80	48	32	60,00
E-ACA + M-CCC	99	73	26	73,74
E-ACT + M-CCT	91	66	25	75,53
Gesamt	529	359	170	67,86

[E = *EcoRI*, M = *MseI*]

Von den 26 Mikrosatellitenprimern erzeugte STM1003 keine Fragmente. Die verbliebenen 25 SSR-Primerpaare amplifizierten insgesamt 128 Fragmente, von denen 126 (98,43%) polymorph vorlagen. Je Kombination konnten durchschnittlich 5,04 polymorphe Produkte ermittelt werden (Tab. 3.27). Die Anzahl der je Primerpaar detektierten Allele lag zwischen 1 und 12. Die Produkte der Primerpaare STM1053 und STM0051 lagen monomorph vor, während STM1021 insgesamt 12 Allele aufzeigte.

Tab. 3.27: Übersicht über die Anzahl verwendeter Primerkombinationen/-paare, deren Amplifikationsprodukte und Anzahl polymorpher Fragmente

	Primer- kombinationen / Primerpaare	Σ amplifizierte Fragmente	Σ polymorphe Fragmente	\emptyset polymorphe Fragmente	% polymorphe Fragmente
AFLP	6	529	359	59,83	67,86
SSR	25	128	126	5,04	98,43

3.2.1.1 Auswertung der SSR-Muster

Die 25 Mikrosatelliten-Primer repräsentieren 26 Loci, da Primer MSK03 (Proteinase Inhibitor I) DNA-Fragmente amplifiziert, die zwei verschiedenen Loci zugeordnet sind (KAWCHUK et al. 1996). Insgesamt konnten die SSR-Primer über die 47 analysierten Genotypen 263 verschiedene Allel-Muster generieren, d.h. durchschnittlich 10,1 verschiedene Muster je Locus.

Zwischen null und vier verschiedene Amplifikationsprodukte konnten an den verschiedenen Loci jedes individuellen Genotyps beobachtet werden. Dies war zu erwarten, da bei der autotetraploiden Kartoffel theoretisch bis zu 4 verschiedene Allele je Locus und Genotyp vorliegen können.

In Abbildung 8 ist ein Beispiel für einen Mikrosatelliten-Locus gegeben, der von Primer STM0003 amplifiziert wird. Anhand dieses Elektropherogramms kann die Komplexität der Auswertung und Beurteilung eines solchen Locus bei Autotetraploiden aufgezeigt werden. Die vier hier gezeigten Genotypen weisen an dem Locus vier verschiedene Allele sowie Muster auf. Die Muster setzten sich jeweils aus zwei oder drei verschiedenen Allelen zusammen. Liegen weniger als 4 Allele je Locus vor, so kann man nicht beurteilen, ob ein Allel in simplex, duplex, triplex bzw. wenn nur ein Fragment amplifiziert wird, in quadruplex Konfiguration vorliegt. Die Anzahl der Muster je Locus über alle Genotypen variierte zwischen einem bei den Primerkombinationen STM1053 und STM0051, die wie oben bereits erwähnt jeweils ein monomorphes Allel amplifizierten, und 29 Mustern bei STM0037. Obwohl STM0037 mit 7 aufgedeckten Allelen, verglichen mit den anderen Primern, im mittleren Bereich lag (MW 10,1) wurde hier die größte Variation an individuellen Mustern gefunden.

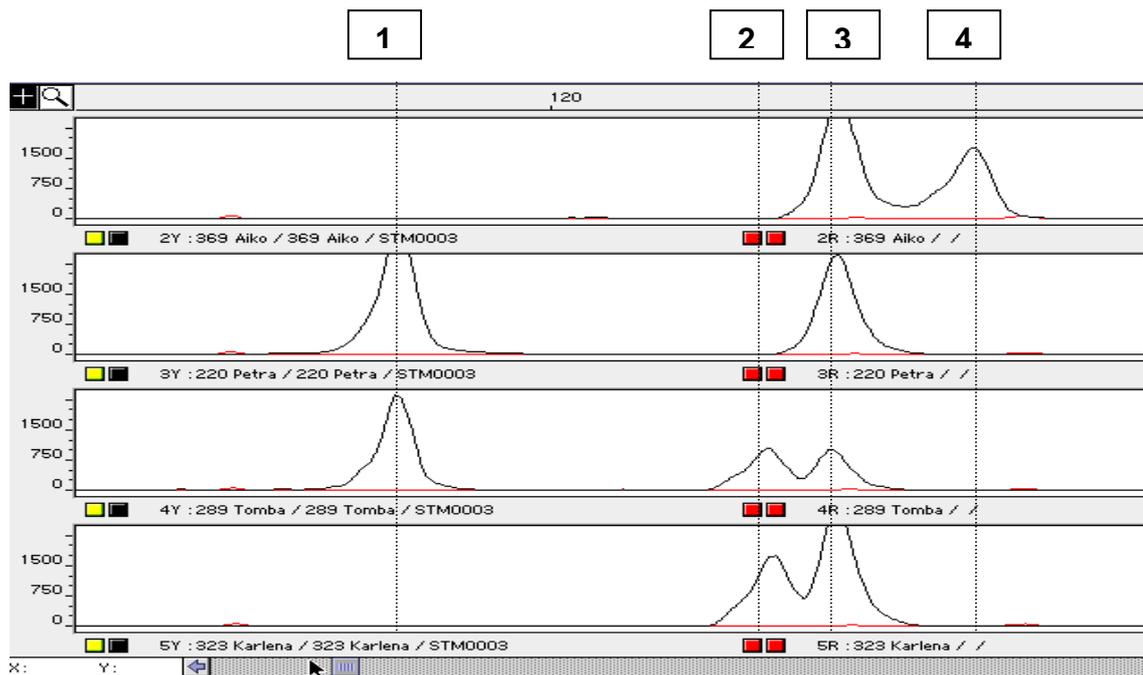


Abb. 8: Elektropherogramm eines Mikrosatellitenlocus

STM1021 dagegen zeigt die größte Allelvielfalt (12) auf, diese bilden aber nur 20 Muster. Eine höhere Allelzahl muß hier also im Einzelfall nicht unbedingt immer eine höhere Mustervielfalt bedingen, jedoch zeigt ein Pearson'scher Korrelationskoeffizient von $r = 0,83$ ($B = 0,69$), dass prinzipiell eine deutlich positive Korrelation zwischen Anzahl der aufgedeckten Allele und der Anzahl der beobachteten Muster je Locus vorliegt.

3.2.2 Genetische Ähnlichkeiten basierend auf AFLP-Markerdaten

Die auf den AFLP-Daten basierenden, nach NEI und LI (1979) berechneten Ähnlichkeitskoeffizienten, variieren zwischen 0,55 und 0,90. Zuchtstamm ST1372 und die Sorte Mira weisen dabei die geringste, die Vollgeschwisterstämme ST829 und ST831 mit berechneten 90%, die größte Ähnlichkeit auf. Zwischen allen 69 Genotypen wurden insgesamt 2346 Ähnlichkeitskoeffizienten (Paarvergleiche) berechnet, deren Mittelwert 0,73 beträgt, bei einer Standardabweichung von $s_x = 0,07$. Betrachtet man die verschiedenen Genotypen nach Abstammungsgruppen unterteilt, so weisen die Nachkommen der Sorte Agria (vgl. Abb. 9), d.h. die Sorten (Verona, Camilla, Marlene, Markies) und die diversen Zuchtstämme, untereinander eine Ähnlichkeit zwischen 75-90% auf. Vollgeschwisterstämme (Tab. 3.28) weisen hier sogar im Durchschnitt einen Koeffizienten von über 0,8 auf. Zwischen den 4 Vollgeschwistergruppen gibt es bezüglich der Variationsbreite der Koeffizienten und den Mittelwerten keine großen Unterschiede. Sieht man sich ausschließlich die Ähnlichkeiten zwischen den Halbgeschwisterstämmen aus den Kreuzungen mit der Sorte Markies an, so unterscheiden sich diese mit einer Variationsbreite von 0,75-0,87 und einem Mittelwert von 0,81 auch nicht von denen der Vollgeschwistergruppen.

Die untersuchten Sorten (Rest), die einen Ausschnitt des deutschen Sortenspektrums darstellen, und in ihren Stammbäumen keinen "Agria-Hintergrund" aufweisen, unterscheiden sich deutlich. Zwar wurden zwischen einzelnen Genotypen Ähnlichkeitskoeffizienten von über 0,8 berechnet, welche an die Maximalwerte der Vollgeschwistergruppen heranreichen, jedoch zeigt ein minimaler Koeffizient von 0,56 und vor allem ein Mittelwert von 0,68, dass die Ähnlichkeiten zwischen den Sorten deutlich geringer sind.

Tab. 3.28: Ähnlichkeiten der Voll- und Halbgeschwister Zuchtstämme, sowie der Sorten basierend auf AFLP-Markerdaten

	Kreuzung	N	V	MW	S_x
Vollgeschwister	Markies x 853...	45	0,81 - 0,90	0,85	0,02
Vollgeschwister	Markies x 532...	10	0,79 - 0,88	0,83	0,03
Vollgeschwister	Markies x 518...	21	0,80 - 0,90	0,85	0,02
Vollgeschwister	Marlene x 133 A-...	28	0,74 - 0,85	0,81	0,03
Halbgeschwister		156	0,75 - 0,87	0,81	0,02
Rest		528	0,56 - 0,83	0,68	0,05

N= Anzahl der Ähnlichkeitskoeffizienten; V = Variationsbreite; MW = Mittelwert; S_x = Standardabw.

3.2.2.1 Clusteranalyse basierend auf AFLP-Markern

Das mit einer Clusteranalyse nach dem UPGMA-Verfahren erstellte AFLP-Dendrogramm spiegelt die recherchierten Verwandtschaftsverhältnisse der meisten analysierten Genotypen gut wieder (Abb. 9a bis 9c).

Abbildung 9 gibt einen Gesamtüberblick über das Dendrogramm. Die dort abgebildeten Nummern symbolisieren 6 Untergruppen, die in Abb. 9a bis 9c im Detail besprochen werden.

Im Dendrogramm ist sehr gut zu erkennen, wie die Zuchtstämme (ST) mit den Elternsorten Marlene bzw. Markies, sowie Sorten, die ebenfalls Agria in ihrem Stammbaum aufweisen (Verona, Camilla), zusammen um Agria in Untercluster 1 und 2 (Abb. 9a) gruppiert sind. Die Stämme bilden zudem mit ihren jeweiligen Eltern eine Gruppe. So sind die Stämme ST1675 - ST1690 deutlich mit ihren Eltern Marlene und die Stämme ST824 - ST833, ST1229 - ST1233, sowie ST1370 -ST1376 mit ihrer Mutter Markies zusammengefasst. In Cluster 1 ist ebenfalls Saturna, der zweite Elter von Marlene eingeordnet.

In Untercluster 3 (Abb. 9b) gruppieren die Sorten Aiko und Petra, Halbgeschwister, die auf den gemeinsamen Kreuzungselter Assia zurückzuführen sind, zusammen.

Auch bei Bettina, Sanira und Alwara ist die Einordnung im selben Cluster nachvollziehbar, da alle den Stamm MPI 61303/34 in ihrer Herkunft aufweisen. Kuras ist über den Stamm MPI 55.957.54 in seinem Stammbaum mit Aiko und Petra verwandt (vgl. Abb. 9b). Im vorliegenden Cluster liegen verhältnismäßig viele Genotypen mit W/γ -Cytoplasmatyp (vgl. Kap. 3.1.1) vor.

Die Sorten Mentor und Saturna (Cluster 3 und 1) sind dagegen nicht direkt zusammen gruppiert, obwohl sie laut Stammbaum mit Maritta den gleichen maternalen Elter aufweisen. Was auf den ersten Blick nicht logisch erscheint, lässt sich bei näherer Betrachtung erklären. Zusammen mit Mentor liegen Karlena und Gambria in der selben Gruppe. Karlena und Mentor weisen beide die Sorte Hindenburg als Vorfahre auf. Zwischen Karlena und Gambria besteht über Saskia eine Verbindung. Die ebenfalls in Cluster 3 liegende Gunda stammt aus einer Kreuzung mit Quarta. Hier besteht eine weitere Beziehung zu Cluster 1, da Agria aus der Kreuzung Semlo x Quarta stammt. Ferner kann eine Verbindung zwischen Cluster 1 und 3 über die Sorte Clivia hergestellt werden. Clivia ist ein Kreuzungselter sowohl von Quarta als auch von Hilta, wobei letztere Elter von Sanira ist.

Sanira weist zudem, wie oben bereits erwähnt, den Stamm MPI 61303/34 in seinem Stammbaum auf. Damit ist der Kreis geschlossen. Zwischen den Genotypen der ersten drei Cluster lassen sich also Beziehungen aufzeigen, die zumeist auf ältere Vorfahren wie die bereits erwähnten Sorten Clivia, Quarta, Hindenburg und Saskia zurückzuführen sind. Dies erklärt letztendlich die unterschiedliche Gruppierung von Mentor und Saturna.

Graphisch wird dies durch das generierte Dendrogramm (Abb. 9) unterstützt. Der UPGMA-Fusionsalgorithmus ist als die mittlere genetische Distanz der in den Clustern erhaltenen Genotypen untereinander und die mittlere Distanz zwischen den verschiedenen Clustern an den Verbindungslinien dargestellt. Deutlich ist zu erkennen, dass für die Genotypen in den ersten drei Clustern eine größere genetische Ähnlichkeit berechnet wurde. Cluster 4,5 und 6 heben sich deutlich an den Verbindungslinien ab. Ein Vergleich der Ähnlichkeitskoeffizienten zwischen den Genotypen der erwähnten Cluster bestätigt dies (Tab. 3.29).

Tab. 3.29.: Vergleich der Ähnlichkeitskoeffizienten verschiedener Untercluster

Vergleich der Ähnlichkeitskoeffizienten von Cluster 1 und 2		
	mit Cluster 3	mit Cluster 4- 6
N	456	722
Max	0,83	0,76
Min	0,69	0,55
sx	0,03	0,03
MW	0,76	0,65

Die Genotypen von Cluster 1 und 2, zeigen zu den Sorten in Cluster 3 eine genetische Ähnlichkeit zwischen 69 und 83% bei einem Mittel von 76%, während dagegen die Ähnlichkeiten mit einer Variationsbreite von 55-76% (MW: 65%) zu den Sorten von Cluster 4-6 deutlich um durchschnittlich 11% geringer sind.

Auch die Anordnung der Sorten in Cluster 4 bis 6 lässt sich nachvollziehen. In Cluster 4 erfolgte die Gruppierung von Sibü, Assia und Ute über den Zuchtstamm MPI 65.346/19 und Gamma. Interessanterweise sind die Halbgeschwister Aiko und Petra (Cluster 3), die beide aus einer Kreuzung mit Assia stammen, mit ihrem Elter nicht zusammen gruppiert. Der Vergleich der Ähnlichkeitskoeffizienten zeigt hier aber keine deutlichen Unterschiede auf. Für Assia und ihr Halbgeschwister

Ute wurde eine Ähnlichkeit von 77% berechnet, während diese zwischen Assia und ihren Nachkommen Petra bzw. Aiko 75% beträgt.

In Cluster 5 und 6 sind direkte Beziehungen zwischen Indira und Combi mit dem gemeinsamen Elter Edith, sowie zwischen Mira und Thomana über Capella (syn. Lenino) zu erkennen. Zwischen diesen beiden Clustern besteht eine Gemeinsamkeit über die Sorte Bodenkraft, die Thomana und Ponto zugrunde liegt. Gleichzeitig gibt es über den Bodenkraftelter Capella eine Verbindung zu Mira.

Nicht immer ist die Einordnung zu erklären. So sind die auf Certa zurückgehenden Halbgeschwister Pluto, Sibü und Ulme in verschiedenen Clustern platziert. Die berechneten Ähnlichkeiten die zwischen 0,69 und 0,73 liegen, geben hier keine weiteren Aufschlüsse. Ähnlich sieht dies bei Berber und Gambria aus. Obwohl Gambria aus einer Kreuzung von Ronea mit Berber hervorgegangen ist, liegen beide Sorten in unterschiedlichen Clustern.

Insgesamt kann aber die Einordnung der Genotypen meist klar anhand bekannter Stammbäume nachvollzogen werden. Es lassen sich zwei deutliche Gruppen unterscheiden. Cluster 1 und 2 umfaßt die Sorte Agria und deren Nachkommen und Cluster 3 steht zu den erstgenannten über gemeinsame Vorfahren in enger Beziehung. Hingegen repräsentieren Cluster 4-6 einen Ausschnitt aus dem deutschen Sortenspektrum mit geringer Ähnlichkeit zur 'Agriagruppe'.

Während bei einigen Genotypen nur geringe Information bezüglich der Herkunft vorlag, konnte diese bei etlichen bis in das 19. Jahrhundert zurückverfolgt werden (vgl. Anhang). Es lässt sich dadurch zeigen, dass einige Genotypen immer wieder als Kreuzungspartner bevorzugt Verwendung fanden. Solche Genotypen sind z.B. Certa, Hindenburg, Tiger und Saskia, die über verschiedene Gruppen hinweg in Stammbäumen vorzufinden sind.

Ein cophenetischer Korrelationswert von $r_{cs} = 0,92$ zeigt eine hohe Güte der Anpassung der Daten aus der Clusteranalyse zu den Ausgangsdaten der Ähnlichkeitsmatrix.

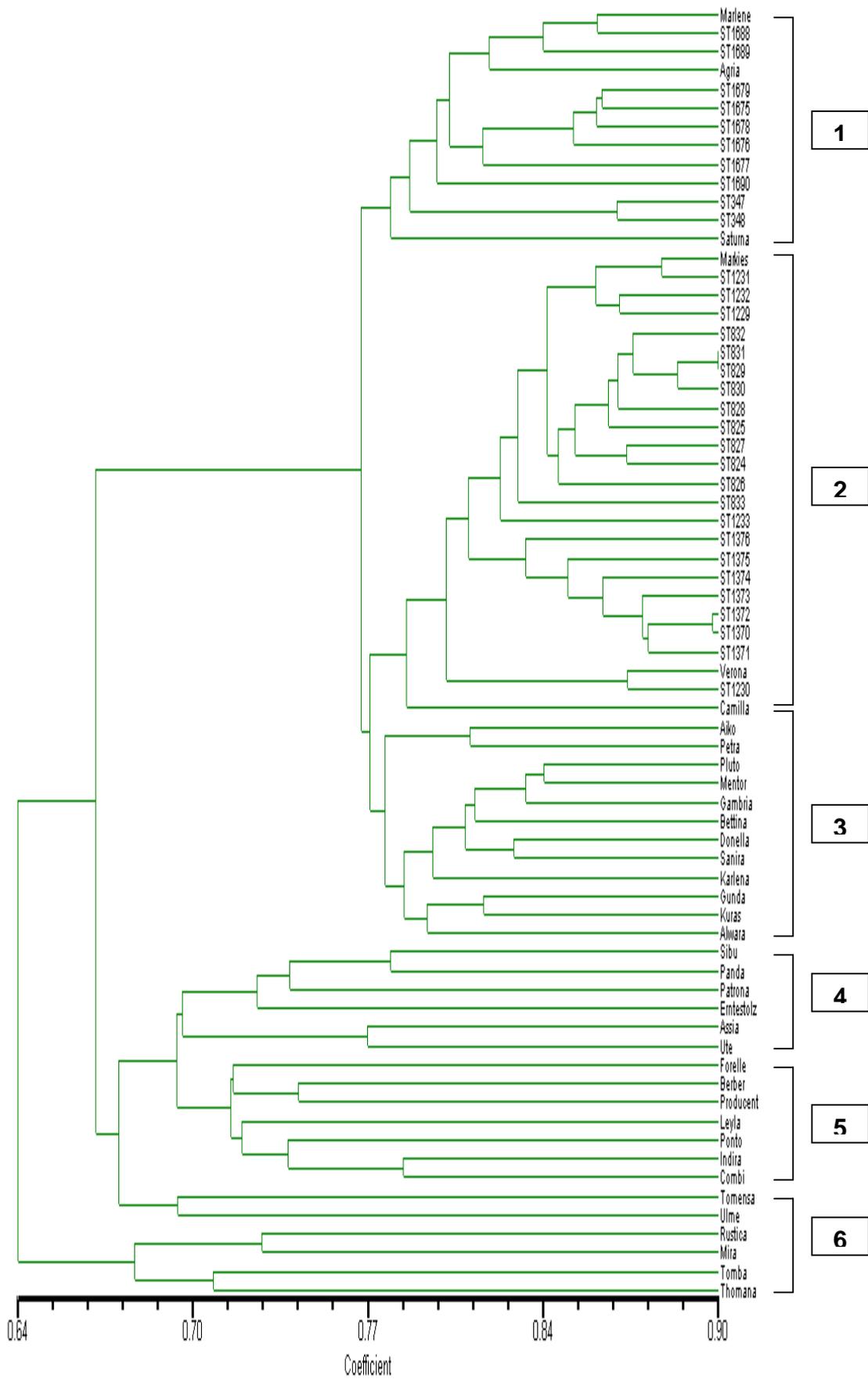


Abb. 9: AFLP-Dendrogramm (Überblick)

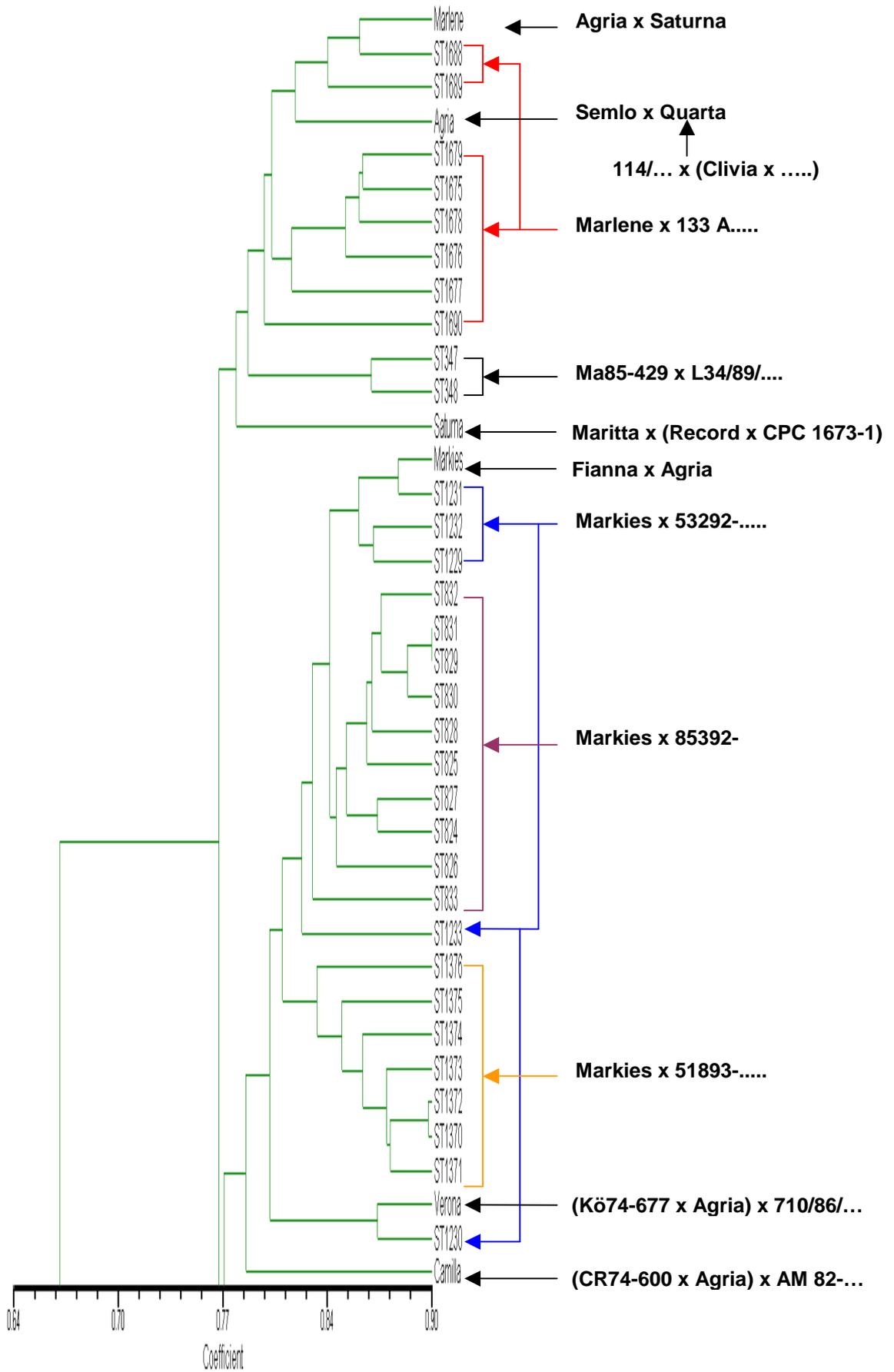


Abb. 9a: AFLP-Dendrogramm (Untercluster 1 und 2)

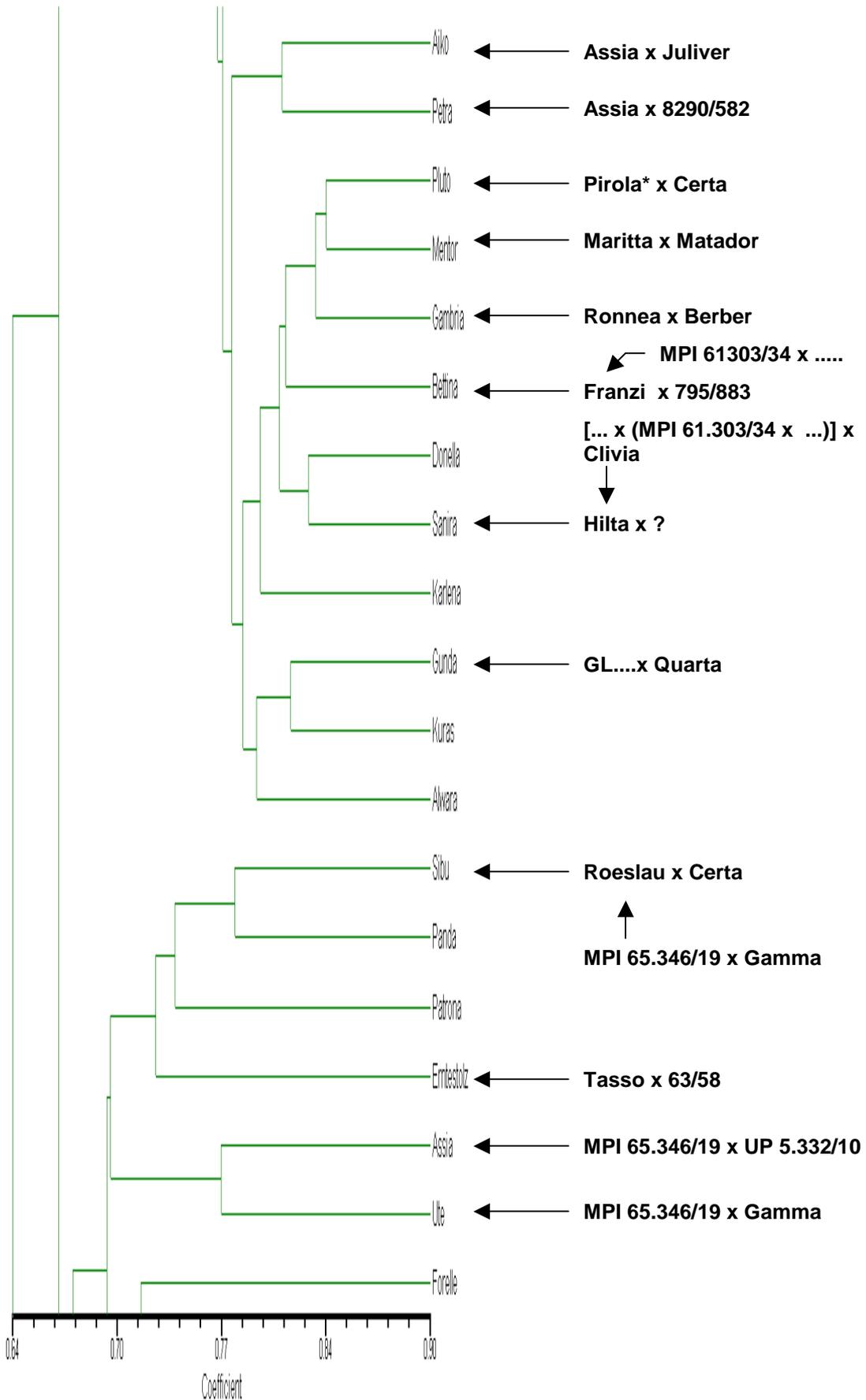


Abb. 9b: AFLP-Dendrogramm (Untercluster 3 und 4)

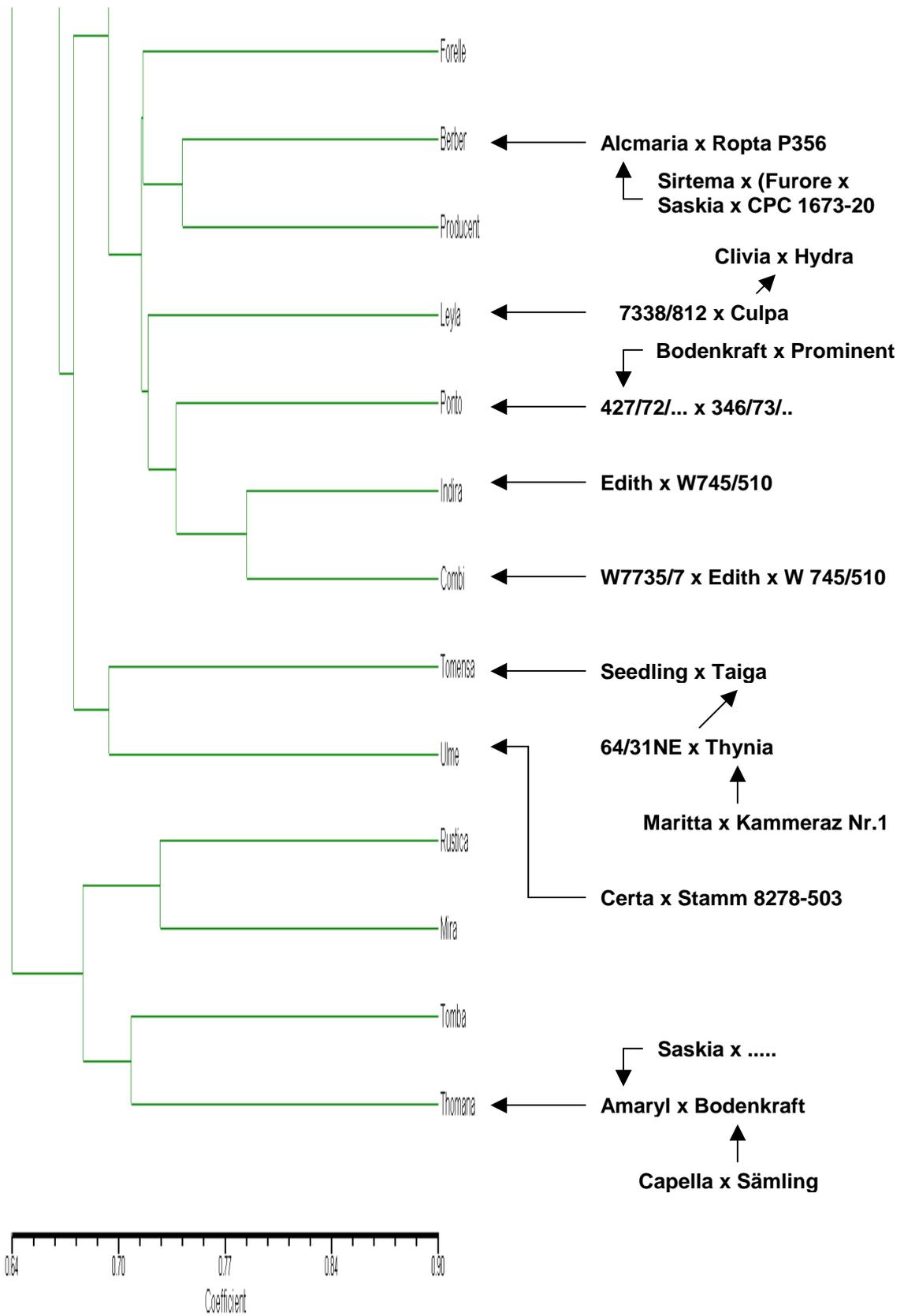


Abb. 9c: AFLP-Dendrogramm (Untercluster 5 und 6)

3.2.3 Auf SSR-Markerdaten basierende genetische Ähnlichkeiten

Mittels SSR-Technik wurden insgesamt 47 Genotypen charakterisiert, wobei 1081 Paarvergleiche erfolgten. Die nach NEI und LI (1979) berechneten Ähnlichkeitskoeffizienten variieren zwischen 0,39 für das Paar Bettina/ST825 und 0,79 für die Geschwister ST824/ST825. Der Mittelwert der Koeffizienten beträgt 0,60 bei einer Standardabweichung von $s_x = 0,06$.

Beim Vergleich der Vollgeschwisterstämme wurden aufgrund der Reduzierung der untersuchten Stämme die aus 3 verschiedenen Markies-Kreuzungen (vgl Tab. 3.28) stammenden Genotypen zusammengefasst. Diese 6 Genotypen (3 Paare) weisen untereinander eine Ähnlichkeit von durchschnittlich 77% auf (Tab. 3.30). Der Koeffizient für das Vollgeschwisterpaar ST1678/ST1679 aus der Kreuzung mit der Sorte Marlene beträgt 0,68. Ein Vergleich der Ähnlichkeitskoeffizienten der Halbgeschwisterstämme aus den verschiedenen Kreuzungen mit Markies, zeigt eine Variation zwischen 0,54-0,76 bei einem Mittelwert von 0,65. Diese Werte liegen deutlich unter denen der Vollgeschwister.

Die Nachkommen der Sorte Agria, d.h. die Sorten Verona, Camilla, Marlene, Markies und die Zuchtstämme, weisen untereinander eine Ähnlichkeit von 50-79% bei einem Mittelwert von 0,64 auf. Die Koeffizienten der 37 Sorten (Rest), die einen Ausschnitt aus dem deutschen Sortenspektrum darstellen, bewegen sich zwischen 0,50 und 0,79 bei einem Mittel von 0,64. Vollgeschwistergruppen zeigen, wie zu erwarten, die deutlich größte Ähnlichkeit, während zwischen den restlichen Gruppen sowohl bezüglich der Streuung der Koeffizienten als auch der Gruppenmittel keine wesentlichen Unterschiede zu erkennen sind.

Tab. 3.30: Ähnlichkeiten der Voll- und Halbgeschwisterzuchtstämme, sowie der Sorten basierend auf SSR-Markerdaten

	N	V	MW	S_x
Vollgeschwister (Markies)	3	0,75 – 0,79	0,77	0,02
Vollgeschwister (Marlene)	1	0,68	/	/
Halbgeschwister	12	0,54 – 0,76	0,65	0,06
Nachkommen von Agria	78	0,50 – 0,79	0,64	0,07
Agria-Sorten	10	0,55 – 0,79	0,63	0,07
Rest	523	0,42 – 0,79	0,61	0,06

N= Anzahl der Ähnlichkeitskoeffizienten; V = Variationsbreite; MW = Mittelwert; S_x = Standardabw.

Zwischen den Gruppen die einen „Agria-Hintergrund“ aufweisen (Voll- und Halbgeschwister, Sorten) und den Sorten, die das Sortenspektrum repräsentieren, gibt es also bezüglich der Höhe der Koeffizienten keine deutliche Abgrenzung wie sie bei den AFLP basierenden Koeffizienten (vgl. Tab. 3.28) zu beobachten ist. Hingegen ist eine Unterteilung innerhalb der Agria-Gruppe bezüglich des Verwandtschaftsgrades festzustellen. Für Vollgeschwistervergleiche wurden hier, wie oben bereits erwähnt, höhere Ähnlichkeiten berechnet.

3.2.3.1 Clusteranalyse basierend auf SSR-Markern

Die Generierung des auf den Mikrosatellitendaten beruhenden Dendrogramms erfolgte mit dem Fusionsalgorithmus UPGMA. Die in der Gesamtübersicht (Abb. 10) abgebildeten Nummern symbolisieren 8 Untergruppen, die zur besseren Übersicht aufgeteilt auf die Abbildungen 10a bis 10c dargestellt sind.

Die in Untercluster 1 (Abb. 10a) eingeordneten Sorten Aiko, Petra, Ute und Assia weisen alle den MPI-Stamm 65.346/19 in ihrem Stammbaum auf. Die jeweiligen Halbgeschwister gruppieren zusammen. Die Zuordnung von Mira in dieses Cluster ist anhand der vorliegenden Stammbäume nicht zu erklären. In Cluster 2 gehen die Sorten Pluto, Ulme, und Sibü jeweils auf eine Kreuzung mit Certa zurück. Sibü ist hier nicht dem 1 Cluster zugeordnet, obwohl diese Sorte anhand ihre Herkunft eine enge Verwandtschaft vermuten lässt.

Die Anordnung der Genotypen in Untercluster 3 ist nicht aus deren Abstammungsdaten ersichtlich, Die Sorten Alwara und Bettina in dem kleinen Cluster 4 sind auf den Stamm MPI 61.303/34 zurückzuführen.

In Cluster 5 ist nur eine Beziehung zwischen Mentor und Tomensa herzustellen. Beide weisen die Sorte Maritta in ihrem Stammbaum auf. Zu Cluster 3 bestehen Beziehungen über Saturna, die ebenfalls auf Maritta zurückzuführen ist, sowie Gambria, die Berber als Elter aufweist. Zwischen Cluster 4 und 2 können hingegen klare Verbindungen über die Vorfahren MPI 61.303/34, Tasso und Tiger gezogen werden. Aber auch bei Cluster 5 und 2 gibt es Gemeinsamkeiten. So weisen Ponto und Thomana gemeinsam Bodenkraft als Vorfahre auf.

Cluster 6 setzt sich überwiegend aus Sorten und Zuchtstämmen zusammen, die auf Agria zurückzuführen sind. Die Zuchtstämme gruppieren hier um ihren Elter Markies. Die Sorte Gunda weist wie Agria denselben Elter Quarta auf, während Leyla und Agria den Vorfahren Clivia teilen. Die Einordnung von Indira ist nicht zu

erklären. Aufgrund ihrer Herkunft wäre eine gemeinsame Einordnung mit dem Halbgeschwister Combi (Cluster 2) zu erwarten gewesen.

In Cluster 7 sind ebenfalls vorwiegend Nachkommen der Sorte Agria eingruppiert. Hierbei handelt es sich um Zuchtstämme ST1678 und ST1679, ihren Elter Marlene, sowie um Verona und die Zuchtstämme ST348 und ST347. Die Zuordnung von Panda, Producent und Kuras zu dieser Gruppe ist nicht nachvollziehbar. Der relativ geringe cophenetische Korrelationswert von $r_{cs} = 0,53$ deutet auf eine mäßig gute Anpassung der Daten aus der Clusteranalyse zu den Ausgangsdaten der Ähnlichkeitsmatrix hin.

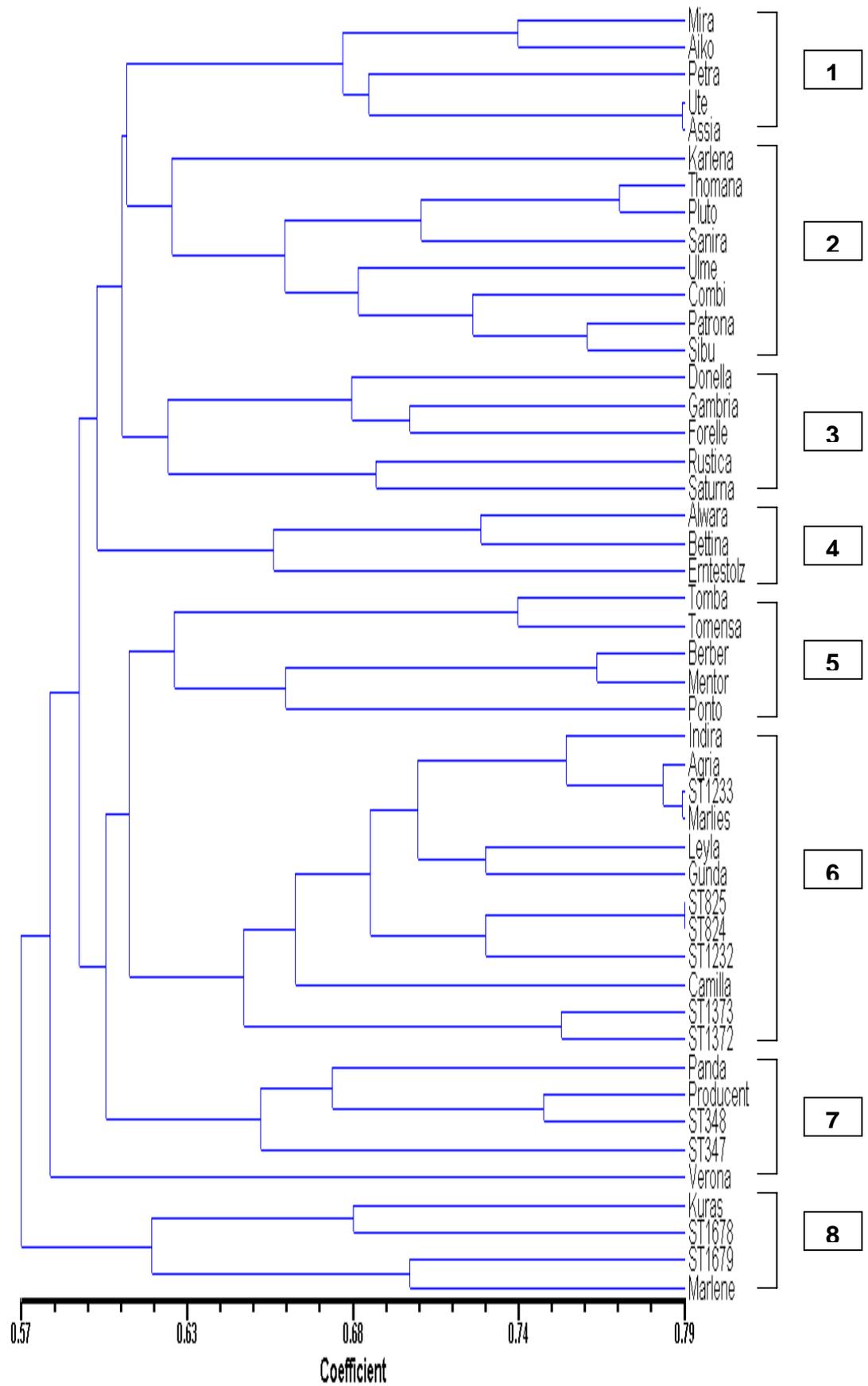


Abb. 10: SSR-Dendrogramm (Überblick)

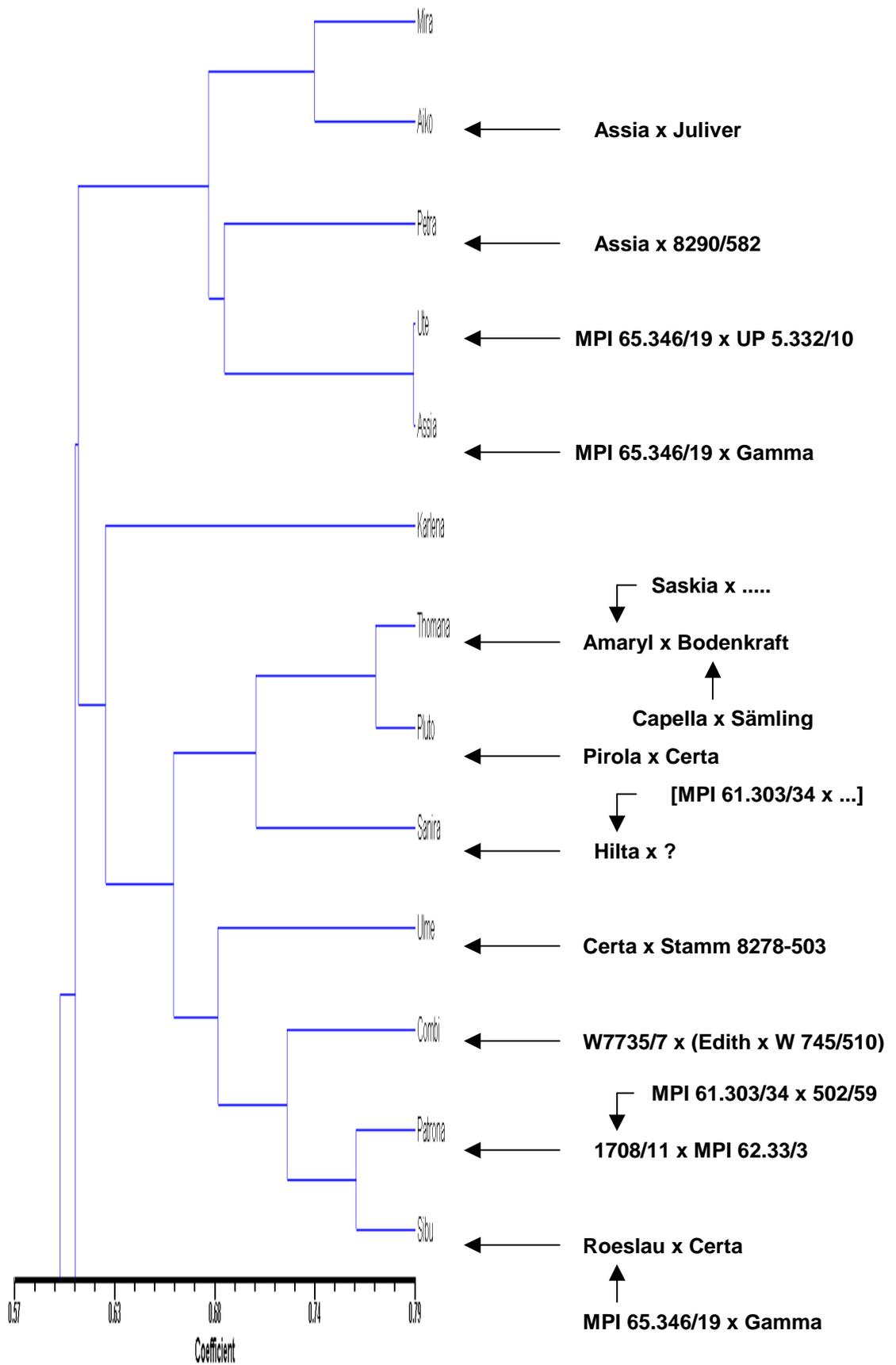


Abb. 10a: SSR-Dendrogramm (Untercluster 1 und 2)

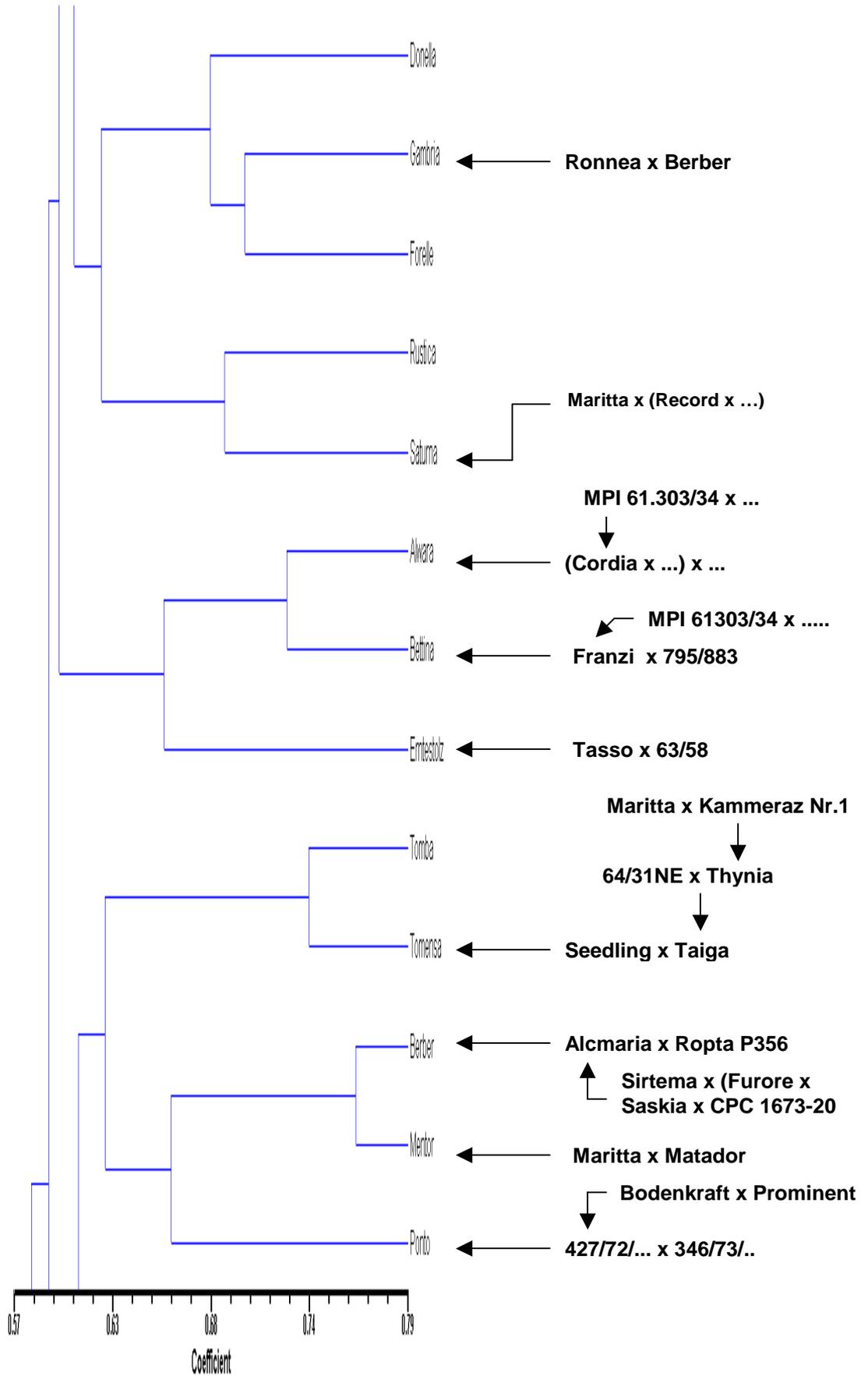


Abb 10b: SSR-Dendrogramm (Untercluster 3 bis 5)

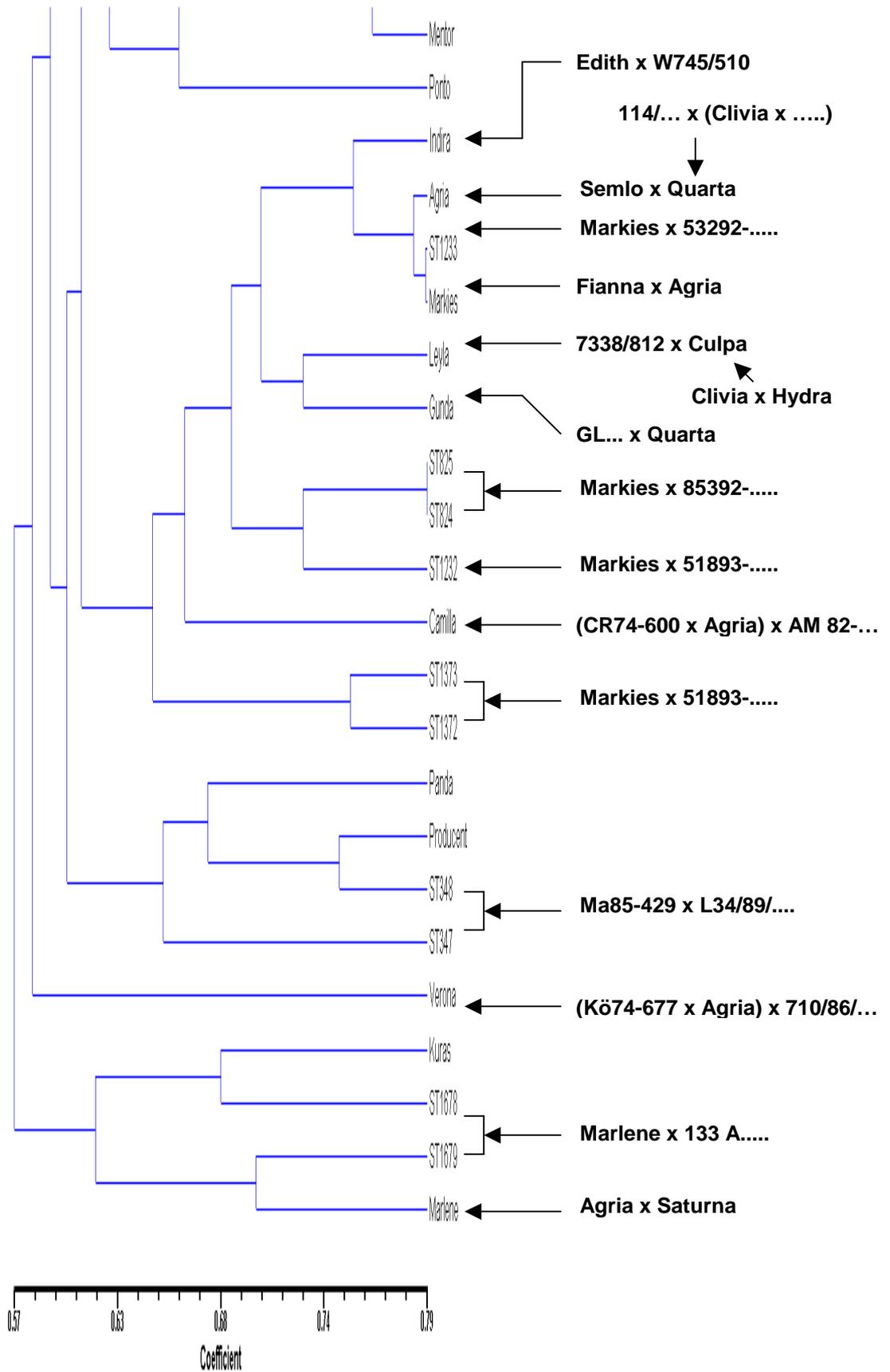


Abb 10c: SSR-Dendrogramm (Untercluster 6 bis 8)

3.2.4 Hauptkoordinatenanalyse

Ergänzend zur Clusteranalyse wurde eine Hauptkoordinatenanalyse durchgeführt, um sich ein genaueres Bild von den verwandtschaftlichen Strukturen innerhalb des untersuchten Sortiments zu machen. Die Ergebnisse der Clusteranalyse werden hier bestätigt. Die aus der AFLP-Ähnlichkeitsmatrix berechneten Hauptkoordinaten (Abb. 11) bilden deutliche Gruppen. Die Genotypen, die Agria im genetischen Hintergrund aufweisen, liegen in den Untergruppen der Marlene- bzw. Markies-Nachkommen vor. Sorten, die eine hohe Ähnlichkeit zu diesen Genotypen aufweisen, sind angrenzend gruppiert. Ferner bilden 19 Sorten mit den größten genetischen Abstände zur „Agriagruppe“, analog zum Dendrogramm, eine eigene Gruppe.

Die Anordnung der aus den SSR-Ähnlichkeitskoeffizienten berechneten Hauptkoordinaten (Abb. 12) lässt hingegen keine übergeordnete Struktur erkennen.

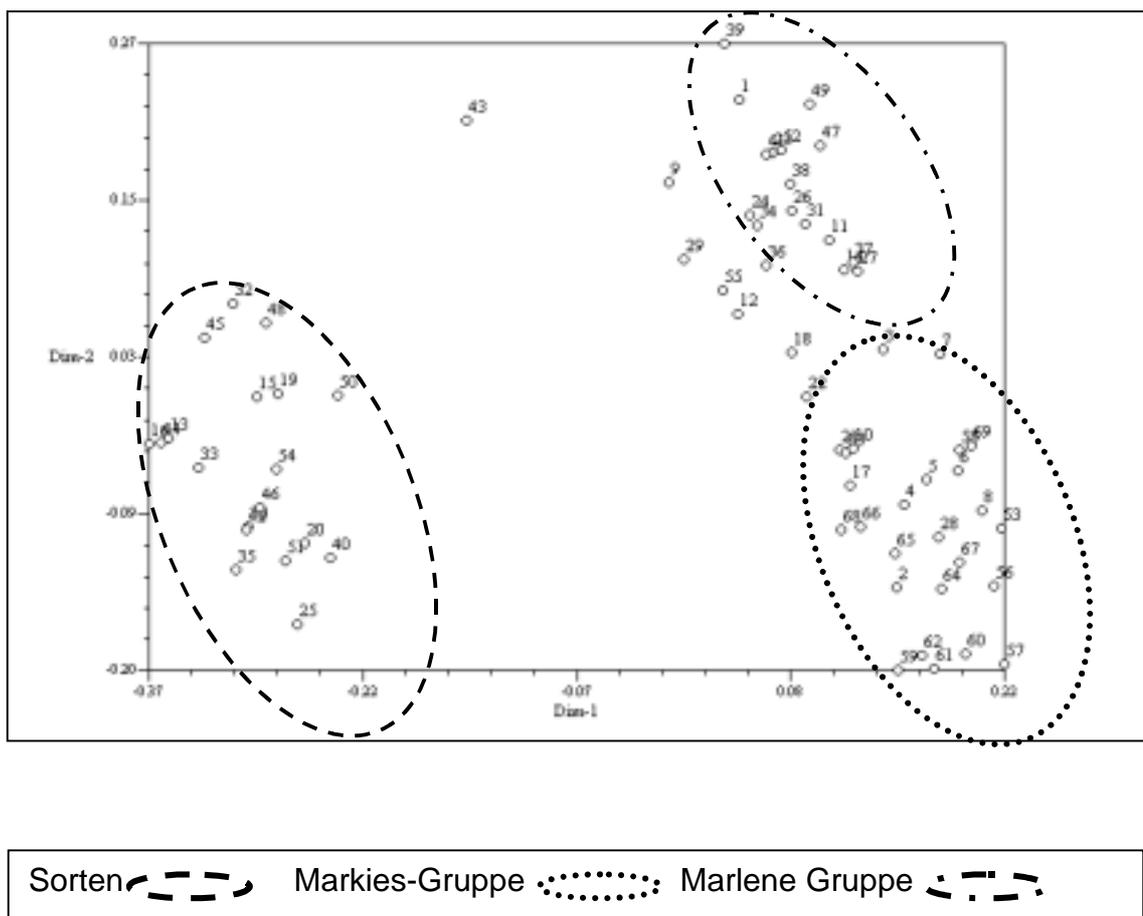


Abb. 11: Hauptkoordinatenanalyse basierend auf AFLP-Daten

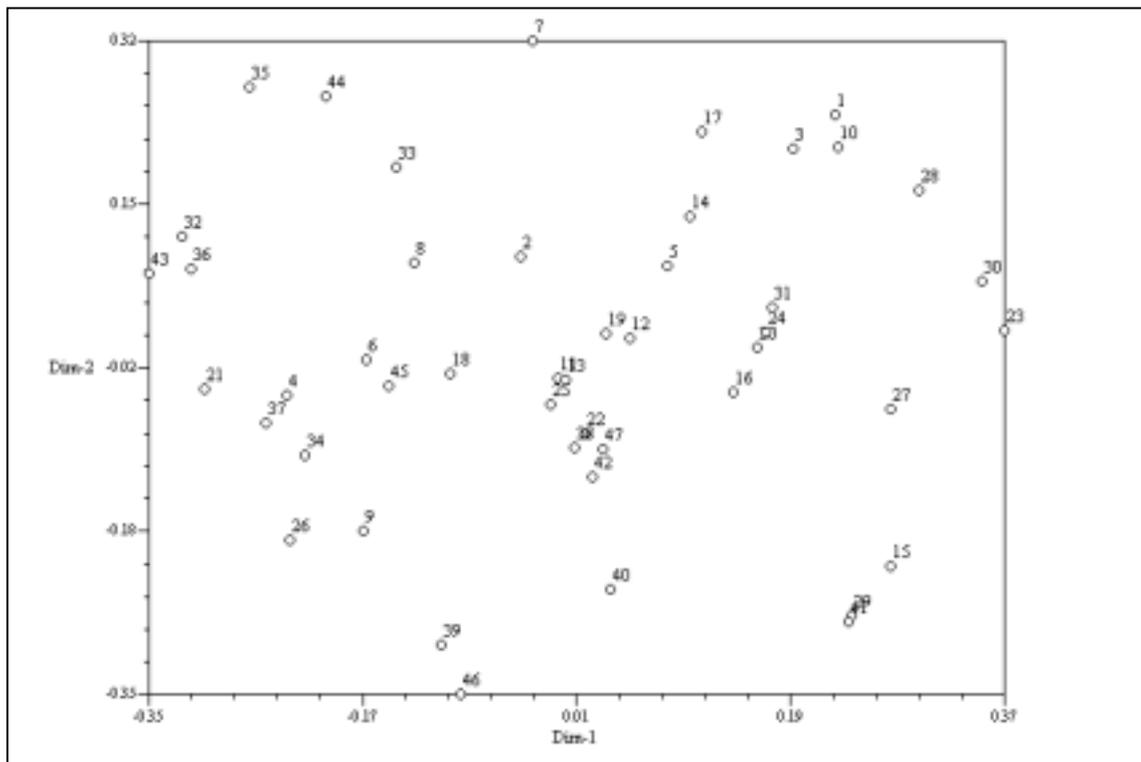


Abb. 12: Hauptkoordinatenanalyse basierend auf SSR-Daten

3.2.5 Vergleich der Markersysteme

3.2.5.1 Ähnlichkeitskoeffizienten, Dendrogramme und Hauptkoordinaten

Mit beiden Markersystemen konnten die Genotypen deutlich voneinander unterschieden werden. Die Ergebnisse der Cluster- und Hauptkoordinatenanalyse zeigen jedoch Unterschiede auf. So wurden in beiden Dendrogrammen Vollgeschwister meist zusammen gruppiert, jedoch ist die Verwandtschaftsgruppe der Genotypen, die Agria als Vorfahren aufweisen, im AFLP-Dendrogramm deutlicher zusammengefasst. Dies wird durch die Ergebnisse der Hauptkoordinatenanalyse (Abb. 11 und 12) bestätigt. In der zweidimensionalen Anordnung der auf den AFLP Ähnlichkeitskoeffizienten basierenden Hauptkoordinaten ist eine Gruppenbildung klar zu erkennen, wohingegen aus der Lage der SSR-Hauptkoordinaten keine eindeutige Struktur zu deuten ist.

Im AFLP-Dendrogramm (Abb. 9) erfolgt zudem eine deutliche Trennung zwischen Agria-Gruppe bzw. ihrer ähnlicher Sorten (Cluster 1-3) und den restlichen Genotypen (Rest), die das deutsche Sortenspektrum repräsentieren. Dies ist auch

anhand der Ähnlichkeitskoeffizienten (vgl. Tab. 3.28) ersichtlich. Nachkommen von Agria weisen hier eine viel größere Ähnlichkeit zueinander auf.

Im SSR-Dendrogramm ist dagegen die graphische Trennung zwischen Agria-Verwandtschaftsgruppe und Sorten (Rest) weniger deutlich und anhand der Hauptkoordinatenanordnung, wie erwähnt, überhaupt nicht zu erkennen. Dies bestätigen auch die Werte der Ähnlichkeitskoeffizienten (vgl. Tab. 3.30). Diejenigen der „Agriagruppe“ unterscheiden sich nicht wesentlich von denen der restlichen Sorten (Rest). Eine Differenzierung ist nur innerhalb der „Agriagruppe“ zu erkennen. Hier weisen Vollgeschwister mit Abstand die höchste Ähnlichkeit auf.

Die Mikrosatelliten-Untercluster 6-8 (vgl. Abb. 10) sind nicht ausnahmslos Genotypen mit Agria-Hintergrund vorbehalten. Sorten wie Indira und Kuras sind hier ebenfalls eingeordnet, obwohl dies anhand der Stammbäume nicht nachvollziehbar ist. Hingegen sind andere Eingruppierungen im SSR-Dendrogramm besser nachvollziehbar. So liegen z.B. die auf Stamm MPI 65.346/19 zurückgehenden Sorten Aiko, Petra, Ute und Assia im selben Untercluster. Noch deutlicher wird dies bei den Halbgeschwistern Pluto, Ulme und Sibü, die hier im Gegensatz zum AFLP-Dendrogramm zusammengefasst sind. Auch die Zuordnung von Leyla ist besser zu erklären. Diese Sorte weist wie Agria den gleichen Vorfahren Clivia auf. Eine schlecht zu erklärende, unterschiedliche Gruppierung von Berber und der aus einer Kreuzung von Ronea mit Berber stammenden Gambria, liegt bei beiden Dendrogrammen vor.

Zum besseren Vergleich der Ähnlichkeitskoeffizienten erfolgte die Berechnung einer zusätzlichen AFLP-Matrix, die analog zur SSR-Analyse auf 47 Genotypen beruhte (vgl. Kap. 3.2.1). Insgesamt erfolgten 1081 Paarvergleiche (Tab. 3.31). Die Werte der AFLP-Koeffizienten liegen mit Werten zwischen 0,55 und 0,86 sowie einem Mittelwert von 0,70 deutlich über denen der Mikrosatelliten.

Der Spearmansche Rangkorrelationskoeffizient als ein Maß dafür, wie die jeweilige Markertechnik die Paarvergleiche der genetischen Ähnlichkeit in eine Rangskala einordnet, wurde berechnet. Ein Rangkoeffizient von $R = 0,059$ zeigt praktisch keine Korrelation zwischen den beiden Markertechniken an.

Tab. 3.31: Schätzwerte der genetischen Ähnlichkeitskoeffizienten nach DICE (1945) getrennt nach Markersystem

	Ähnlichkeitskoeffizienten	
	AFLP	SSR
N	1081 (2346)	1081
MW	0,70 (0,73)	0,60
Min	0,55 (0,55)	0,39
Max	0,86 (0,90)	0,79
S_x	0,06 (0,07)	0,06

() Werte die auf Paarvergleiche von 69 Genotypen basieren [vgl. Kap. 3.2.2]

3.2.5.2 Maßzahlen zur Markerbewertung

Für die beiden verwendeten Markersysteme wurden der Diversitäts Index (DI), Effektives Multiplex Verhältnis (EMR), sowie der Marker Index (MI) berechnet. Diese Maßzahlen sollten einen Hinweis auf die Wertigkeit des jeweiligen Systems für die Durchführung einer Verwandtschaftsanalyse geben. In Tab. 3.32 sind Ergebnisse dieser Berechnungen aufgeführt.

Der Diversitäts Index der Mikrosatelliten ist mit 0,86 deutlich höher als derjenige der für die AFLPs berechnet wurde. Beim Effektiven Multiplex Verhältnis ist dies umgekehrt. Das durchschnittliche EMR, das die Anzahl polymorpher Loci angibt, die in einer Analyse mit einem Markersystem aufgedeckt werden, ist mit 59,9 bei den AFLPs beträchtlich größer als das der SSRs mit 0,98. Dies war zu erwarten, da mit einer AFLP-Primerkombination in den hier durchgeführten Experimenten durchschnittlich 88 Banden (Loci) aufgedeckt wurden, während für ein SSR-Primerpaar vorausgesetzt wurde, das es nur einen Locus aufdeckt. Der aus dem Produkt von DI und EMR gebildete MI ist demzufolge auch für die AFLPs beträchtlich höher (23,84) als für die SSRs mit einem MI von 0,84.

Tab 3.32: Maßzahlen zur Markerbewertung

Marker	Anzahl der PE*	Σ der Banden*	Zahl der Banden pro PE	Anteil polymorpher Banden*	Locizahl pro PE	DI	EMR	MI
AFLPs	6	529	88,17	0,68	88,1	0,39	59,9	23,84
SSRs	25	128	5,12	0,98	1,0	0,86	0,98	0,84

PE = Probeneinheit: Bei AFLPs eine Primerkombination und bei SSRs ein Primerpaar;

*vgl. mit Tab. 3.27

3.2.5.3 Gruppierung nach Merkmalsausprägungen

Die Überprüfung der beiden erstellten Dendrogramme hinsichtlich einer systematischen Anordnung der Sorten nach ihren Merkmalen erfolgte. Hierbei wurden Ausprägungen wie Reifegruppe, Reifezeit, Verwendungszweck, sowie Anfälligkeit für den Kartoffelvirus Y (PVY) und den Blattrollvirus (PLRV), nach Einstufung der Beschreibenden Sortenliste, einbezogen. Ebenfalls wurde eine Gruppierung bezüglich des Züchters (Herkunft) untersucht.

Keine systematische Anordnung konnte erkannt werden. Im AFLP Dendrogramm ist eine Trennung zwischen Speise- und Wirtschaftssorten angedeutet. Untercluster 4,5 und 6 (vgl. Abb. 9) sind bis auf die Sorten Leyla, Berber, Forelle und Erntestolz, aus Stärkesorten zusammengesetzt. Die drei genannten Untercluster weisen zu den anderen (1-3) eine deutlich größere genetische Distanz auf.

3.2.5.4 Anzahl der verwendeten Marker für eine Clusteranalyse

Vergleicht man zwei unterschiedliche Markersysteme wie AFLPs und Mikrosatelliten (SSR), so stellt sich die Frage, ob ein Vergleich der Systeme überhaupt zulässig ist, wenn man die unterschiedliche Anzahl der Marker (AFLP: 529 ;SSR: 128), bzw. Polymorphismen betrachtet, die in die Analyse mit eingegangen sind. Anhand der AFLP-Markerdaten wurde deshalb überprüft, wie sich eine unterschiedliche Primerzahl und Kombination, die in die Clusteranalyse miteinbezogen wird, auf das Ergebnis auswirkt.

Wurden die Polymorphismen von 3 oder mehr Primerkombinationen analysiert, so waren generell keine großen Veränderungen der ausgegebenen Dendrogramme zu beobachten. Ab ca. 150 analysierten AFLP-Polymorphismen, sind also für die in der vorliegenden Analyse verwendeten 6 Primerkombination, 'stabile' Ergebnisse zu erwarten. Die 126 analysierten SSR-Polymorphismen weisen hierzu eine ähnliche Größenordnung vor. Ein Vergleich der Markersysteme scheint uneingeschränkt zulässig.

4. Diskussion

4.1 Einfluss des Cytoplasmas auf die Merkmalsvariabilität

4.1.1 Kreuzungseigenschaften

Als Grundlage für die Untersuchungen des Cytoplasmaeinflusses auf die Merkmalsvariabilität wurden reziproke Kreuzungen durchgeführt. Sorten, mit nach LÖSSL et al. (1998, 1999) charakterisiertem Cytoplasma (vgl. Kap. 2.1.1), dienten dabei als Kreuzungspartner.

Die Sorten der Kulturkartoffel weisen allgemein sehr große Unterschiede bezüglich der Fertilität auf. So zeigten von den 667 Kulturkartoffelherkünften aus 25 Staaten, die GOPAL (1994) hinsichtlich Blühverhalten, männlicher Sterilität und Beerenansatz untersuchte, 31,8% keinen Ansatz und nur 54,3% konnten sowohl als mütterlicher, wie auch väterlicher Elter genutzt werden. Reziproke Kombinationen sind in der Regel schwer zu erstellen. Vor diesem Hintergrund wurde das Kreuzungsprogramm breit angelegt (Kap.3.1). Von den im Jahr 1998 erfolgten 2188 Einzelkreuzungen, die 320 Kombinationen repräsentieren, zeigten 55% einen Beerenansatz, nur 21 (13%) davon waren reziprok. Dies entspricht Größenordnungen, die in der Praxis häufig beobachtet werden. Auch die Anzahl der Samen je Beere lag in der von STEINBACH (1990) für tetraploide Kreuzungen beschriebenen Größenordnung von 76 bis 138.

Die Kreuzungseignung der Genotypen wurde bezogen auf das jeweilige vorliegende Cytoplasma beurteilt. Hinsichtlich der Eignung als Mutterpflanze zeigten sich keine Unterschiede, jedoch konnte bei der Eignung als Pollenelter deutlich zwischen den drei im deutschen Sortenspektrum dominierenden Plasma-Typen differenziert werden (vgl. Tab. 3.1). Keine Blüte, die mit Pollen eines W/γ -Genotypen bestäubt wurde, zeigte einen Beerenansatz. Testkreuzungen im darauffolgenden Jahr, bei denen eine größere Anzahl solcher Polleneltern überprüft wurde, bestätigten die Beobachtung (vgl. Tab. 3.2). Genotypen, die eine der anderen Plasma-Konfigurationen aufwiesen, zeigten hingegen in beiden Versuchsjahren einen guten Beerenansatz. Negative Umwelteinflüsse, wie große Hitze (BAMBERG 1995) und zu geringe Photoperiode (TURNER and EWING 1988), die zu einer verminderten Blühfreudigkeit, vorzeitigen Abwerfen der Blüten, bzw. geringeren Lebensfähigkeit des Pollens führen, konnten also weitgehend ausgeschaltet werden.

Die Untersuchung der Pollenkeimung an Nachkommen von Sorten mit W/γ -Plasma zeigte, dass diese ebenfalls pollensteril sind (vgl. Tab. 3.3) oder überhaupt keinen Pollen bildeten. Die Aussagefähigkeit solcher direkter *in-vitro* Keimtests wurde von HOFFERBERT (1996) höher eingestuft als ein indirekter Nachweis durch Anfärbung mittels Tetrazolium- und Karminessigsäure-Test. Er ermittelte eine hochsignifikante Korrelation von jeweils über $r = 0,8$ zwischen Keimtest und Beerenansatz bzw. Samen je Beere. Auch JANSSEN und HERMSEN (1976) stuften die Zuverlässigkeit von Keimtests höher als die von Färbetechniken ein. Nur mit der *in vitro*-Pollenkeimung nach MORTENSEN (1964) konnten sie verlässliche Aussagen über die männlichen Fertilität machen.

Die Evaluierung des Kartoffelzuchtprogrammes der Bayerischen Landesanstalt für Pflanzenbau und Bodenkultur (LBP) zeigte ebenfalls, dass sich W/γ -Typen nicht als Pollenelter eignen und über die Jahre hinweg ausschließlich als Mutterpflanzen eingesetzt werden konnten. Cytoplasma und Sterilität wurden immer maternal vererbt.

Alle diese Ergebnisse lassen mit großer Sicherheit den Schluss zu, dass der W/γ -Typ mit einem Cytoplasmatisch-Männlichen-Sterilitäts System (CMS) gekoppelt ist. Zum ersten mal wurde hier bei der Kartoffel die Kopplung eines durch molekulare Marker definierten Cytoplasmas mit einer männlichen Sterilität beobachtet.

Durch die ermittelten Stammbäume (Tab 3.4) der untersuchten W/γ -Typen konnte hergeleitet werden, dass dieses Plasma durch Einkreuzung der Wildart *S. stoloniferum* in das deutsche Sortenspektrum gelangt ist (vgl. Abb. 5a, b).

Solchen Sorten liegen MPI-Stämme zugrunde, die dazu dienten, das Resistenzgen Ry_{sto} gegen das Kartoffelvirus Y (PVY) aus *S. stoloniferum* in deutsche Sorten zu übertragen. Mit diesen Herkünften wird auch eine plasmatisch männliche Sterilität verbunden (ROSS 1986). In der deutschen Sortenliste sind die meisten W/γ -Sorten als gering anfällig, bzw. extrem resistent gegen PVY eingestuft. Auffällig ist, dass praktisch alle Züchterhäuser über die Jahre hinweg, immer wieder auf die gleichen bewährten Resistenzdonoren (vgl. Tab. 3.4) zurückgegriffen haben. Ein Beweis für das erfolgreiche 'Prebreeding' des Max-Planck-Institutes für Züchtungsforschung in Köln (MPI).

Cytoplasmatische männliche Sterilität (CMS) ist das maternal vererbte Unvermögen einer Pflanze, funktionsfähigen Pollen zu produzieren und wurde bei mehr als 150 Pflanzenarten beobachtet. (LASER et al. 1972; MACKENZIE et al. 1994). Auch bei der Gattung *Solanum* wurde CMS häufig beschrieben (ABDALLA and RAMANNA 1971; GRUN et al. 1977; GRUN 1979; SANFORD and HANNEMAN 1979; HOOPES et al. 1980). GRUN (1979) führte sie auf Interaktionen zwischen maternal vererbten, cytoplasmatischen ‚Faktoren‘, und Kerngenen, die von beiden Eltern stammen können, zurück. Letztendlich führen diese zu verschiedenen, mit Sterilität verbundenen Abnormalitäten, wie runzelige, leere Mikrosporen oder deformierte Antheren.

Informationen über die genetische Basis dieser Sterilität sind sehr gering. In einigen Fällen war es möglich, spezifische Regionen des Chondrioms mit ‚Rearrangements‘ zu identifizieren, die stark mit dem CMS-Phänotyp korrelierten (SCHNABEL and WISE 1998). So wurden Assoziationen von CMS mit abnormaler mitochondrialer Genexpression bei Pflanzenarten wie Mais (DEWEY et al. 1986, 1987), Sonnenblume (HORN et al. 1991; KÖHLER et al. 1991; MONEGER et al. 1994), Bohne (JOHNS et al. 1992) oder auch Petunien (NIVSON and HANSON 1989) beobachtet. In jedem dieser Fälle wurde die Unterbrechung der Pollenentwicklung in CMS-Linien, durch die Expression neuer mitochondrialer DNA-Sequenzen, die protein-codierende offene Leseraster beinhalteten, begleitet.

Wenige Arbeiten beleuchteten bisher die molekularen Ursachen von Kern-Cytoplasma Interaktionen, die zu männlicher Sterilität der Kartoffel führen. BUCKNER und HYDE (1982) verglichen Chloroplasten-DNA verschiedener *Solanum* Subspezies und kamen zu dem Schluss, dass die Expression von CMS nicht von dieser kontrolliert wird. CARDI et al. (1999) untersuchten Fusionshybriden zwischen der Kulturkartoffel und der sexuell inkompatiblen Wildart *S. commersonii*. Die meisten männlich-sterilen Hybride zeigten bevorzugt Vererbung von mtDNA-Fragmenten, die von *S. tuberosum* stammten, während die männlich-fertilen vorwiegend Fragmente von *S. commersonii* aufwiesen. Dennoch konnten sie keine deutliche Korrelation zwischen einer spezifischen, mitochondrialen Region und männlicher Sterilität ermitteln. Hier besteht noch großer Forschungsbedarf.

4.1.2 Cytoplasma und Ertragsparameter

Die Ergebnisse aus den ein- bzw. zweijährigen Feldversuchen mit den reziproken Populationen (vgl. Kap. 3.1.4) lieferten keine Hinweise für einen Einfluss des Cytoplasmas auf die untersuchten Merkmale.

So konnten zwischen den reziproken Kombinationen keine Unterschiede bezüglich des Stärkegehaltes festgestellt werden (vgl. Kap. 3.1.4.1). Sowohl die berechneten Mittelwerte, wie auch die Spannbreiten, zeigten meist keine großen Abweichungen.

Bei den zentralen Populationen konnten vereinzelte signifikante Mittelwertunterschiede zwischen Wiederholungen festgestellt werden (Tab. 3.8). Differenzen lagen zwischen dem ersten Versuchsjahr 2000 der Population TP und zwei Versuchsgliedern von PT im Folgejahr vor. Zur Klärung der Ursache wurden Korrelationen zwischen den Messwerten innerhalb der Populationen berechnet.

Es konnte festgestellt werden, dass die Werte von TP in 2000 keine Korrelation mit zwei eigenen Wiederholungen in 2001 (vgl. Tab. 3.10) zeigten, während alle Wiederholungen dieses zweiten Anbaujahres untereinander relativ starke Korrelationen aufwiesen. Hingegen lag bei der Population PT zwischen allen Wiederholungen eine Korrelation vor (vgl. Tab. 3.9). Dies lässt darauf schließen, dass die Werte von TP in 2001 offensichtlich umweltbedingt abweichen.

Alle Populationen aus der Kombination der Wirtschaftssorten Mira, Panda und Thomana zeigten einen ähnlich großen durchschnittlichen Stärkegehalt um 15%. Die Spannweite der Messwerte war mit ca. 10% sehr hoch. Diese große Variabilität konnte für unselektierte autotetraploide Populationen erwartet werden. Die Mittelwerte dieser 'Stärkekreuzungen' entsprachen ungefähr dem Elternmittel von Panda und Thomana. Insgesamt war der Stärkegehalt dieser Standardsorten sehr gering. Eine Ursache hierfür mag die fehlende Berechnungsmöglichkeit am Standort Roggenstein sein. Der extrem geringe Wert von Mira (11,8%) lässt sich höchstwahrscheinlich auf den Nachbau dieser Sorte zurückführen.

Die reziproken Populationen aus der Kombination der sehr frühen Speisesorte Berber und der späten Wirtschaftssorte Panda zeigen trotz der relativ geringen Anzahl der im Feld geprüften Nachkommen (Tab. 3.7) eine eindeutige Tendenz. Hier ist deutlich der Einfluss des Kreuzungspartners mit der geringeren Stärkeleistung festzustellen. Das Stärkemittel liegt hier intermediär zwischen den Werten

der Eltern und deutlich um 2-3% unter dem der Populationen aus den 'Stärkekreuzungen'. Bei maximalen Werten zwischen 15-16% Stärke ist eine deutliche Determinierung nach oben festzustellen.

Systematische Unterschiede konnten auch nicht bei den anderen untersuchten Merkmalen beobachtet werden. So ist zwar bei der beobachteten Pflanzenentwicklung zu Blühbeginn (Tab. 3.12) die durchschnittliche Höhe der Population PT im Jahr 2001 mit 50,7 cm signifikant am geringsten, jedoch ist dies wahrscheinlich ebenfalls auf Umwelteffekte zurückzuführen. Dafür spricht, dass die anderen drei Durchschnittswerte beider Populationen keine Unterschiede aufweisen.

Die Einzelstaudenerträge (Kap. 3.1.4.2) des Jahres 2001 waren bei allen Wiederholungen, unabhängig von der Kreuzungsrichtung, ebenfalls ähnlich groß. Die Mittelwerte schwankten zwischen 0,68 und 0,80 g. Es lagen Erträge von minimal 160 g je Staude vor. Diese extrem geringen Werte sind auch darauf zurückzuführen, dass bei den Sämlingen im Vorfeld keine, wie in der Züchtungspraxis üblich, stringente Selektion erfolgte. Dies zeigte sich auch an öfters beobachtetem 'Krüppelwuchs'. Signifikant unterschiedliche Erträge wurden nur zwischen zwei Wiederholungen einer Population (PT) ermittelt.

Knollenschönheit und Knollengröße (Tab. 3.13 und 3.14) wurden nur im ersten Versuchsjahr bonitiert, um Tendenzen erkennen zu können. Hier konnten ebenfalls keine reziproken Unterschiede festgestellt werden. Die Spannbreiten, sowie die Mittel der Boniturnoten unterschieden sich praktisch nicht. Die Daten waren linksschief verteilt. Es wurden also hauptsächlich schlechte Noten vergeben, wobei vor allem die Knollenschönheit sehr negativ zu bewerten war. Form und Schönheit der Elternklone wurden hingegen im oberen Bereich eingestuft. Dies sind für subjektiv bewertete Merkmale kein überraschendes Ergebnis, vor allem vor dem Hintergrund, dass es sich hier, wie schon erwähnt, um unselektiertes Material handelte.

Im Vergleich zu den vorliegenden Ergebnissen ermittelten SANFORD und HANNEMANN (1982) bis zu 115% Ertragsdifferenzen zwischen reziproken Populationen aus Kreuzungen herkömmlicher Sorten mit Klonen der Subspezies *andigena*. In sieben Kombinationen wiesen die reziproke Population mit den

höheren Erträgen auch jeweils den Kreuzungspartner mit der höheren Ertragsleistung als maternalen Elter auf. Als Ursachen werden einerseits maternale Effekte, andererseits cytoplasmatische Vererbung diskutiert.

Ähnliche Ergebnisse ermittelten auch HOOPES et al. (1980) in mehrjährigen Feldversuchen in den USA. Auch sie stellten Ertragsdifferenzen von 12 bis 32% zwischen reziproken *Tuberosum-Andigena* Hybriden fest, konnten allerdings unter den Kurztagsbedingungen Perus keine signifikanten Unterschiede beobachten.

HILALI et al. (1987) erklären sich Ergebnisvariationen zwischen Standorten damit, dass der Einfluss des Kerngenoms cytoplasmatische Effekte überdecken kann. Genotyp, Cytoplasma und Umwelt interagieren auf eine Weise, dass reziproke Differenzen nicht immer vorhersehbar sind.

MARIS (1989) fand in seinen diallelen *S. tuberosum* - *S. andigena* Kreuzungen reziproke Unterschiede hinsichtlich des Knollenertrages. Er postulierte die Überlegenheit des *tuberosum*-Plasmas bezüglich dieses Merkmals.

Als potentielle Ursache für die von HILALI et al. (1987) beobachteten reziproken Effekte bei Hybriden aus Kreuzungen zwischen Dihaploiden von *S. tuberosum* und *S. phureja*-Klonen wird neben Cytoplasma-Kern Interaktionen und Unterschieden der Eltern bezüglich der kritischen Photoperiode auch Gametenselektion gesehen. In anderen Untersuchungen konnten dagegen keine reziproken Differenzen bei Ertragsparametern festgestellt werden (FREISNITZER 1952; ENGEL 1956; STAUB et al. 1982). Auch BRADSHAW et al. (2000) beobachteten in ihrem konventionellen Zuchtprogramm bei 23 reziproken Kreuzungen keine Unterschiede.

Eine Ursache für die zum Teil recht großen Differenzen kann in den gewählten Kreuzungspartnern gesehen werden. Reziproke Unterschiede wurden meist in Kreuzungen zwischen Kultursorten und mehr oder weniger gut an Langtagsverhältnisse adaptierten Wild- bzw. Primitivformen beobachtet. Hier ist davon auszugehen, dass starke Inkompatibilitäten durch das 'Wild'-Cytoplasma hervorgerufen werden. Dafür spricht, wie oben erläutert, dass Populationen mit *tuberosum*-Plasma ihren reziproken Gegenstücken meist im Ertrag überlegen waren.

Bei reziproken Kreuzungen zwischen konventionellen Sorten bzw. Zuchtstämmen ist hingegen weniger mit negativen Kern-Plasma-Interaktionen, die auf Ertragsmerkmale wirken, zu rechnen. Solche konventionellen Kreuzungen wurden auch im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt. Unterstützt wird diese Vermutung auch

durch die Versuche von PERL et al. (1991), bei denen eine erfolgreiche Cybridisierung nur bei Fusionspartnern beobachtet werden konnte die, basierend auf der Untersuchung ihrer cpDNA, eine nähere Verwandtschaft zueinander aufwiesen. Interspezifische Cybridisierung von *S. etuberosum* (Organellen-Donor) und *S. tuberosum* (Recipient) ergab männlich-sterile Pflanzen, während der Einsatz der zur Kulturform näher verwandten Wildart *S. chacoense* zu grünen, fertilen Pflanzen mit der Morphologie der Kartoffel führte (PERL et al. 1990a).

4.1.3 Bedeutung des Cytoplasmas für die Kartoffelzüchtung

Geht es um einen Effekt auf Ertragsparameter, so zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass eine Berücksichtigung der Plasma-Konfiguration für die praktische Kartoffelzüchtung irrelevant ist.

Anders sieht dies bei dem festgestellten Einfluss der W/ γ -Konfiguration auf die männliche Fertilität aus. Ein Großteil der deutschen Sorten (144) wurde bereits bezüglich der Cytoplasma-Konfiguration charakterisiert. (LÖSSL et al. 1998, 1999). Es konnte gezeigt werden, dass ca. 9 % der aktuellen Sorten diese Plasma-Konfiguration aufweisen. Diese Informationen und die in dieser Arbeit aufgeführten Stammbäume (vgl. Kap 3.1.3), können von der praktischen Kartoffelzüchtung genutzt werden, um Zuchtprogramme zukünftig effektiver zu planen, indem solche Genotypen nur noch gezielt als Mutterpflanzen eingesetzt werden. Alloplasmatische Inkompatibilitäten können ferner dazu genutzt werden, um gezielt CMS bei männlich fertilen Kartoffelsorten zu erzeugen, um diese dann als Samenelter bei der Produktion von True Potato Seed (TPS) einzusetzen (PERL et al. 1990b). So gelang MELCHERS et al. (1992) durch eine Fusion die Erstellung von CMS-Cybriden in einem einzigen Schritt, indem Karyoplasten der Tomate (*Lycopersicon esculentum*) mit Cytoplasten der Kulturkartoffel bzw. der Wildart *Solanum acaule* vereinigt wurden. Auch PERL et al. (1990a) erhielten *de novo* männlich-sterile Pflanzen aus interspezifischer Cybridisierung der Kartoffel. Solche assymetrische Fusionen, wie z.B. von SPANGENBERG et al. (1991) beschrieben, können ferner einen letzten Beweis liefern, dass die Sterilität durch dieses Cytoplasma hervorgerufen wird.

Einer klare PCR-gestützte Differenzierung der verschiedenen Plasma-Konfigurationen wäre für eine optimale Nutzung der vorliegenden Ergebnisse wünschenswert. Diese ist aber mit den von LÖSSL et al. (1999, 2000) entwickelten Primern nur teilweise möglich (Kap. 3.1.1).

Es konnten zwar die beiden Plastiden-Typen im deutschen Sortenspektrum der sog. Wild- (W) und Tuberosum- (T) Typ deutlich bestimmt werden, jedoch war die Unterscheidung der Mitochondrien-Typen nur eingeschränkt möglich.

So zeigte das zur Unterscheidung des α - und γ -Typen entwickelte Primerpaar ALM_6 / ALM_7 z.T. unerwartete, zusätzliche Amplifikationsprodukte. Dieses Paar wurde so konzipiert, dass es spezifisch in der Region des mitochondrialen *cob*-Gens amplifiziert. Die unspezifischen Fragmente sind z.B. damit zu erklären, dass diese Primer nicht nur am gewünschten mtDNA-Bereich binden, sondern auch unspezifisch an Kern-DNA. Letztendlich ist keine direkte Unterscheidung des α - und γ -Chondrioms möglich. Amplifikation mit dem Primerpaar ALM_4 / ALM_5 ergibt bei α -Typen ein 1,6 kb Fragment, während beim γ -Typ keines amplifiziert wird (vgl. Abb. 4). Eine sichere Bestimmung kann also nur mit den von LÖSSL et al. (1999) beschriebenen RFLP-Sonden erfolgen. Damit steht keine schnelle und günstige Unterscheidung, außerhalb eines Institutslaboratoriums zur Verfügung.

Sind auch in dieser Arbeit keine Wirkungen auf Ertragsparameter nachweisbar, so wird von verschiedenen Autoren die Bedeutung einer eingehenden Charakterisierung des Cytoplasmas hervorgehoben. Ein generelles Problem ist in der relativ engen genetischen Basis des Kulturkartoffelsortiments (GLENDINNING 1983) zu sehen, die sich speziell in einer eingeschränkten Diversität der Cytoplasmotypen widerspiegelt. So konnten HOSAKA und HANNEMANN (1988a,b) zeigen, dass die meisten von ihnen untersuchten Kultursorten den selben Plastom-Typ, den sog. T-Typ (*Tuberosum*) aufweisen. Dieses Ergebnis wurden von WAUGH et al. (1990) bestätigt. POWELL et al. (1993) stellten fest, dass der T-Typ für Sorten charakteristisch ist, die von ‚Rough Purpel Chili‘ abstammen. Diese Sorte wird von einigen Autoren als universeller ‚Ahnherr‘ gesehen, der die erste Einfuhr aus dem Südamerikanischen Genpool nach Nordamerika und Europa, seit dem ursprünglichen ssp. *andigena* Einfuhren des 16. Jahrhunderts, darstellt. GRUN (1979) vermutete, dass die Verbreitung von ‚Rough Purpel Chili‘ und ihrer Nachkommen das ursprüngliche *S. andigena*-Plasma ersetze. Jedoch schließen

POWELL et al. (1993) aus ihren Ergebnissen, das trotz dominierenden T-Typ Cytoplasma auch noch der *S. andigena*-Typ im neuzeitlichen Sortenspektrum vertreten ist. Die Ergebnisse von LÖSSL et al. (1998, 1999) weisen ebenfalls auf eine eingeschränkte Variabilität hin. Die untersuchten deutschen Sorten besitzen hauptsächlich die Plasma-Konfiguration T/ β und W/ α .

Es ist sicher, dass das W-Plastom (**Wild**-Typ), welches entweder mit dem α - bzw. γ -Chondriom gekoppelt vorliegt, auf eine jüngere Züchtungsgeschichte zurückzuführen ist. Diese Konfigurationen basieren wie in den Abbildungen 5a,b für W/ γ gezeigt, auf Einkreuzungen von Wildarten als Resistenzdonoren im Verlauf des 20. Jahrhunderts.

PROVAN et al. (1999) konnten anhand eines mittels Kern- und cpSSR analysierten Ausschnittes des europäischen Sortenspektrums nicht beobachten, dass sich die geringe Variabilität des Cytoplasmas auch in einer verminderten Diversität der Kern-DNA widerspiegelt. Sie betonten aber die große Bedeutung der Erweiterung der Plasma-Diversität, um die häufig vorzufindenden Sterilitäten zu verringern.

Genetische Uniformität auf Cytoplasma-Niveau kann aber auch negative Konsequenzen bezüglich der Krankheitsanfälligkeit mit sich bringen, wie das Beispiel des Texas-Plasmas bei Mais zeigt (LEVINGS, 1990). Für die praktische Kartoffelzüchtung scheint es daher angebracht, zukünftig auch einer Erhöhung der Cytoplasma-Diversität Beachtung zu schenken. Diese kann über Protoplastenfusion realisiert werden.

4.2 Charakterisierung der Populationen mittels molekularer Marker

Die zentralen Populationen wurden mit Hilfe von Molekularen Markern charakterisiert. Dies sollte in erster Linie dazu dienen die reziproken Populationen zu vergleichen. Zwar geht man bei Reziproken theoretisch davon aus das keine Unterschiede auf der genomischen Ebene vorliegen, jedoch muss dies erst nachgewiesen werden. Eine unterschiedliche Variabilität der Merkmalsausprägungen bei reziproken Populationen kann sonst nicht sicher auf cytoplasmatische Einflüsse zurückgeführt werden.

Zusätzlich konnte das anfallende Datenmaterial genutzt werden, um die Beziehung zwischen maximaler Heterozygotie und verschiedenen Merkmalen direkt zu untersuchen. Zudem konnten Informationen über den Nutzen der verwendeten AFLPs und Mikrosatelliten für die Kartierung von Autotetraploiden gewonnen werden.

4.2.1 Erfassung von Heterozygotie und Homozygotie

Der Relative Heterozygotie Index (RHI) wurde getrennt für AFLP- und SSR-Markerdaten berechnet (Kap. 3.1.5.2). Sowohl bezüglich des durchschnittlichen RHI_{AFLP} als auch des RHI_{SSR} konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den reziproken Populationen festgestellt werden. Ferner unterschieden sich die Spannbreiten und Populationsmittel der Indizes, die auf den Daten der unterschiedlichen Marker-Techniken basieren, kaum. Die Populationsmittel liegen bei ca. 0,72. Die Streuung der Einzelwerte ist relativ klein und bewegt sich zwischen ca. 0,61 und 0,80. Dies sind vergleichsweise hohe Werte, was für eine recht starke Heterozygotie spricht.

GEBHARDT et al. (1989b) ermittelten bei 38 diploiden Kartoffellinien, auf Basis der mit 168 Sonden generierten RFLPs, Polymorphie- und Heterozygotiegrad. Die RHI-Werte lagen hier zwischen 0,298 und einem Maximum von 0,378 bei einem interspezifischen *tuberosum* x *spgazzinii* Hybrid. Tetraploide weisen aufgrund ihrer Genomkonstitution erwartungsgemäß höhere Indizes auf (GEBHARDT et al. 1989a). So ermittelten BONIERBALE et al. (1993) für die 108 Nachkommen aus einer Kreuzung der Sorten Steuben und Monona RHI-Werte zwischen 0,429 - 0,540 (MW = 0,477). Diese Werte liegen deutlich unter den in dieser Arbeit berechneten. Es stellt sich die Frage worauf diese großen Unterschiede basieren.

Einflussgrößen können das Markersystem, die in die Berechnung eingeflossene Datenmenge, sowie die genetische Distanz der Kreuzungspartner sein. Anhand der drei von BONIERBALE et al. (1993) charakterisierten Kreuzungspopulationen ist keine eindeutige Tendenz bezüglich der genetischen Distanz zu erkennen. Zwar zeigen die Nachkommen aus einer interspezifischen 4x-2x Kreuzung zwischen *S. tuberosum* und *S. phureja* die signifikant höchsten RHIs, jedoch wurden keine Unterschiede zwischen den Hybriden einer Tuberosum-Neotuberosum und der konventionellen Steuben x Monona Kreuzung gefunden.

Die in der vorliegenden Arbeit berechneten RHI_{AFLP} und RHI_{SSR} stimmten zwar von ihrer Größenordnung überein, jedoch konnte gezeigt werden das die einzelnen Genotypen unterschiedlich bewertet wurden (vgl. Abb. 7). Zwischen RHI_{AFLP} und RHI_{SSR} lag keine Korrelation vor. Dies ist offensichtlich auf die unterschiedlichen Markersysteme zurückzuführen.

Die reziproken Populationen unterscheiden sich auch nicht bezüglich des Homozygotiegrades (Kap. 3.1.5.3). Die Spannbreiten sind hier identisch und die Populationsmittel weichen nur minimal voneinander ab. 46% der Loci weisen nur ein Allel auf, was auf einen relativ hohen Inzuchtgrad der Populationen schließen lässt. Je höher die Anzahl an Loci mit nur einem Allel, desto geringer die Zahl der Loci mit verschiedenen Allelen und damit theoretisch möglichen allelischen Interaktionen. Dieses Ergebnis kann nicht einfach zum RHI in Beziehung gesetzt werden, da beiden Parametern ein unterschiedliches Konzept zugrunde liegt.

Beim 2. Heterozygotie-Parameter (Kap. 3.1.5.4) konnten im Gegensatz zum RHI Unterschiede zwischen den reziproken Populationen festgestellt werden. Population PT weist im Mittel eine signifikant höhere Heterozygotie auf. Durchschnittlich liegen an Loci, die mehr als 1 Fragment zeigen, 2,29 (TP) bzw. 2,48 (PT) Allele vor. Aufgrund der geringen Differenz kann dies jedoch höchstwahrscheinlich vernachlässigt werden. Dafür spricht auch, dass sich diese Differenzen zwischen den Reziproken nicht in den phänotypischen Daten widerspiegeln. Die hier vorliegenden Werte besitzen die selbe Größenordnung wie jene, die auf Basis von RFLPs von BONIERBALE et al. (1993) für eine vergleichbare konventionelle Kreuzung berechnet wurden.

4.2.2 Heterozygotie und Merkmalsvariabilität

Regressionsanalysen erfolgten, um Beziehungen zwischen den Heterozygotie (Homozygotie) -Indizes und Merkmalsausprägungen aufzudecken (Kap. 3.1.5.5). Die Berechnungen wurden für die einzelnen Wiederholungen, wie auch für Mittelwerte durchgeführt. Einige schwache, aber signifikante Korrelationen konnten, mit einer Ausnahme, nur für die Population PT festgestellt werden. Die meisten Korrelationen liegen nur zu einzelnen Wiederholungen und Mittelwerten vor. So zeigt der RHI_{SSR} eine schwache positive Assoziation zum Stärkemittelwert aus 2001 und der 3. Wiederholung dieses Jahres. Ähnliches ist bei Heterozygotie-Index und Einzelstaudenertrag zu beobachten. Eine Ausnahme hiervon stellt die Heterozygotie an nicht homozygoten Loci dar. Dieser Index zeigt positive Korrelationen zu zwei Wiederholungen aus 2001, dem Jahresmittelwert, sowie dem gewogenen Mittel beider Versuchsjahre. Hier scheint also eine gewisse ‚Beständigkeit‘ vorzuliegen. Die meisten positiven Assoziationen liegen zwischen den beiden Heterozygotie-Indizes und dem Stärkegehalt vor.

In der Folge wurde exemplarisch eine Einzelmarkerregression (Kap. 3.1.6) für das Merkmal Stärkegehalt (Mittelwerte) durchgeführt. Diese erfolgte ausschließlich für die Mikrosatelliten-Marker, da jene zuvor schon bei diploiden Populationen kartiert wurden (MILBOURNE et al. 1998). Für beide Populationen konnten hier SSR-Marker ermittelt werden, die mit diesem Merkmal korrelieren und zwar positiv und negativ, wobei erstere deutlich überwiegt. Zwischen Stärkegehalt und einzelnen Fragmenten scheinen insgesamt stärkere Assoziationen zu bestehen, als zwischen diesem Merkmal und den Heterozygotie-Indizes. Einige R^2 -Werte liegen über 0,10. Ein maximaler Wert wird mit 0,184 (Lemalx; 131 bp) erreicht. Nur Marker STM3016 (Fragment 107 bp) liegt bei beiden reziproken Populationen gleichzeitig vor. Dieser kartiert nahe des RFLP-Markers *GP180(a)* (MILBOURNE et al. 1998) der ein Markerintervall auf der Karte der diploiden Population K31 begrenzt, dem ein mutmaßlicher QTL für Stärkegehalt von SCHÄFER-PREGL et al. (1998) zugeordnet wurde.

Sehr interessant ist, dass bei beiden Populationen Korrelationen zwischen verschiedenen Fragmenten von MSK01 und Stärkegehalt vorliegen, hingegen nicht zu Fragmenten, die mittels Primerpaar MSK02 amplifiziert wurden. KAWCHUK et al. (1996) nutzten publizierte Sequenzen (RHODE et al. 1990; VAN DER LEIJ et

al. 1991), um diese Mikrosatelliten-Primer zu entwickeln, die mit dem Stärkesynthese-Gen (*Gbss*) assoziiert sind. Dieses Gen wurde auf Kopplungsgruppe VIII lokalisiert (CHEN et al. 2001).

Auch BONIERBALE et al. (1993) ermittelten stärkere Korrelationen zwischen Ertragsdaten und spezifischen Fragmenten, als mit den Indizes der Heterozygotie. Basierend auf der Analyse von drei unterschiedlich adaptierten Populationen, kamen sie zum Schluss, dass die maximale Heterozygotie keine universelle Maßzahl ist, sondern vom genetischen Hintergrund des zu untersuchenden Materials abhängt.

Dieser Aussage kann man sich aufgrund der vorliegenden Ergebnisse anschließen. Die hier berechneten Parameter scheinen zur Beschreibung von Heterozygotie bzw. Homozygotie innerhalb von Populationen eher ungeeignet.

Jedoch sind die berechneten Indizes hilfreich um zwischen Populationen zu vergleichen. Analog zu den Feldversuchen konnten keine Unterschiede zwischen den reziproken Populationen festgestellt werden.

Ein großes Problem für die Aussagefähigkeit dieser Parameter stellt die Beeinflussung durch die verwendete Markertechnik dar. Die auf Basis von AFLPs bzw. SSRs berechneten RHI-Indizes korrelierten nicht.

4.2.3 Allelfrequenzen der molekularen Marker

Die Allelfrequenzen der SSR- und AFLP-Marker wurden statistisch erfasst und bewertet (Kap. 3.1.5.7). Dies sollte einerseits dazu dienen eventuell beobachtete reziproke Effekte besser interpretieren zu können, andererseits Informationen über die Eignung dieser Marker zur Kartierung Autotetraploider zu erhalten.

Zwischen den Eltern der reziproken Populationen Panda und Thomana konnten mit 10 Primerkombinationen 246 AFLP-Polymorphismen aufgedeckt werden. Die meisten davon zeigten eine 1:1 Simplex-Spaltung, während der geringere Anteil 5:1 (Duplex) spaltete. Insgesamt 39% bzw. 27,7% zeigten eine signifikante Abweichung von diesen erwarteten Spaltungsverhältnissen. Ferner wiesen 55 Marker bei TP und 59 bei PT ein 3:1 Spaltungsverhältnis (Doppelsimplex) auf.

Trotz des etwas unterschiedlichen Anteils an Markern mit gestörter Spaltung, kann keine wesentliche Differenz zwischen den Allelfrequenzen der beiden reziproken Populationen festgestellt werden. Die beobachteten Unterschiede sind höchst-

wahrscheinlich auf die verschiedenen Populationsgrößen zurückzuführen. WU et al. (1992) schätzten, dass 75 Individuen nötig sind, um SDRFs mit 98%igem Vertrauensintervall zu identifizieren. Es ist davon auszugehen, dass bei größerem Populationsumfang eine Fehlerminimierung festzustellen wäre.

Bezüglich der Spaltungsverhältnisse der Mikrosatelliten sind ebenfalls nur geringe Unterschiede zwischen den reziproken Populationen festzustellen (vgl. Tab. 3.23 und 3.24). Auch hier zeigten die meisten Marker ein 1:1, der kleinere Anteil ein 5:1 Spaltungsverhältnis. Bei Population TP weichen 27,3% und bei PT 21,2% der Marker von den erwarteten Verhältnissen ab.

So wie die Feldversuche keine signifikanten Unterschiede zwischen den reziproken Hybriden in der Merkmalsvariabilität erkennen ließen, so sind auch keine wesentlichen Unterschiede bezüglich der Allelfrequenzen zu beobachten. Ein Ergebnis, dass theoretisch zu erwarten war.

Ein relativ großer Teil der Marker zeigte die erwarteten Simplex oder Duplex Spaltungsverhältnisse, über beide Populationen hinweg betrachtet mehr als 50% der polymorphen AFLP- und SSR-Marker (vgl. Tab. 3.21 -3.24).

MEYER et al. (1998) lieferte ein Modell, dass neben Simplex- auch Duplex-Marker einbezieht. Dies würde die Anzahl potentiell kartierbarer Marker zusätzlich erhöhen. Insgesamt sind beide Markertechniken sehr gut dazu geeignet, eine Vielzahl von Polymorphismen zu detektieren.

Wie dieses Ergebnis zeigt, stehen zwar schlagkräftige Techniken zur Analyse autotetraploider Genotypen zu Verfügung, eine Schwachstelle ist jedoch das Fehlen geeigneter Algorithmen, die eine effektive Kartierung solcher komplexer Genome ermöglichen. Speziell die Detektion von Kopplungen in der Repulsionsphase gestaltet sich bei Autopolyploiden mit polysomer Vererbung schwieriger als bei Allopolyploiden mit disomer Vererbung (QU and HANCOCK 2001).

MEYER et al. (1998) stellten eine erste partielle Kopplungskarte basierend auf AFLP-Markern vor. Diese ist als Modell zu betrachten. Zukünftig will diese Gruppe SSRs einsetzen, um diese Karte an vorhandenen diploiden Kopplungskarten auszurichten. Zur zügigen Entwicklung molekularer Marker bei Autotetraploiden scheint hingegen eine 'bulk segregant analysis' (BSA) nach MICHELMORE et al. (1991) anwendungsorientierter zu sein. Jedoch ist dieser Ansatz nur auf monogen vererbte Merkmale zugeschnitten.

4.3 Verwandtschaftsanalyse

Im zweiten Abschnitt dieser Arbeit wurde die genetische Diversität von tetraploiden Kartoffelsorten und Zuchtstämmen mittels AFLP- und SSR-Markern untersucht. Im Mittelpunkt stand die Frage, ob die ermittelten Verwandtschaftsverhältnisse anhand bekannter Stammbäume nachvollziehbar sind. Ein Vergleich der Marker-Systeme erfolgte.

Für beide Marker-Systeme konnte ein hohes Polymorphieniveau festgestellt werden (Kap. 3.2.1). Mit 6 AFLP-Primerkombinationen wurden bei 69 Genotypen insgesamt 529 Fragmente amplifiziert, von denen 359 (67,8%) polymorph vorlagen. Bezogen auf die einzelnen Primerkombinationen konnte ein Polymorphiegrad zwischen 54,88% und 81,01% festgestellt werden. Mit einer Primerkombination wurden zwischen 45-73 (MW: 59,83) polymorphe Fragmente amplifiziert. KIM et al. (1998), die 12 Sorten mit 7 AFLP-Primerkombinationen untersuchten, beobachteten einen höheren Polymorphiegrad von im Durchschnitt 88%. Dies mag einerseits an den anderen Primerkombinationen liegen, die in dieser Arbeit genutzt wurden, wahrscheinlicher ist aber, dass dieser Unterschied auf die untersuchten Genotypen zurückzuführen ist. Im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit, bei der deutsche und holländische Herkünfte im Mittelpunkt standen, untersuchte diese Gruppe Sorten aus Nordamerika, Holland und Japan. Hier ist eine höhere Diversität der Sorten zu erwarten, da sich die Züchtungsschwerpunkte, aber auch die Organisation der Kartoffelzüchtung (privat/staatlich) in Mitteleuropa und den USA unterscheiden. Viele japanische Herkünfte weisen hingegen in ihren Stammbäumen große Sorten aus diesen beiden Pools auf, aber auch Wildherkünfte aus Südamerika wurden eingekreuzt (HOSAKA et al. 1994). Ansonsten wurden bisher wenige Diversitätsanalysen von Kartoffelherkünften mittels AFLPs beschrieben. MILBOURNE et al. (1997) ermittelten in ihren Untersuchungen von vorwiegend anglo-amerikanischen Herkünften (16) ein Polymorphieniveau von 41,75%, während MCGREGOR et al. (2000) mit zwei Primerkombinationen extreme 98,4 % feststellten. Von 248 generierten Fragmenten lagen hier 244 polymorph vor. Sie führten dies auf die Detektionsmethode zurück. Im Gegensatz zu MILBOURNE et al. (1997), die radioaktiv markierte Primer (³³P) verwendeten, führte diese Arbeitsgruppe ebenfalls ihre Analyse nach dem 'AFLP™ Plant Mapping' Protokoll (vgl. Kap. 2.6) durch. SCHWARZ et al. (2000)

stellten fest, dass die multifluorophore Technik im Vergleich zur konventionellen ^{33}P -basierenden AFLP-Analyse eine höhere Auflösung der Amplicons zeigte, wodurch die Anzahl unterscheidbarer Fragmente stieg.

Bei den Mikrosatelliten (Kap. 3.2.1) lagen polymorphe Fragmente zu 98,43% vor, dies bedeutet, dass je Primerpaar durchschnittlich 5,04 polymorphe Produkte amplifiziert wurden. Größenordnungen von über 90% werden auch in den Arbeiten von MILBOURNE et al. (1997) und MCGREGOR et al. (2000) beschrieben.

Zwischen 1 und 12 Allele wurden je Primerpaar detektiert. Bis zu maximal 29 unterschiedliche Muster konnten bei den untersuchten Genotypen durch eine Primerkombination erzeugt werden. Dies steht im Einklang mit anderen Ergebnissen (KAWCHUK et al. 1996; PROVAN et al. 1996; MCGREGOR et al. 2000). Eine hohe Allelzahl wurden auch bei anderen Pflanzenarten aufgedeckt (YANG et al. 1994; RONGWEN et al. 1995, SENIOR et al. 1998; MANIFESTO et al. 2001). Die SSR-Technik wird gerade bei Selbstbefruchtern, die eine geringere genetische Variabilität aufweisen, als sehr effektiv zur Identifizierung von Genotypen angesehen. So konnte bei Weizen gezeigt werden, dass SSRs ein größeres Niveau an intraspezifischer Polymorphie aufzeigen als RFLPs (RÖDER et al. 1995; PLASCHKE et al. 1995).

Auf den AFLP-Markerdaten beruhend, wurden für die untersuchten Genotypen genetische Ähnlichkeiten nach NEI und LI (1979), zwischen 0,55 und 0,90 geschätzt (Kap. 3.2.2). Dies entspricht genetischen Distanzen zwischen 10 und 45%. KIM et al. (1998) führten ihre Analysen nach der Neighbour-Joining-Methode (SAITOU and NEI 1987), basierend auf dem p -Distanzmaß, durch. Für ihr internationales Sortiment ermittelten sie Distanzen zwischen 0,191 und 0,510.

Hier wird ein generelles Problem von Verwandtschaftsanalysen deutlich. Ein uneingeschränkter Vergleich zwischen den genetischen Distanzen aus verschiedenen Arbeiten ist nicht möglich. Dies liegt an der Vielzahl von beschriebenen und auch angewandten Proximitätsmaßen, die Ähnlichkeiten bzw. Distanzen zwischen Objekten unterschiedlich gewichten (BACKHAUS et al. 2000). Jedoch werden am häufigsten die Koeffizienten nach JACCARD (1908), sowie NEI und LI (1979), angewendet. LAMBOY (1994) verglich verschiedene Distanzmaße an RAPD-Daten und konnte zeigen, dass das Distanzmaß nach NEI und LI (1979) von Bandenartefakten weniger beeinflusst wurde als andere Maße. MUMM et al. (1994) verglichen vier verschiedene Distanzmaße anhand der RFLP-Daten von

148 Maisinzuchtlinien. Auch sie stellten fest, dass das Maß nach NEI und LI am besten für die Beschreibung von Verwandtschaftsbeziehungen geeignet ist. In der Regel sind die verschiedenen Koeffizienten hoch korreliert (SCHÖN and LINK, 1997). So stellten MILBOURNE et al. (1997) keine Unterschiede in der Gruppierung von Sorten in Dendrogrammen fest, die basierend auf JACCARD- bzw. NEI und LI-Koeffizienten erstellt wurden. Eine ähnliche Beobachtung machten MACE et al. (1999).

Vollgeschwister zeigten in der vorliegenden Arbeit erwartungsgemäß die größte Ähnlichkeit. Die einzelnen Vollgeschwistergruppen aus den Kreuzungen mit den Sorten Markies und Marlene unterschieden sich nicht wesentlich im Bezug auf die berechneten AFLP-Ähnlichkeitskoeffizienten. Diese lagen mit durchschnittlich über 0,8 überraschend nicht über den Koeffizienten der Halbgeschwisterstämme. Zwischen den Genotypen mit 'Agria-Hintergrund', konnten keine deutlichen Abstufungen hinsichtlich des Verwandtschaftsgrades festgestellt werden. Eindeutig ist jedoch eine Abgrenzung zwischen diesen eng verwandten Genotypen und den restlichen weniger verwandten Sorten zu erkennen. Diese weisen mit 0,68 eine durchschnittlich geringere Ähnlichkeit auf. DEMEKE et al. (1996) beobachteten bei einer Diversitätsanalyse basierend auf RAPDs, eine deutliche, wenn auch geringe, Abstufung der durchschnittlichen Ähnlichkeitskoeffizienten von Verwandtschaftsgruppen. Geschwister zeigten hier im Durchschnitt eine größere Ähnlichkeit als Halbgeschwister und nicht-verwandte Sorten. Die zusätzlich untersuchte Wildart *S. chacoense* wies mit Werten zwischen 0,28-0,33 erwartungsgemäß extrem geringe Ähnlichkeiten zum Kulturmaterial auf. Im Detail betrachtet, stellte diese Arbeitsgruppe jedoch wesentliche Ausnahmen von diesem generellen Trend fest. Verwandte Sorten zeigten teilweise eine größere genetische Differenz, als Sorten die keine unmittelbare Beziehung aufwiesen. Auf der anderen Seite beobachteten HOSAKA et al. (1994), dass RAPD-Bandenmuster eng verwandter Sorten clustern und schlossen daraus, dass solche Muster Reflektionen der Stammbaumbeziehungen sind.

Die auf Datenbasis der Mikrosatelliten berechneten genetischen Ähnlichkeiten (Kap. 3.2.3) liegen deutlich unter jenen, die gestützt auf AFLPs (s.o.) geschätzt wurden. Die Werte streuen hier nur zwischen 0,39 und 0,79. Hier spiegelt sich der höhere Diversitätsindex der SSRs wieder (vgl. Kap. 3.2.5.2). Betrachtet man die

unterschiedlichen Verwandtschaftsgruppen, so ist auffällig, dass bei den Genotypen mit 'Agria-Hintergrund' eine Abstufung vorliegt. Vollgeschwisterstämme zeigen untereinander deutlich die größte Ähnlichkeit. Zwischen den restlichen unterschiedlich stark verwandten Agria-Nachkommen und den Sorten, die einen Ausschnitt aus dem deutschen Sortenspektrum darstellen, ist hingegen keine Abgrenzung zu beobachten. Streuung und Durchschnitt der Koeffizienten zeigen hier keine Unterschiede.

Das auf Basis der AFLP-Marker generierte Dendrogramm (Kap. 3.2.2.1) gibt die Strukturen der Verwandtschaftsgruppen, wie sie von den Ähnlichkeitskoeffizienten aufgezeigt wurden, sehr gut wieder. Dies spiegelt sich auch in dem sehr hohen cophenetischen Korrelationswert von $r_{cs} = 0,92$ wieder. Es liegt eine deutliche Abgrenzung der Agria-Nachkommen vor. Diese Genotypen liegen geschlossen in zwei Unterclustern (vgl. Abb. 9). Das Dendrogramm lässt zusätzliche Strukturen erkennen. So zeigen die Sorten von Untercluster 3 mit 69 bis 83% (MW: 76%) sehr große Ähnlichkeiten zu den Sorten der ersten beiden Cluster. Dies lässt sich auch anhand einiger gemeinsamer Vorfahren wie z.B. Clivia und Quarta nachvollziehen. Hingegen liegt eine geringere genetische Ähnlichkeit (MW: 65 %) zu den Sorten in Untercluster 4 - 6 vor. Dies ist graphisch besonders gut anhand der unterschiedlich ansetzenden Verzweigungspunkte dieser Cluster erkennbar.

Die Gruppierung der meisten Genotypen ist anhand ihrer Stammbäume gut nachvollziehbar und wird ausführlich in Kap. 3.2.2.1 beschrieben. Geschwister bzw. verwandte Sorten sind meist zusammen gruppiert. Die gute Auflösung dieses Dendrogramms spiegelt sich vor allem in der Anordnung der Zuchtstämme wieder. So sind die Stämme ST1675 - ST1690 deutlich mit ihren Eltern Marlene und die Stämme ST824 - ST833, ST1229 - ST1233, sowie ST1370 - ST1376 mit ihrer Mutter Markies zusammengefasst. Die einzelnen Vollgeschwistergruppen sind zudem untereinander recht deutlich voneinander separiert.

Es gibt aber auch einige Einordnungen, die nicht anhand der Stammbäume nachvollziehbar sind. Teilweise könnten hier zusätzliche Hintergrundinformationen zur Abstammung aufklärend beitragen.

Das auf SSR-Markerdaten basierende Dendrogramm (Kap. 3.2.3.1) zeigt keine deutlich abgegrenzten Verwandtschaftsgruppen, wie schon ausgehend von den Koeffizienten zu erwarten war. Es liegt im Gegensatz zum AFLP-Dendrogramm keine deutlich separierte 'Agria-Gruppe' vor. Zwar sind diese Genotypen alle in

den Unterclustern 6-8 (Abb. 10) zusammen platziert und die Zuchtstämme gruppieren um ihren jeweiligen Elter, jedoch sind hier auch Sorten wie Panda, Producent und Kuras, eingeordnet, die keine offensichtliche Verwandtschaftsbeziehung zu diesen Genotypen haben.

Neben der Beurteilung der Dendrogramme nach Stammbaumdaten kam zur weiteren graphischen Verdeutlichung der Zusammenhänge mit einer Hauptkoordinatenanalyse (Kap. 3.2.4) ein weiteres Gruppierungsverfahren zum Einsatz. Die Ergebnisse der Clusteranalyse wurden bestätigt. Die auf Basis der AFLP-Ähnlichkeitsmatrix berechneten Hauptkoordinaten zeigten deutliche Strukturen auf. Aufgrund ihrer unterschiedlichen räumlichen Anordnung (Abb. 11) kann man innerhalb der 'Agria-Gruppe' zwischen Markies und Marlene-Nachkommen differenzieren. Die restlichen, weniger verwandten Sorten, sind von diesen Genotypen getrennt platziert.

Die SSR- Hauptkoordinaten (Abb. 12) lassen hingegen, analog zum Dendrogramm, keine klaren Strukturen bezüglich einer Anordnung nach Verwandtschaftsgruppen erkennen.

Vergleicht man die Markersysteme (Kap. 3.2.5) im Hinblick auf eine praktische Nutzung, so ist grundsätzlich festzustellen, dass beide Systeme mindestens zum ‚Fingerprint‘ geeignet sind, der hinsichtlich des Sortenschutzes von Bedeutung ist. Diese Einsatzmöglichkeit bei der Kartoffel wurde für die wichtigsten molekularen Markertechniken beschrieben (GÖRG et al. 1992; DEMEKE et al. 1993; MORI et al. 1994; SCHNEIDER and DOUCHES 1997; KIM et al. 1998)

An diesem Punkt hören jedoch die meisten Untersuchungen auf. Es wurden bisher selten Versuche unternommen, die molekularen Markerdaten in Beziehung zu bekannten Stammbauminformationen zu setzen, bzw. wenn dies geschah, wurde nur eine kleine Anzahl an Genotypen charakterisiert (MILBOURNE et al. 1997; KIM et al. 1998). Als Begründung wurden meist fehlende Stammbauminformationen angeführt. An dieser Stelle setzte die vorliegende Studie an.

Die Eingruppierung vieler Genotypen reflektiert sowohl im AFLP- als auch im SSR-Dendrogramm bekannte Stammbauminformationen wieder. Dennoch sind einige Unterschiede zwischen den Markersystemen zu beobachten. Mittels der AFLP-Analyse konnten Verwandtschaftsgruppen deutlicher differenziert werden.

Dies zeigt sich besonders, wie oben beschrieben, an der Gruppe der Agria-Nachkommen.

Im Gegensatz dazu ist zwar anhand der SSR-Ahnlichkeitskoeffizienten eine Differenzierung innerhalb der Agria-Gruppe erkennbar, jedoch ist diese nicht deutlich von den restlichen, weniger verwandten Sorten getrennt. In anderen Bereichen zeigt hingegen das SSR-Dendrogramm besser erklärbare Gruppierungen. Hier sei als Beispiel die Anordnung der auf den Stamm MPI65.346/19 zurückgehenden Sorten Aiko, Petra, Ute und Assia genannt.

Die Einordnung einiger Genotypen wie Berber und Gambria ist bei beiden Analysen anhand der Stammbäume nicht nachvollziehbar. Auch DEMEKE et al. (1996) machte bei einer RAPD-Analyse ähnliche Beobachtungen. Eine Ursache hierfür könnten fehlerhafte Stammbauminformationen sein. Ein deutliche Überlegenheit einer der Markertechniken ist an dieser Stelle nicht zu erkennen, wobei leichte Vorteile bei der AFLP-Technik liegen.

Unterschiede zwischen AFLP- und SSR-Dendrogrammen wurden auch von MILBOURNE et al. (1997) beobachtet. Hauptgrund hierfür mag sein, dass die verwendeten Marker-Systeme eine unterschiedliche Art der DNA-Variation detektieren. Bei der AFLP-Technik basieren die Polymorphismen analog zur RFLP-Technik auf Insertion/Deletion, bzw. Punktmutationen in Restriktionsschnittstellen. Zusätzlich können sie aber auch auf Punktmutationen in Sequenzen beruhen, die komplementär zu den Adaptoren oder selektiven Nukleotiden sind (MATTHES et al. 1998). Polymorphismen bei Mikrosatelliten basieren hingegen auf der unterschiedlichen Anzahl einfacher repetitiver Nucleotidmotive (TAUTZ 1989; MORGANTE and OLIVIERI 1993), die vermutlich aufgrund von sogenannter 'slippage' der DNA-Polymerase, während der DNA-Replikation, hervorgerufen werden.

Ferner handelt es sich bei den AFLPs um anonyme Marker. Für viele Pflanzen wurde gezeigt, dass diese Marker weit über das Genom verteilt vorliegen (BECKER et al. 1995; KEIM et al. 1997; MARESHWARAN et al. 1997; WAUGH et al. 1997). Es ist jedoch fraglich, ob hier eine gleichmäßige Abdeckung des Kartoffelgenoms gegeben ist. Die verwendeten Mikrosatelliten wurden hingegen schon kartiert (MILBOURNE et al. 1998) und liegen gleichmäßig verteilt über die 12 Kopplungsgruppen der Kartoffel vor. VIRK et al. (2000) gingen bei Reis (*Oryza*

sativa L.) der Frage nach, ob unterschiedliche Diversitätsmuster durch unkartierte bzw. kartierte AFLP-Marker aufgedeckt werden. Sie konnten zeigen, dass kein Vorteil darin besteht, kartierte Marker zur Schätzung der Diversität einzusetzen.

MILBOURNE et al. (1997) vermuten, dass AFLPs und RAPDs im Vergleich zu den locuspezifischen SSRs empfindlicher gegenüber Introgressionen aus Wildarten sind, was zu Amplifikationsprodukten führen könnte, die kein Pendant in den anderen untersuchten Herkünften haben. Dies würde den Schätzfehler erhöhen.

Auch eine unterschiedliche Anzahl der in die Diversitätsanalyse eingehenden Polymorphismen könnte die Gruppierungen beeinflussen. So liegen hier den Berechnungen 359 AFLP- bzw. 126 SSR-Marker zugrunde. Anhand der AFLPs konnte jedoch gezeigt werden (Kap. 3.2.5.4), dass ab ca. 150 Polymorphismen bzw. 3 oder mehr eingesetzten Primerkombinationen ‚stabile‘ Ergebnisse zu erwarten sind, d.h. keine größeren Umgruppierungen in den Dendrogrammen erfolgten. Ein Vergleich zwischen den beiden Markersystemen scheint also auch auf Basis der unterschiedlichen Anzahl einbezogener Polymorphismen zulässig.

Empfehlungen über eine Mindestanzahl zu analysierender Polymorphismen werden in der Literatur selten angegeben. SPOONER et al. (1996) schätzten, dass 650 polymorphe RAPD-Marker nötig sind, um relativ präzise phenetische Beziehungen auf dem intraspezifischen Niveau aufzudecken. Dies scheint jedoch viel zu hoch gegriffen, wenn man die vorliegenden Ergebnisse betrachtet.

Eine weitere Ursache für die unterschiedliche Gruppierung könnte in der Art der Auswertung polymorpher Fragmente zu finden sein. Diese erfolgte dominant und kann bei den beiden Marker-Systemen aufgrund einer Maskierung der Allel-Dosis, zu unterschiedlich starken Fehlbewertungen der Polymorphismen führen (PROVAN et al. 1996). Hier könnte die Entwicklung einer quantitativen Auswertungsmethode, die z.B. unterschiedlich starke Fluoreszenzsignale der Fragmente berücksichtigt, hilfreich sein.

Eine systematische Anordnung der Genotypen hinsichtlich gleicher Merkmalsausprägungen (Kap. 3.2.5.3) konnte nicht festgestellt werden. So ist im AFLP-Dendrogramm (Abb. 9) eine Trennung zwischen Speise- und Wirtschaftssorten nur angedeutet.

Auch eine Gruppierung nach der Herkunft (Züchter) ist nicht erkennbar. Dies konnte nach Evaluierung der Stammbäume erwartet werden. Viele hervorragende

Genotypen wurden von den verschiedenen Züchtern immer wieder in Kreuzungen eingesetzt. Die Gruppierungen sind also ausschließlich auf die genetische Abstammung zurückzuführen. Diese Beobachtung wird durch andere Arbeiten für die Kulturkartoffel bestätigt (HOSAKA et al. 1994; DEMEKE et al. 1996; PROVAN et al. 1996; KIM et al. 1998). Selten wird über Ausnahmen berichtet. So konnten LOMBARD et al. (2000) bei Rapssorten eine Diskriminierung zwischen Winter- und Sommerformen beobachten.

Zur Bewertung der Markersysteme erfolgte zusätzlich die Berechnung verschiedener Maßzahlen (Kap. 3.2.5.2). Das höchste Polymorphieniveau wurde mit den Mikrosatelliten ermittelt, was sich in dem sehr hohen DI von 0,86 widerspiegelt. Hingegen fällt erwartungsgemäß das durchschnittliche EMR der AFLPs am höchsten aus. Für ein SSR-Primerpaar wurde vorausgesetzt, dass es nur einen Locus aufdecken kann, wohingegen diese Anzahl mit durchschnittlich 88 Loci bei den AFLP-Primerkombinationen deutlich höher lag. Diese Zahlen spiegeln sich im daraus abgeleiteten Markerindex wieder, der für die AFLPs deutlich höher als für die Mikrosatelliten ausfällt. Hier zeigen sich die unterschiedlichen Multiplex-Verhältnisse der beiden Marker-Systeme. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit MILBOURNE et al. (1997). Diese stellten fest, dass der Markerindex in der Reihenfolge AFLPs, RAPDs und SSRs abnimmt. MCGREGOR et al. (2000) stellten hingegen einen größeren DI bei AFLPs fest. Aufgrund der geringen Anzahl eingesetzter Primer sind deren Ergebnisse als fragwürdig anzusehen.

Auch bei anderen Kulturpflanzen wurden ähnliche Ergebnisse festgestellt. BOHN et al. (1998) ermittelten bei der Charakterisierung von Weizensorten für AFLPs den deutlich höchsten MI. Hingegen war der Markerindex für RFLPs kleiner als für Mikrosatelliten. Auch bei Gerste (RUSSEL et al. 1997) und Soja (POWELL et al. 1996) fiel dieser Wert für AFLPs am höchsten und für RFLPs am geringsten aus, während die MI's für SSRs und RAPDs dazwischen lagen.

AFLPs besitzen demnach die größte Schlagkraft, um Diversitätsstudien durchzuführen. Mikrosatelliten weisen zwar den höchsten Diversitätsindex auf, ihre Schwachstelle liegt aber im geringen Multiplex-Index, auch wenn durch unterschiedliche Fluoreszenzmarkierung der Primer eine parallele Auftrennung verschiedener Amplifikationsprodukte möglich und dadurch eine Steigerung der Effektivität erreicht wird. Mit RAPDs konnten zwar teilweise gute Ergebnisse erzielt

werden (HOSKA et al. 1994), Hauptproblem ist hier jedoch die oft berichtete schlechte Reproduzierbarkeit der Ergebnisse (JONES et al. 1997).

Bei der autotetraploiden Kartoffel ist es prinzipiell schwierig exakte Stammbäume aufzustellen, da oft keine Informationen verfügbar sind. Dies erschwert die Planung von Zuchtprogrammen. Mit der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass mittels Mikrosatelliten und speziell mit AFLP-Markern Verwandtschaftsanalysen durchgeführt werden können, deren Ergebnisse sich meist gut mit bekannten Stammbäumen decken. Diese Ergebnisse können von der praktischen Pflanzenzüchtung genutzt werden, um Zuchtprogramme auf Basis genetischer Distanzen effizienter zu planen und durchzuführen.

Die Forcierung einer gezielten Entwicklung von Mikrosatelliten für die Kulturkartoffel (MILBOURNE et al. 1998; ASHKENAZI et al. 2001) ist zukünftig zu erwarten. Diese Markertechnik hat das Potential die bewährten, aber schwer handhabbaren RFLPs als codominanten Marker zu ersetzen. Zusammen mit den AFLPs stehen damit zwei leistungsstarke PCR-gestützte Techniken für genetische Studien der Kartoffel zur Verfügung.

5. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befasste sich mit der Untersuchung des Einflusses von Cytoplasma und Heterozygotie auf die Merkmalsvariabilität von Kreuzungsnachkommenschaften der tetraploiden Kulturkartoffel. Ferner wurde die Eignung zweier PCR-gestützter Markertechniken für die Analyse der genetischen Diversität bei Autotetraploiden evaluiert.

In einem umfangreichen Kreuzungsprogramm wurden reziproke Populationen mit definiertem cytoplasmatischem Hintergrund erstellt, um eine Wirkung unterschiedlicher Plasmen auch bei meiotisch rekombiniertem Kernhintergrund quantifizieren zu können.

Es zeigte sich, dass eine der Plasma-Konfigurationen (W/γ) mit einem Cytoplasmatisch-Männlichen-Sterilitäts System (CMS) in Verbindung steht. Zum ersten mal wurde bei der Kartoffel die Kopplung eines durch molekulare Marker definierten Plasmas mit einer männlichen Sterilität beobachtet. Dieses Plasma ist durch Einkreuzung der Wildart *S. stoloniferum* in das deutsche Sortenspektrum gelangt.

Insgesamt acht Populationen standen im Feldversuch. Signifikante phänotypische Unterschiede zwischen Reziproken und damit ein Einfluss des Plasmas vor allem auf Ertragsparameter, konnten nicht festgestellt werden. Auch eine molekulare Charakterisierung zeigte keine Unterschiede zwischen reziproken Populationen auf.

Molekulare Marker wurden ferner eingesetzt, um die Beziehung zwischen maximaler Heterozygotie und der Merkmalsvariabilität zu analysieren. Es konnten nur wenige, schwache Beziehungen zwischen den berechneten Indizes und Merkmalsausprägungen ermittelt werden. Auffällig war hier eine positive Assoziation zwischen Heterozygotie und Stärkegehalt.

Eine exemplarische Einzelmarkerregression zeigte jedoch, dass zwischen einzelnen Mikrosatelliten-Markern und dem Stärkegehalt insgesamt stärkere Assoziationen bestehen. Dies deutet darauf hin, dass die maximale Heterozygotie keine absolute Maßzahl für die Leistungsfähigkeit ist und die berechneten Parameter nur eine sehr eingeschränkte Aussagefähigkeit haben.

Mittels der AFLP- und der SSR-Technik wurde die genetische Diversität von tetraploiden Sorten und Zuchtstämmen analysiert. Die auf Datenbasis der Mikrosatelliten berechneten genetischen Ähnlichkeiten liegen insgesamt deutlich unter jenen, die auf AFLP-Markerdaten beruhen.

Eine deutliche Differenzierung zwischen den Genotypen war mit beiden Techniken möglich. Die Anordnung vieler Genotypen reflektiert sowohl im AFLP- als auch im SSR-Dendrogramm bekannte Stammbauminformationen.

Eine Hauptkomponentenanalyse zeigte, dass vor allem mittels AFLP-Analyse Verwandtschaftsgruppen deutlich differenziert werden können.

Zur Bewertung der Markersysteme erfolgte zusätzlich die Berechnung verschiedener Maßzahlen. Der daraus abgeleitete Markerindex fällt für die AFLPs deutlich höher als für die Mikrosatelliten aus. Hier spiegeln sich die unterschiedlichen Multiplex-Verhältnisse der beiden Marker-Systeme wieder.

Mit Mikrosatelliten und AFLPs stehen zwei leistungsstarke PCR-gestützte Techniken für genetische Studien der Kartoffel zur Verfügung.

6. Literatur

- ABDALLA, M.M.F. and M.S. RAMANNA, 1971: Male sterility in *Solanum polytrichon* x *S. phureja* hybrid, caused by plasmon genetic interaction and its significance. *Euphytica* 20, 482-489.
- AKKAYA, M.S.; BHAGWATT, A.A. and P.B. CREGAN, 1992: Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean. *Genetics* 132, 1131-1139.
- ASHKENAZI, V.; CHANI, E.; LAVI, U.; LEVY, D.; HILLEL, J. and R.E. VEILLEUX, 2001: Development of microsatellite markers in potato and their use in phylogenetic and fingerprinting analysis. *Genome* 44, 50-62.
- BACKHAUS, K.; ERICHSON, B.; PLINKE, W. and R. WEIBER, 2000: *Multivariate Analysemethoden*. Springer Verlag, Berlin, 661 p.
- BAMBERG, J.B., 1995: Screening potato (*Solanum*) species for male fertility under heat stress. *Amer. Potato J.* 72, 23-33.
- BARONE, A.; RITTER, E.; SCHACHTSCHABEL, U.; DEBENER, T.; SALAMINI, F. and C. GEBHARDT, 1990: Localisation by restriction fragment length polymorphism mapping in potato of a major dominant gene conferring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Mol. Gen. Genet.* 224, 177-182.
- BASTIA, T.; CAROTENUTO, N.; BASILE, B.; ZOINA, A. and T. CARDI, 2000: Induction of novel organelle DNA variation and transfer of resistance to frost and Verticillium wilt in *Solanum tuberosum* through somatic hybridisation with 1 EBN *S. commersonii*. *Euphytica* 116, 1-10.
- BECKER, J.; VOS, P.; KUIPER, M.; SALAMINI, F. and M. HEUN, 1995: Combined mapping of AFLP and RFLP markers in barley. *Mol. Gen. Genet.* 249, 65-73.
- BENDAHMANE, A.; KANYUKA, K. and D.C. BAULCOMBE, 1997: High-resolution genetical and physical mapping of the Rx gene for extreme resistance to potato virus X in tetraploid potato. *Theor. Appl. Genet.* 95, 153-162.
- BERNATZKY, R. and S.D. TANKSLEY, 1986: Towards a saturated linkage map of tomato based on isozymes and random cDNA sequences. *Genetics* 112, 887-898.
- BINGHAM, E.T., 1980: Maximizing heterozygosity in autopolyploids. In *Polyploidy: Biological relevance*, LEWIS, W.H. (ed.), Plenum Press, New York, pp. 471-489.
- BOHN, M.; UTZ, H.F. and A.E. MELCHINGER, 1998: Untersuchung zur genetischen Distanz zwischen Winterweizensorten mit AFLP, RFLP und SSR Markern und deren Beziehung zur Aufspaltungsvarianz und Brauchbarkeit von Kreuzungen. Bericht über die 49. Arbeitstagung 1998 der Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter. BAL Gumpenstein, Irdning, pp. 1-7.

- BONIERBALE, M.W.; PLAISTED, R.L. and S.D. TANKSLEY, 1988: RFLP maps based on a common set of clones reveal modes of chromosomal evolution in potato and tomato. *Genetics* 120, 1095-1103.
- BONIERBALE, M.W.; PLAISTED, R.L. and S.D. TANKSLEY, 1993: A test of the maximum heterozygosity hypothesis using molecular markers in tetraploid potatoes. *Theor. Appl. Genet.* 86, 481-491.
- BRADSHAW, J.E. and G.R. MACKAY, 1994: Breeding strategies for clonally propagated potatoes. In: *Potato genetics*, BRADSHAW, J.E. and G.R. MACKAY (eds.), CAB International, Wallingford, pp. 467-497.
- BRADSHAW, J.E.; HACKETT, C.A.; MEYER, R.C.; MILBOURNE, D.; McNICOL, J.W.; PHILLIPS, M.S. and R. WAUGH, 1998: Identification of AFLP and SSR markers associated with quantitative resistance to *Globodera pallida* (Stone) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*) with a view to marker-assisted selection. *Theor. Appl. Genet.* 97, 202-210.
- BRADSHAW, J.E.; TODD, D. and R.N. WILSON, 2000: Use of tuber progeny tests for genetical studies as part of a potato (*Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*) breeding programme. *Theor. Appl. Genet.* 100, 772-781.
- BRIGNETI, G.; GARCIA-MAS, J. and D.C. BAULCOMBE, 1997: Molecular mapping of the potato virus Y resistance gene *Ry_{sto}* in potato. *Theor. Appl. Genet.* 94, 198-203.
- BUCKNER, B. and B.B. HYDE, 1982: Characterization and comparison of chloroplast DNA in several *Solanum tuberosum* subspecies involved in cytoplasmic sterility. *J. Cell Biol.* 95, 274a.
- BUNDESSORTENAMT, 1996: Beschreibende Sortenliste: Landbuch Verlagsgesellschaft, Hannover, pp. 109.
- BUNDESSORTENAMT, 2001: Beschreibende Sortenliste: Landbuch Verlagsgesellschaft, Hannover, pp. 112.
- CARDI, T.; BASTIA, L.; MONTI, L. and E.D. EARLE, 1999: Organelle DNA and male fertility variation in *Solanum* spp. and interspecific somatic hybrids. *Theor. Appl. Genet.*, 99, 819-828.
- CHASE, S.S., 1963: Analytical breeding in *Solanum tuberosum* L.- a scheme utilising parthenotes and other diploid stocks. *Can. J. Genet. Cytol.* 5, 359-363.
- CHEN, X.; SALAMINI, F. and C. GEBHARDT, 2001: A potato molecular-function map for carbohydrate metabolism and transport. *Theor. Appl. Genet.* 102, 284-295.
- CLARK, C.F., 1927: Types of sterility in wild and cultivated potatoes. *Mem. hort. Soc., N.Y.* 3, 289-294.

- COLLINS, A.; MILBOURNE, D.; RAMSAY, L.; MEYER, R.; CHATOT-BALANDRAS, C.; OBERHAGEMANN, P.; DE JONG, W.; GEBHARDT, C.; BONNEL, E. and R. WAUGH, 1999: QTL for field resistance to late blight in potato are strongly correlated with maturity and vigour. *Mol. Breed.* 5, 387-398.
- DEMARLY, Y., 1963: Genetique des tetraploides et amelioration des plantes. *Ann. Amelio. Plant.* 13, 307-400.
- DEMEKE, T.; KAWCHUK, L.M. and D.R. LYNCH, 1993: Identification of potato cultivars and clonal variants by random amplified polymorphic DNA analysis. *Am. Potato J.* 70, 561-570.
- DEMEKE, T.; LYNCH, D.R.; KAWCHUK, L.M.; KOZUB G.C. and J.D. ARMSTRONG, 1996: Genetic diversity of potato determined by random amplified polymorphic DNA analysis. *Plant Cell Reports* 15, 662-667.
- DEWEY, R.E.; LEVINGS III, C.S. and D.H. TIMOTHY, 1986: Novel recombinations in the maize mitochondrial genome produce a unique transcriptional unit in the Texas male-sterile cytoplasm, *Cell* 44, 439-449.
- DEWEY, R.E.; TIMOTHY, D.H. and C.S. LEVINGS III, 1987: A mitochondrial protein associated with cytoplasmic male sterility in the T cytoplasm of maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 5374-5378.
- DICE, C.R., 1945: Measures of the amount of ecologic associations between species. *Ecology* 26, 297-302.
- DUNBIER, M.W. and E.T. BINGHAM, 1975: Maximum heterozygosity in alfalfa: Results using haploid-derived autotetraploids. *Crop Sci.* 15, 527-531.
- EL-KHARBOTLY, A.; LEONARDS-SCHIPPERS, C.; HUIGEN, D.J.; JACOBSEN, E.; PEREIRA, A.; STIEKEMA, W.J.; SALAMINI, F. and C. GEBHARDT, 1994: Segregation analysis and RFLP mapping of the *R1* and *R3* alleles conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* in progeny of dihaploid potato parents. *Mol. Gen. Genet.* 242, 749-754.
- EL-KHARBOTLY, A.; PALOMINO-SANCHEZ, C.; SALAMINI, F.; JACOBSEN, E. and C. GEBHARDT, 1996: *R6* and *R7* alleles of potato conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary identified genetic loci clustering with the *R3* locus on chromosome XI. *Theor. Appl. Genet.* 92, 880-884.
- ENGEL, K.H., 1956: Untersuchungen an reziproken Kreuzungspopulationen von Kulturkartoffeln. *Der Züchter* 26, 33-36.
- FRANSEN, N.O., 1967: Haploidproduktion aus einem Kartoffelzuchtmaterial mit intensiver Wildarteinkreuzung. *Der Züchter* 37: 120-134.
- FREISTRITZER, W., 1952: Die Selbstungsanalyse, eine Voraussetzung für die Kreuzungszucht der Kartoffel. *Z. Pflanzenzuecht.* 31, 173-195.

- FREYRE, R.; WARNKE, S.; SOSINSKI, B. and D.S. DOUCHES, 1994: Quantitative trait locus analysis of tuber dormancy in diploid potato (*Solanum* spp.). *Theor. Appl. Genet.* 89, 474-480.
- GEBHARDT, C.; BLOMENDAHL, C.; SCHACHTSCHABEL, U.; DEBENER, T.; SALAMINI, F. and E. RITTER, 1989a: Identification of 2n breeding lines and 4n varieties of potato (*Solanum tuberosum*, ssp. *tuberosum*) with RFLP-fingerprints. *Theor. Appl. Genet.* 78, 16-22.
- GEBHARDT, C.; RITTER, E.; DEBENER, T.; SCHACHTSCHABEL, U.; WALKEMEIER, B.; UHRIG, H. and F. SALAMINI, 1989b: RFLP analysis and linkage mapping in *Solanum tuberosum*. *Theor. Appl. Genet.* 78, 65-75.
- GEBHARDT, C.; RITTER, E.; BARONE, A.; DEBENER, T.; WALKEMEIER, B.; SCHACHTSCHABEL, U.; KAUFMANN, H.; THOMPSON, R.D.; BONIERBALE, M.W. and M.W. GANAL, 1991: RFLP maps of potato and their alignment with the homoeologous tomato genome. *Theor. Appl. Genet.* 83, 49-57.
- GEBHARDT, C.; MUGNIERY, D.; RITTER, E.; SALAMINI, F. and E. BONNEL, 1993: Identification of RFLP markers closely linked to the *H1* gene conferring resistance to *Globodera rostochiensis* in potato. *Theor. Appl. Genet.* 85, 541-544.
- GLENDINNING, D.R., 1983: Potato introductions and breeding up to the early 20th century. *New Phytol.* 94, 479-505.
- GOPAL, J., 1994: Flowering behaviour, male sterility and berry setting in tetraploid *Solanum tuberosum* germplasm. *Euphytica* 72, 133-142.
- GÖRG, R.; SCHACHTSCHABEL, U.; RITTER, E.; SALAMINI, F. and C. GEBHARDT, 1992: Discrimination among 136 tetraploid potato varieties by fingerprints using highly polymorphic DNA markers. *Crop Sci.* 32, 815-819.
- GRUN, P.; OCHOA, C. and D. CAPAGE, 1977: Evolution of cytoplasmic factors in tetraploid cultivated potatoes. *Am. J. Bot.* 64; 412-420.
- GRUN, P., 1979: Evolution of the cultivated potato: a cytoplasmic analysis. In: *Biology and taxonomy of the Solanaceae*, HAWKES, J.G.; LESTER, R.N. and A.D. SKELDING (Eds.), Academic Press, London, pp. 655-665.
- HACKETT, C.A.; BRADSHAW, J.E.; MEYER, R.C.; McNICOL, J.W. and D. MILBOURNE, 1998: Linkage analysis in tetraploid species: a simulation study. *Genet. Res. Camb.* 71, 143-154.
- HAMESTER, W. and U. HILS, 1999: *World catalogue of potato varieties*. Agrimedia-Verlag, Bergen/Dumme, 208 p.
- HAWKES, J., 1990: *The potato: evolution, biodiversity and genetic resources*. Bedhaven Press, London, 259 p.

- HAWKES, J., 1994: Origins of cultivated potatoes and species relationships. In: Potato genetics, BRADSHAW, J.E. and G.R. MACKAY (eds.), CAB International, Wallingford, pp. 3-42.
- HELGESON, J.P.; HABERLACH, G.T.; EHLENFELDT, M.K.; HUNT, G.; POHLMANN, J.D. and S. AUSTIN, 1993: Fertile somatic hybrids of potato and wild *Solanum* species: potential for use in breeding programs. Am. Potato J. 70, 437-452.
- HERMSEN, J.G.T. and J. VERDENIUS, 1973: Selection from *Solanum tuberosum* group *Phureja* of genotypes combining high frequency haploid induction with homozygosity for embryo spot. Euphytica 22: 244-259.
- HILALI, A.; LAUER, F.I. and R.E. VEILLEUX, 1987: Reciprocal differences between hybrids of *Solanum tuberosum* groups *tuberosum* (haploid) and *Phureja*. Euphytica 36, 631-639.
- HOFFERBERT, H.R., 1996: Erstellung und Selektion dihaploider Genotypen zur gezielten Kombinationszüchtung bei Kartoffeln. Diss. Technische Universität München, 125 p.
- HOOPES, R.W., PLAISTED, R.L. and A.G. CUBILLOS, 1980: Yield and fertility of reciprocal-cross *tuberosum-andigena* hybrids. Am. Potato J. 57, 275-284.
- HORN, R.; KÖHLER, R.H. and K. ZETSCHKE, 1991: A mitochondrial 16 kD protein is associated with cytoplasmic male sterility in sunflower. Plant Mol. Biol. 17, 29-36.
- HOSAKA, K. and R.E. HANNEMAN, 1988a: Origin of chloroplast DNA diversity in the Andean potatoes. Theor. Appl. Genet. 76, 333-340.
- HOSAKA, K. and R.E. HANNEMAN, 1988b: The origin of the cultivated tetraploid potato based on chloroplast DNA. Theor. Appl. Genet. 76, 172-176.
- HOSAKA, K.; MORI, M. and K. OGAWA, 1994: Genetic relationships of Japanese potato cultivars assessed by RAPD analysis. Am. Potato J. 71, 535-546.
- HOUGAS, R.W. and S.J. PELOQUIN, 1957: A haploid plant of the potato variety Kathadin. Nature 180, 1209-1210.
- HOUGAS, R.W. and S.J. PELOQUIN, 1958: The potential of potato haploids in breeding and genetic research. Am. Potato Journal 35, 701-707.
- HOUGAS, R.W.; PELOQUIN, S.J. and A.C. GABERT, 1964: Effect of seed-parent and pollinator on frequency of haploids in *Solanum tuberosum*. Crop Sci. 4, 593-595.
- HUTTEN, R.C.B.; SCHOLBERG, E.J.M.M.; HUIGEN, D.J.; HERMSEN, J.G.T. and E. JACOBSEN, 1994: Analysis of dihaploid induction and production ability and seed parent x pollinator interaction in potato. Euphytica 72: 61-64.

- JACCARD, P., 1908: Nouvelles recherches sur la distribution florale. Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat. 44, 223-270.
- JANSSEN, A.W.B. and J.G.T. HERMSEN, 1976: Estimating of pollen fertility in *Solanum* sps. and haploids. Euphytica 25, 577-586.
- JOHNS, C.; LU, M.; LYZNIK, A. and S. MACKENZIE, 1992: A mitochondrial DNA sequence is associated with abnormal pollen development in cytoplasmic male sterile bean plants. Plant Cell 4, 435-449.
- JONES, C.J.; EDWARDS, K.J.; CASTAGLIONE, S.; WINFIELD, M.O.; SALA, F.; VAN DE WIEL, C.; BREDEMEIJER, G.; VOSMAN, B.; MATTHES, M.; DALY, A.; BRETTSCHEIDER, R.; BETTINI, P.; BUIATTI, M.; MAESTRI, E.; MALCEVSCHI, A.; MARMIROLI, N.; AERT, R.; VOLKAERT, G.; RUEDA, J.; LINACERO, R.; VAZQUEZ, A. and A. KARP, 1997: Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. Mol. Breed. 3, 381-390.
- KAWCHUK, L.M.; LYNCH, D.R.; THOMAS, B.; PENNER, B.; SILLITO, D. and F. KULCSAR, 1996: Characterization of *Solanum tuberosum* simple sequence repeats and application to potato cultivar identification. Am. Potato J. 73, 325-335.
- KEIM, P.; SCHUPP, J.M.; TRAVIS, S.E.; CLAYTON, K.; ZHU, T.; SHI, L.; FERREIRA, A. and D.M. WEBB, 1997: A high-density soybean genetic map based on AFLP markers. Crop. Sci. 37, 537-543.
- KEMBLE, R.J.; BARSBY, T.L.; WONG, R.S.C. and J.F. SHEPARD, 1986: Mitochondrial DNA rearrangements in somatic hybrids of *Solanum tuberosum* and *Solanum brevidens*. Theor. Appl. Genet. 72, 787-793.
- KIM, J.H.; JOUNG, H.; KIM, H.Y. and Y.P. LIM, 1998: Estimation of genetic variation and relationship in potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars using AFLP markers. Amer. J. of Potato Res. 75, 107-112.
- KÖHLER, R.; HORN, R.; LÖSSL, A. and K. ZETSCHKE, 1991: Cytoplasmic male sterility in sunflower is correlated with the co-transcription of a new open reading frame with the *atpA* gene. Mol. Gen. Genet. 66, 369-376.
- KÖHLER, W., SCHACHTEL, G. and G. VOLESKE, 1992: Biostatistik. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 255 p.
- KREIKE, C.M.; DE KONING, J.R.A.; VINKE, J.H.; VAN OIJEN, J.W. and W.J. STIEKEMA, 1994: Quantitatively-inherited resistance to *Globodera pallida* is dominated by one major locus in *Solanum spegazzinii*. Theor. Appl. Genet. 88, 764-769.
- LAMBOY, W.F., 1994: Computing genetic similarity coefficients from RAPD data - the effects of PCR artifacts. PCR Meth. Appl. 4, 31-37.

- LASER, K.D. and N.R. LERSTEN, 1972: Anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterile angiosperms. *Bot. Rev.* 38, 425-454.
- LEONARDS-SCHIPPERS, C.; GIFFERS, W.; SALAMINI, F. and C. GEBHARDT, 1992: The *R1* gene conferring race specific resistance to *Phytophthora infestans* in potato is located on potato chromosome V. *Mol. Gen. Genet.* 233, 278-283.
- LEONARDS-SCHIPPERS, C.; GIEFFERS, W.; SCHÄFER-PREGL, R.; RITTER, E.; KNAPP, S.J.; SALAMINI, F. and C. GEBHARDT, 1994: Quantitative resistance to *Phytophthora infestans* in potato: A case study for QTL mapping in an allogamous plant species. *Genetics* 137, 67-77.
- LEVINGS, C.S.I., 1990: The Texas cytoplasm of maize: cytoplasmic male sterility and disease susceptibility. *Science* 250, 942-947.
- LOESSL, A.; FREI, U. and G. WENZEL, 1994: Interaction between cytoplasmic composition and yield parameters in somatic hybrids of *S. tuberosum* L.. *Theor. Appl. Genet.* 89, 873-878.
- LOESSL, A.; BRAUN, A.; FREI, U. and G. WENZEL, 1998: Cytoplasmic genome configurations and field performance in somatic hybrids of potato. In: Beiträge zur Züchtungsforschung, 4 Jg., Heft 2. Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen (Hrsg.), p. 123-127.
- LOESSL, A.; ADLER, N., HORN, R., FREI, U. and G. WENZEL, 1999: Chondriome-type characterization of potato: mt α , β , γ , δ , ϵ and novel plastid mitochondrial configurations in somatic hybrids. *Theor. Appl. Genet.* 99, 1-10.
- LOESSL, A.; GOETZ, M.; BRAUN, A. and G. WENZEL, 2000: Molecular markers for cytoplasm in potato: male sterility and contribution of different plastid-mitochondrial configurations to starch production. *Euphytica* 116, 221-230.
- LOMBARD, V.; BARIL, C.P.; DUBREUIL, P.; BLOUET, F. and D. ZHANG, 2000: Genetic relationship and fingerprinting of rapeseed cultivars by AFLP: Consequences for varietal registration. *Crop Sci.* 40, 1417-1425.
- LÜBBERSTEDT, T.; MELCHINGER, A.E.; DUßLE, C.; VUYLSTEKE, M. and M. KUIPER, 2000: Relationships among early European maize inbreds: IV. Genetic diversity revealed with AFLP markers and comparison with RFLP, RAPD and pedigree data. *Crop Sci.* 40, 783-791.
- LUO, Z.W.; HACKETT, C.A.; BRADSHAW, J.E.; McNICHOL, J.W. and D. MILBOURNE, 2000: Predicting parental genotypes and gene segregation for tetrasomic inheritance. *Theor. Appl. Genet.* 100, 1073-1076.
- MACE, E.S.; LESTER, R.N. and C.G. GEBHARDT, 1999: AFLP analysis of genetic relationship among the cultivated eggplant, *Solanum melongena* L., and wild relatives (*Solanaceae*). *Theor. Appl. Genet.* 99, 626-633.

- MACKENZIE, S.; SHICHUAN, H. and A. LYZNIK, 1994: The elusive plant mitochondrion as a genetic system. *Plant Physiol.* 105, 775-780.
- MARESHWARAN, M.; SUBUDHI, P.K.; NANDI, S.; XU, J.C.; PARCO, A.; YANG, D.C. and N. HUANG, 1997: Polymorphism, distribution and segregation of AFLP markers in a doubled haploid rice population. *Theor. Appl. Genet.* 94, 39-45.
- MANIFESTO, M.M.; SCHLATTER, A.R.; HOPP, H.E.; SUAREZ, E.Y. and J. DUBCOVSKY, 2001: Quantitative evaluation of genetic diversity in wheat germplasm using molecular markers. *Crop Sci.* 41, 682-690.
- MARCZEWSKI, W.; OSTROWSKA, K. and E. ZIMNOCH-GUZOWSKA, 1998: Identification of RAPD markers linked to the *Ns* locus in potato. *Plant Breeding* 117, 88-90.
- MARCZEWSKI, W.; TALARCZYK, A. and J. HENNING, 2001: Development of SCAR markers linked to the *Ns* locus in potato. *Plant Breeding* 120, 88-90.
- MARIS, B., 1989: Analysis of an incomplete diallel cross among three ssp. *tuberosum* varieties and seven long-day adapted ssp. *andigena* clones of the potato (*Solanum tuberosum* L.). *Euphytica* 41, 163-182.
- MATTHEIJ, W.M.; EIJLANDER, R.; de KONING, J.R.A. and K.M. LOUWES, 1992: Interspecific hybridization between the cultivated potato *Solanum tuberosum* L. and the wild species *S. circaefolium* subsp. *circaeifolium* Bitter exhibiting resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary and *Globodera pallida* (Stone) Behrens. *Theor. Appl. Genet.* 83, 459-466.
- MATTHES, M.C.; DALY, A. and K.J. EDWARDS, 1998: Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). In: *Molecular tools for screening biodiversity*, KARP, A.; ISAAC, P.G. and D.S. INGRAM (eds.), Chapman and Hall, London, pp. 183-192.
- MATTHEWS, D.; McNICHOL, J.; HARDING, K. and S. MILLIAM, 1999: 5'-anchored simple sequence repeat primers are useful for analysing potato somatic hybrids. *Plant Cell Rep.* 19, 210-212.
- McGREGOR, C.E.; LAMBERT, C.A.; GREYLING, M.M.; LOUW, J.H. and L. WARNICH, 2000: A comparative assessment of DNA fingerprinting techniques (RAPD, ISSR, AFLP and SSR) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.). *Euphytica* 113, 135-144.
- MELCHERS, G.; MOHRI, Y.; WATANABE, K.; WAKABAYASHI, S. and K. HARADA, 1992: One-step generation of cytoplasmic male sterility by fusion of mitochondrial-inactivated tomato protoplasts with nuclear-inactivated *Solanum* protoplasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 6832-6836.
- MENDIBURU, A.O., PELOQUIN, S.J. and D.W.S. MOK, 1974: Potato breeding with haploids and 2n gametes. In: *Haploids in higher plants*, KASHA, K. (ed.), University of Guelph, Ontario, pp. 249-258.

- MENDOZA, H.A. and F.L. HAYNES, 1974: Genetic basis of heterosis for yield in the autotetraploid potato. *Theor. Appl. Genet.* 45, 21-25.
- MEYER, R.C.; MILBOURNE, D.; HACKETT, C.A.; BRADSHAW, J.E.; McNICHOL, J.W. and R. WAUGH, 1998: Linkage analysis in tetraploid potato and association of markers with quantitative resistance to late blight (*Phytophthora infestans*). *Mol. Gen. Genet.* 259, 150-160.
- MICHELMORE, R.W.; PARAN, I. and R.V. KESSELI, 1991: Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 9828-9832.
- MILBOURNE, D.; MEYER, R.; BRADSHAW, J.E.; BAIRD, E.; BONAR, N.; PROVAN, J.; POWELL, W. and R. WAUGH, 1997: Comparison of PCR-based marker systems for the analysis of genetic relationships in cultivated potato. *Mol. Breed.* 3, 127-136.
- MILBOURNE, D.; MEYER, R.C.; COLLINS, A.J.; RAMSAY, L.D.; GEBHARDT, C. and R. WAUGH, 1998: Isolation, characterization and mapping of simple sequence repeat loci in potato. *Mol. Gen. Genet.* 259, 233-245.
- MOHAN, M.; NAIR, S.; BHAGWAT, A.; KRISHNA, T.G.; YANO, M.; BHATIA, C.R. and T. SASAKI, 1997: Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Mol. Breed.* 3, 87-103.
- MONEGER, F.; SMART, C.J. and C.J. LEAVER, 1994: Nuclear restoration of cytoplasmic male sterility in sunflower is associated with the tissue-specific regulation of a novel mitochondrial gene. *EMBO J.* 13, 8-17.
- MORGANTE, M. and A.M. OLIVIERI, 1993: PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant J.* 3, 175-182.
- MORI, M.; HOSAKA, K.; UMEMURA, Y. and C. KANWEDA, 1993: Rapid identification of Japanese potato cultivars by RAPDs. *Jpn. J. Genet.* 68, 167-174.
- MORTENSON, L.R.; PELOQUIN, S.J. and R.W. HOUGAS, 1964 Germination of *Solanum* pollen on artificial media. *Am. Potato J.* 41, 322-328.
- MULLIS, K.B. and F.A. FALOONA, 1987: Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase catalysed chain reaction. *Meth. Enzymol.* 255, 335-350.
- MUMM, R.H.; HUBERT, L.J. and J.W. DUDLEY, 1994: A classification of 148 U.S. maize inbreds: II. Validation of cluster analysis based on RFLPs. *Crop. Sci.* 34, 852-865.
- MUNZERT, 1992: Einführung in das pflanzenbauliche Versuchswesen. Paul Parey Verlag, Berlin, Hamburg, 163 p.

- NEI, M., 1973: Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 70: 3321-3323.
- NEI, M. and W.H. LI, 1979: Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 5269-5273.
- NIEWÖHNER, J.; SALAMINI, F. and C. GEBHARDT, 1995: Development of PCR assays diagnostic for RFLP marker alleles closely linked to alleles Gro1 and H1, conferring resistance to the root cyst nematode *Globodera rostochiensis* in potato. Mol. Breed. 1, 65-78.
- NITSCHKE, W. and G. WENZEL, 1977: Haploids in plant breeding. Paul Parey Verlag, Berlin, Hamburg.
- NIVISON, H.T. and R.M. HANSON, 1989: Identification of a mitochondrial protein associated with cytoplasmic male sterility in *Petunia*. Plant Cell 1, 1121-1130.
- NYMANN, M. and S. WAARA, 1997: Characterization of somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and its frost-tolerant relative *Solanum commersonii*. Theor. Appl. Genet. 95, 1127-1132.
- OBERHAGEMANN, P.; CHATOT-BALANDRAS, C.; SCHÄFER-PREGL, R.; WEGENER, D.; PALOMINO, C.; SALAMINI, F.; BONNEL, E. and C. GEBHARDT, 1999: A genetic analysis of quantitative resistance to late blight in potato: towards marker-assisted selection. Mol. Breed. 5, 399-415.
- PERL, A.; AVIV, D. and E. GALUN, 1990a: Protoplast-fusion-derived *Solanum* cybrids: application and phylogenetic limitations. Theor. Appl. Genet. 79, 632-640.
- PERL, A.; AVIV, D. and E. GALUN, 1990b: Protoplast fusion derived CMS potato cybrids. J. of Heredity 81, 438-442.
- PERL, A.; AVIV, D. and E. GALUN, 1991: Nuclear-organelle interaction in *Solanum*: Interspecific cybridisations and their correlation with a plastome dendrogramme. Mol. Gen. Genet. 228, 193-200.
- PINEDA, O.; BONIERBALE, M.W.; PLAISTED, R.L.; BRODIE, B.B. and S.D. TANKSLEY, 1993: Identification of RFLP markers linked to the *H1* gene conferring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. Genome 36, 152-156.
- PLASCHKE, J.; GANAL, M.W. and M.S. RÖDER, 1995: Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. Theor. Appl. Genet. 91, 1001-1007.
- POWELL, W.; BAIRD, E.; DUNCAN, N. and R. WAUGH, 1993: Chloroplast DNA variability in old and recently introduced potato cultivars. Ann. appl. Biol. 123, 403-410.

- POWELL, W.; MORGANTE, M.; ANDRE, C.; HANAFEY, M.; VOGEL, J.; TINGEY, S. and A. RAFALSKI, 1996: The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol. Breed.* 2, 225-238.
- PROVAN, J.; POWELL, W. and R. WAUGH, 1996: Analysis of cultivated potato (*Solanum tuberosum*) using intermicrosatellite amplification. *Genome* 39, 767-769.
- PROVAN, J.; POWELL, W. and R. WAUGH, 1996a: Microsatellite analysis of relationships within cultivated potato (*Solanum tuberosum*). *Theor. Appl. Genet.* 92, 1078-1084.
- PROVAN, J.; KUMAR, A.; SHEPERD, L.; POWELL, W. and R. WAUGH, 1996b: Analysis of intra-specific somatic hybrids of potato (*Solanum tuberosum*) using simple sequence repeats. *Plant Cell Rep.* 16, 196-199.
- PROVAN, J.; POWELL, W.; DEWAR, H.; BRYAN, G.; MACHRAY, G.C. and R. WAUGH, 1999: An extreme cytoplasmic bottleneck in the modern European cultivated potato (*Solanum tuberosum*) is not reflected in decreased levels of nuclear diversity. *Proc. R. Soc. Lond. B* 266, 633-639.
- QU, L. and J.F. HANCOCK, 2001: Detecting and mapping repulsion-phase linkage in polyploids with polysomic inheritance. *Theor. Appl. Genet.* 103, 136-143.
- RIPOL, M.I.; CHURCHILL, G.A.; DaSILVA, J.A.G.; and M. SORELLS, 1999: Statistical aspects of genetic mapping in autopolyploids. *Gene* 235, 31-41.
- RÖDER, M.S.; PLASCHE, J.; KÖNIG, S.U.; BÖRNER, A.; SORELLS, M.E.; TANKSLEY, S.D. and M.W. GANAL, 1995: Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Mol. Gen. Genet.* 246, 327-333.
- ROHDE, W.; BECKER, D.; KULL, B. and F. SALAMINI, 1990: Structural and functional analysis of two waxy gene promoters from potato. *J. Genet. Breed.* 44, 311-315.
- ROLF, F.J., 2000: NTSYS numerical taxonomy and multivariate analysis system vers. 2.1 user guide. Exceter Publishing LTD., Setauket, New York.
- RONGWEN, J.; AKKAYA, M.S.; BHAGWAT, A.A.; LAVI, U. and P.B. CREGAN, 1995: The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. *Theor. Appl. Genet.* 90, 43-48.
- ROSS, H., 1986: Potato Breeding – Problems and Perspectives. Paul Parey Verlag, Berlin, Hamburg, 130 p.
- ROUPPE VAN DER VOORT, J.; VAN DER VOSSEN, E.; BAKKER, E.; OVERMARS, H.; VAN ZANDVOORT, P.; HUTTEN, R.; KLEIN LANKHORST, R. and J. BAKKER, 2000: Two additive QTLs conferring broad-spectrum resistance in potato to *Globodera pallida* are localized on resistance gene clusters. *Theor. Appl. Genet.* 101, 1122-1130.

- RUSSEL, J.R.; FULLER, J.D.; MACAULAY, M.; HATZ, B.G.; JAHOR, A.; POWELL, W. and R. WAUGH, 1997: Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLPs, AFLPs, SSRs and RAPDs. *Theor. Appl. Genet.* 95, 714-722.
- SACHS, L., 1999: *Angewandte Statistik*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 881 p.
- SAGHAI MAROOF, M.A.; SOLIMAN, K.M.; JORGENSEN, R.A. and R.W. ALLARD, 1984: Ribosomal DNA spacer length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 8014-8018.
- SAIKI, R.K.; GELFAND, D.H.; STOFFEL, S.; SCHARF, S.J.; HIGUCHI, R.; HORN, G.T.; MULLIS, K.B. and H.A. ERLICH, 1988: Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239, 487-491.
- SAITOU, N. and M. NEI, 1987: The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4, 406-425.
- SAMBROCK, J., FRITSCH, E.F. and T. MANIATIS, 1989: *Molecular cloning: A laboratory manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- SANFORD, J.C. and R.E. HANNEMAN, 1979: Reciprocal differences in the photoperiod reaction of hybrid populations of *Solanum tuberosum*. *Am. Potato J.* 56, 531-540.
- SANFORD, J.C. and R.E. HANNEMAN, 1982: A possible heterotic threshold in the potato and its implications for breeding. *Theor. Appl. Genet.* 61, 151-159.
- SCHÄFER-PREGL, R.; RITTER, E.; CONCILIO, L.; HESSELBACH, J.; LOVATTI, L.; WALKEMEIER, B.; THELEN, H.; SALAMINI, F. and C. GEBHARDT, 1998: Analysis of quantitative trait loci (QTLs) and quantitative trait alleles (QTAs) for potato tuber yield and starch content. *Theor. Appl. Genet.* 97, 834-846.
- SCHNABEL, P.S. and R.P. WISE, 1998: The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. *Trends Plant Sci.* 3, 175-180.
- SCHNEIDER, K. and D.S. DOUCHES, 1997: Assessment of PCR-based Simple Sequence Repeats to fingerprint North American potato cultivars. *Am. Potato J.* 74, 149-151.
- SCHÖN, C.C. and W. LINK, 1997: Biometrische Methoden zur Beschreibung genetischer Diversität - Fallbeispiele. In: *Schriften zu genetischen Ressourcen* Vol. 8, BEGEMANN, F. (ed.), Zentralstelle für Agrardokumentation (ZADI), Bonn, pp. 110-117.

- SCHWARZ, G.; HERZ, M.; HUANG, X.Q.; MICHALEK, W.; JAHOR, A.; WENZEL, G. and V. MOHLER, 2000: Application of fluorescence-based semi automated AFLP analysis in barley and wheat. *Theor. Appl. Genet.* 100, 545-551.
- SCHWARZFISCHER, A.; SCHWARZFISCHER, J. and L. HEPTING, 1998: Die erste Sorte aus fusionierten diploiden Kartoffeln? Erfolgreicher Einsatz der Protoplastenfusion in der praktischen Kartoffelzüchtung. Bericht über die 49. Arbeitstagung 1998 der Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter. BAL Gumpenstein, Irdning, pp. 51-57.
- SENIOR, M.L.; MURPHY, J.P.; GOODMAN, M.M. and C.W. STUBER, 1998: Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. *Crop Sci.* 38, 1088-1098.
- SNEATH, P.H.A. and R.R. SOKAL, 1973: *Numerical Taxonomy*. Freeman, San Francisco, 573 pp.
- SORRELS, M.E., 1992: Development and application of RFLPs in polyploids. *Crop Sci.* 32, 1086-1091.
- SPANGENBERG, G.; FREYDL, E.; OSUSKY, M.; NAGEL, J. and I. POTRYKUS, 1991: Organelle transfer by microfusion of defined protoplast-cytoplasm pairs. *Theor. Appl. Genet.* 81, 477-486.
- SPOONER, D.M.; TIVANG, J.; NIENHUIS, J.; MILLER, J.T.; DOUCHES, D.S. and A. CONTRERAS-M., 1996: Comparison of four molecular markers in measuring relationships among the wild potato relatives *Solanum* section *Etuberosum* (subgenus *Potatoe*). *Theor. Appl. Genet.* 92, 532-540.
- STAUB, J.E.; GRUN, P. and V. AMOAH, 1982: Cytoplasmic evaluations during substitution backcrossing in *Solanum*. *Potato Research* 25, 299-319.
- STEGEMANN, H. and V. LOESCHKE, 1976: *Index Europäischer Kartoffelsorten*. Paul Parey Verlag, Berlin, Hamburg, 215 p.
- STEGEMANN, H. and D. SCHICK, 1982: *Index Europäischer Kartoffelsorten*. Paul Parey Verlag, Berlin, 219 p.
- STEGEMANN, H. and D. SCHICK, 1985: *Index Europäischer Kartoffelsorten*. Paul Parey Verlag, Berlin, 128 p.
- STEINBACH, C., 1990: Erfahrungen und Ergebnisse zur Sicherung der Samenproduktion in der Kartoffelzüchtung. *Kartoffelforschung aktuell*, Groß Lüsewitz, 53-60.
- SWIEZYNSKI, K.M.; HAYNES, K.G.; HUTTEN, R.C.B.; SIECZKA, M.T.; WATTS, P. and E. ZIMNOCH-GUZOWSKA, 1997: *Plant Breeding and Seed Science* 41 (1) - Pedigree of European and North-American potato varieties. Plant Breeding and Acclimatisation Institute, Radzikow, Poland, pp. 149.

- TAUTZ, D., 1989: Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acid Res.* 17, 6436-6471.
- THIEME, R.; DARSOW, U.; GAVRILENKO, T.; DOROKHOV, D. and H. THIEMANN, 1997: Production of somatic hybrids between *S. tuberosum* L. and late blight resistant Mexican wild potato species. *Euphytica* 97, 189-200.
- THIEME, R. and B. HACKAUF, 1998: Nutzung von Microsatellitenloci zur Identifizierung somatischer Kartoffelhybriden. *Votr. Pflanzenzüchtg.* 42, 149-151.
- THIJN, G.A., 1954: Observations of flower indication with potatoes. *Euphytica* 3, 28-34.
- TIEMANN, H., 1997: Neuzüchtung. In: Die Erzeugung von Pflanzkartoffeln, SCHUMANN, P. (ed.), Buchedition Agrimedia, Holm, pp. 31-39.
- TURNER, A.D. and E.E. EWING, 1988: Effects of photoperiod, night temperature, and irradiance on flower production in the potato. *Potato Reseach* 31, 257-268.
- VAN DEN BERG, J.H.; EWING, E.E.; PLAISTED, R.L.; McMURRY, S. and M.W. BONIERBALE, 1996: QTL analysis of potato tuberization. *Theor. Appl. Genet.* 93, 307-316.
- VAN ECK, H.J.; JACOBS, J.M.E.; VAN DIJK, J.; STIEKEMA, W.J. and E. JACOBSEN, 1993a: Identification and mapping of three flower colour loci of potato (*S. tuberosum* L.) by RFLP analysis. *Theor. Appl. Genet.* 86, 295-300.
- VAN ECK, H.J.; JACOBS, J.M.E.; VAN BERG, P.M.M.M.; STIEKEMA, W.J. and E. JACOBSEN, 1993b: The inheritance of anthocyanin pigmentation in potato (*Solanum tuberosum* L.) and mapping of tuber skin colour loci using RFLPs. *Heredity* 73, 410-421.
- VAN DER LEIJ, F.R.; VISSER, R.G.F.; PONSTEIN, A.S.; JACOBSEN, E. and W.J. FEENSTRA, 1991: Sequence of the structural gene for granule-bound starch synthase of potato (*Solanum tuberosum* L.) and evidence for a single point deletion in the *amf* allele. *Mol. Gen. Genet.* 228, 240-248.
- VIRK, P.S.; NEWBURY, H.J.; JACKSON, M.T. and B.V. FORD-LLOYD, 2000: Are mapped markers more useful for assessing genetic diversity? *Theor. Appl. Genet.* 100, 607-613.
- VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, R.; REIJANS, M.; VAN DE LEE T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M. and M. ZABEAU, 1995: AFLP a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* 23, 4407-4414.
- WAUGH, R.; GLENDINNING, D.R.; DUNCAN, N. and W. POWELL, 1990: Chloroplast DNA variation in European potato cultivars. *Potato Res.* 33, 505-513.

- WAUGH, R.; BONAR, N.; BAIRD, E.; THOMAS, B.; GRANER, A.; THOMAS, W.T.B. and W. POWELL, 1997: Homology of AFLP products in three mapping populations of barley. *Mol. Gen. Genet.* 255, 311-321.
- WENZEL, G.; SCHIEDER, O.; PRZEWOZNY, S.K. and G. MELCHERS, 1979: Comparison of single cell culture derived *Solanum tuberosum* L. plants and a model for their application in breeding programs. *Theor. Appl. Genet.* 55, 49-55.
- WILLIAMS, J.; KUBELIK, A.; LIVAK, K.; RAFALSKI, J. and S. TINGEY, 1990: DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* 18, 6531-6535.
- WU, R.; GALLO-MEAGHER, M.; LITTELL, R.C. and Z.B. ZENG, 2001: A general polyploid model for analysing gene segregation in outcrossing tetraploid species. *Genetics* 159, 869-882.
- WU, K.K.; BURNQUIST, W.; SORRELS, M.E.; TEW, T.L.; MOORE, P.H. and S.D. TANKSLEY, 1992: The detection and estimation of linkage in polyploids using single-dose restriction fragments. *Theor. Appl. Genet.* 83, 294-300.
- XU, Y.S.; JONES, M.G.K.; KARP, A. and E. PEHU, 1993: Analysis of the mitochondrial DNA of the somatic hybrids of *Solanum brevidens* and *Solanum tuberosum* using non-radioactive digoxigenin-labelled DNA probes. *Theor. Appl. Genet.* 85, 1017-1022.
- XU, Y.S.; CLARK, M. and E. PEHU, 1993a: Use of RAPD markers to screen somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and *S. brevidens*. *Plant Cell Rep.* 12, 107-109.
- YANG, G.P.; SAGHAI MAROOF, M.A.; XU, C.G.; ZHANG, Q.F. and R.M. BIYASHEV, 1994: Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphism in landraces and cultivars of rice. *Mol. Gen. Genet.* 245, 187-194.
- ZABEAU, M. and P. VOS, 1993: Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting. European Patent Application number 92402629.7, Publication number 0 534 858 A1.
- ZIMNOCH-GUZOWSKA, E.; MARCZEWSKI, W.; LEBECKA, R.; FLIS, B.; SCHÄFER-PREGL, R.; SALAMINI, F. and C. GEBHARDT, 2000: QTL analysis of new sources of resistance to *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* in potato done by AFLP, RFLP and resistance-gene-like markers. *Crop Sci.* 40, 1156-1167.

7. Anhang

7.1 Liste der in der Verwandtschaftsanalyse untersuchten Sorten

Sorte	Züchter ¹	Reife ²	VZ ³	Jahr ⁴	Anfälligkeit ⁵		Nr.-HK ⁶	
					PVY-	PLRV-	AFLP	SSR
Agria	BOE	3	s	1985	2	5	17	21
Aiko	NDP	3	w	1989	5	4	11	2
Alwara	LAN	3	s	1985	1	8	26	15
Assia	UNI	3	w	1980	RR	3	50	13
Berber	LAN	1	s	1983	6	4	25	18
Bettina	BAV	3	s	1988	RR	5	55	23
Camilla	BOE	2	s	1998	1	4	10	45
Combi	FIR	4	w	1988	4	3	45	27
Donella	SAR	4	s	1990	3	4	18	11
Erntestolz	KWS	3	s	1975	6	5	19	29
Forelle	NOS	2	s	1979	RR	6	20	25
Gambria	NKZ	3	s	1995	6	6	36	16
Gunda	BOE	2	s	1999	5	3	14	44
Indira	FIR	4	w	1981	2	2	44	6
Karlana	NOR	2	s	1988	1	2	22	5
Kuras	BOE	4	w	1993 ^N	-	-	38	9
Leyla	NKZ	1	s	1988	4	5	35	8
Marlene	BOE	3	s	1999	3	5	1	49
Markies	MAN			1997 ^N	-	-	2	43
Mentor	SOL	3	w	1970	7	5	29	19
Mira	SAR	2	w	1995	1	5	16	1
Panda	UNI	4	w	1986	3	2	48	22
Patrona	BAV	3	w	1994	5	1	54	28
Petra	BAV	2	w	1991	1	7	52	3
Pluto	AUS	-		1992 ^A	-	-	12	17
Ponto	BOE	3	w	1984	3	7	42	24
Producent	BOE	4	w	1986	6	7	40	26
Rustica	RAG	3	w	1988	2	3	13	20
Sanira	NKZ	4	s	1992	1	5	34	14
Saturna	STA	4	s	1970	7	7	9	47
Sibu	SAR	4	w	1993	1	3	15	30
Thomana	NKZ	3	w	1977	3	2	33	7
Tomba	NKZ	4	w	1995	1	2	32	4
Tomensa	NKZ	2	w	1989	2	2	30	31
Ulme	BAY	4	w	1991	1	3	46	10
Ute	BAV	2	w	1982	RR	2	51	12
Verona	-	-	-	-	-	-	21	42

Quelle: Beschreibende Sortenliste (BUNDESSORTENAMT 1996 und 2001).

¹Züchter (Bevollmächtigter, Nutzungsberechtigter): AUS = Niederösterreichische Saatzbau-genossenschaft; BAV = Bavaria Saat; BAY = Bayerische Pflanzenzuchtgesellschaft; BER = Saatzucht Berding; BOE: Kartoffelzucht Böhm; FIR = Saatzucht Firlbeck; KWS = KWS-Saat; LAN = Lange; MAN = Mansholt (NL); NDP = Norddeutsche Pflanzenzucht; NKZ = Nordkartoffel; NOR = Norika; NOS = Nordsaat; RAG = Ragis; SAR = Saka-Ragis, SOL = Saatzucht Soltau-Bergen; STA = Stader Saatzucht; UNI = Uniplanta

²Reifegruppe: 1 = sehr früh; 2 = mittelfrüh; 3 = mittelspät; 4 = spät

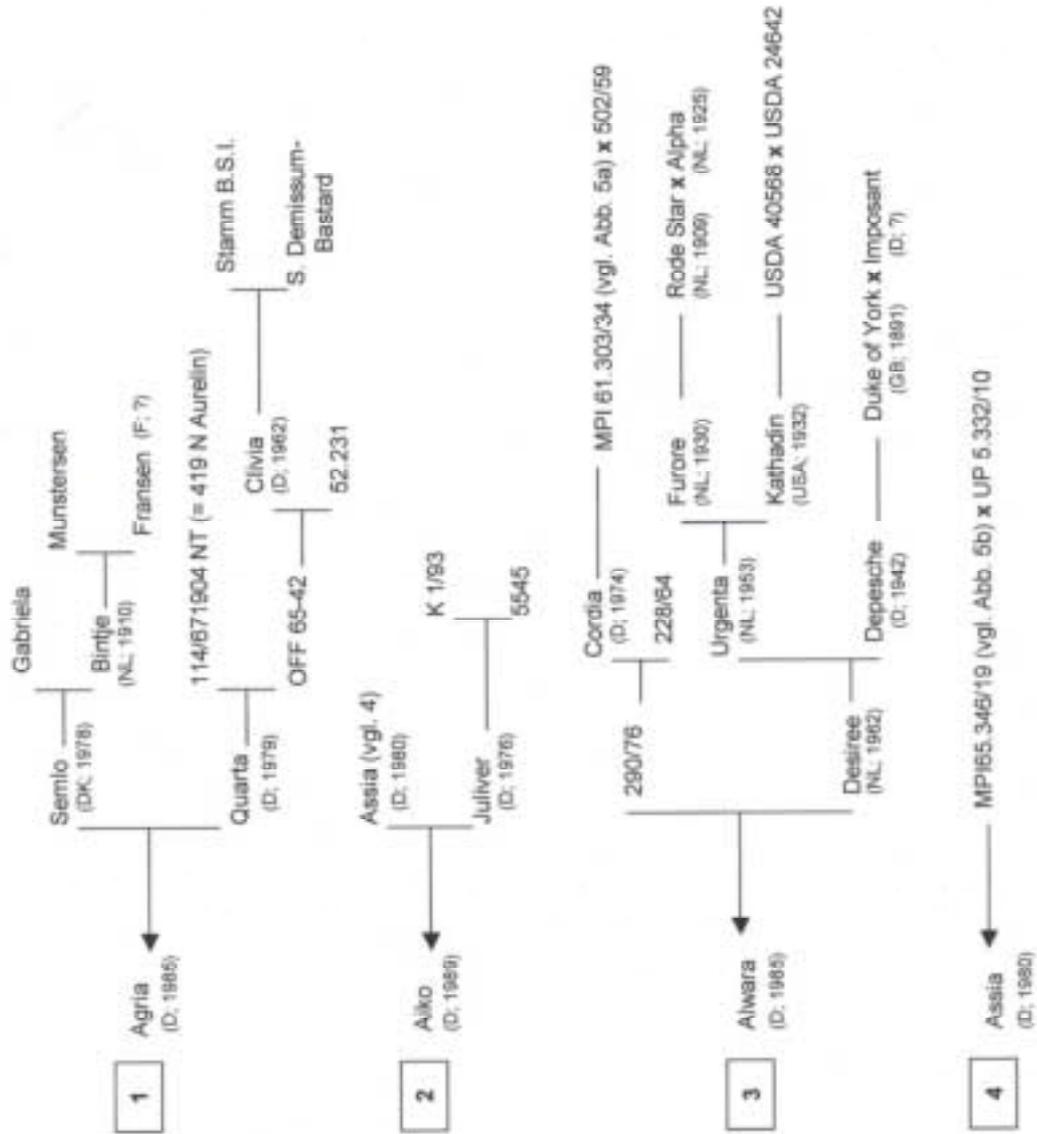
³Verwendungszweck: Speise = s; Wirtschaft = w;

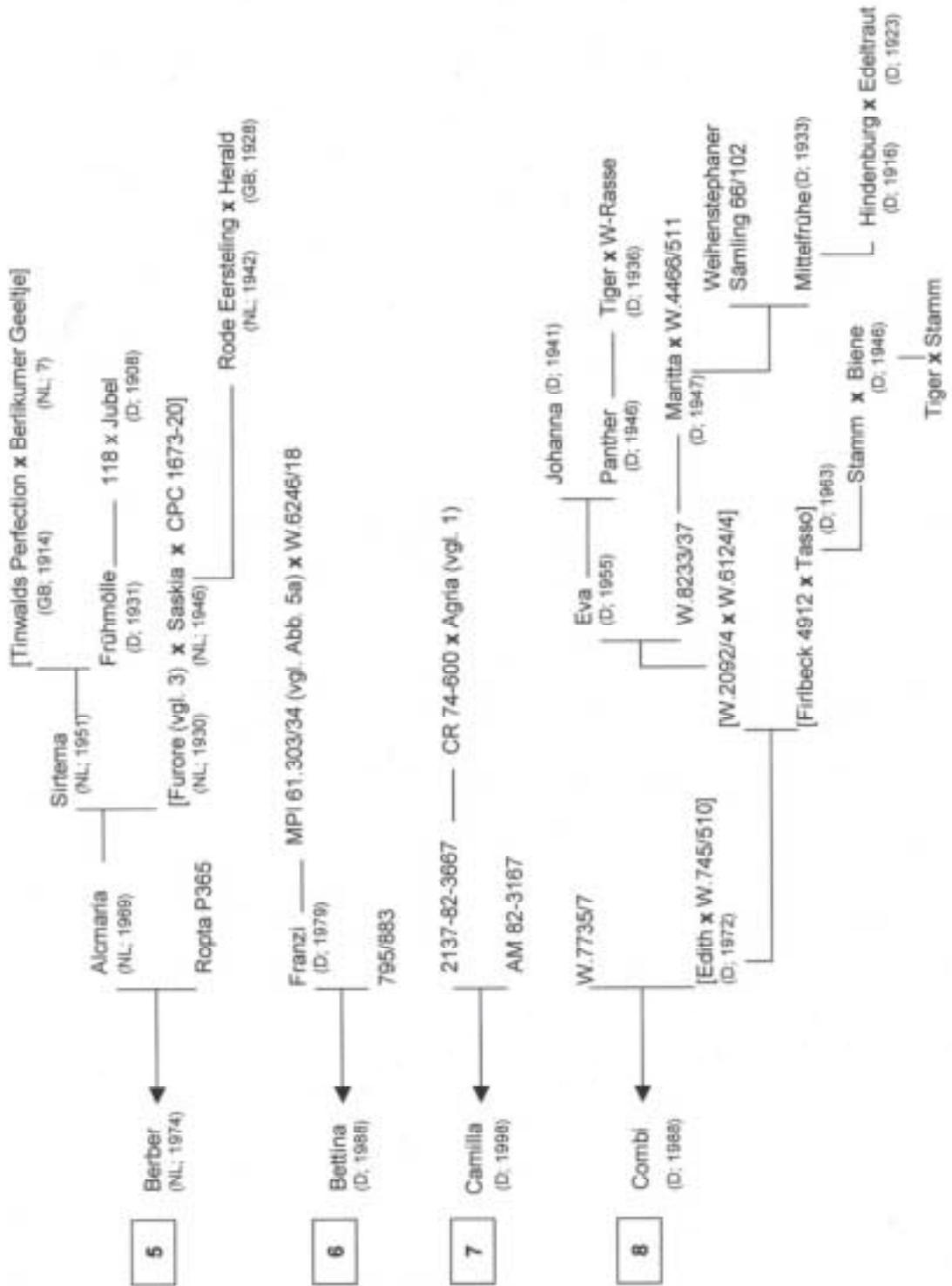
⁴Zulassungsjahr in Deutschland (^AÖsterreich, ^NNiederlande)

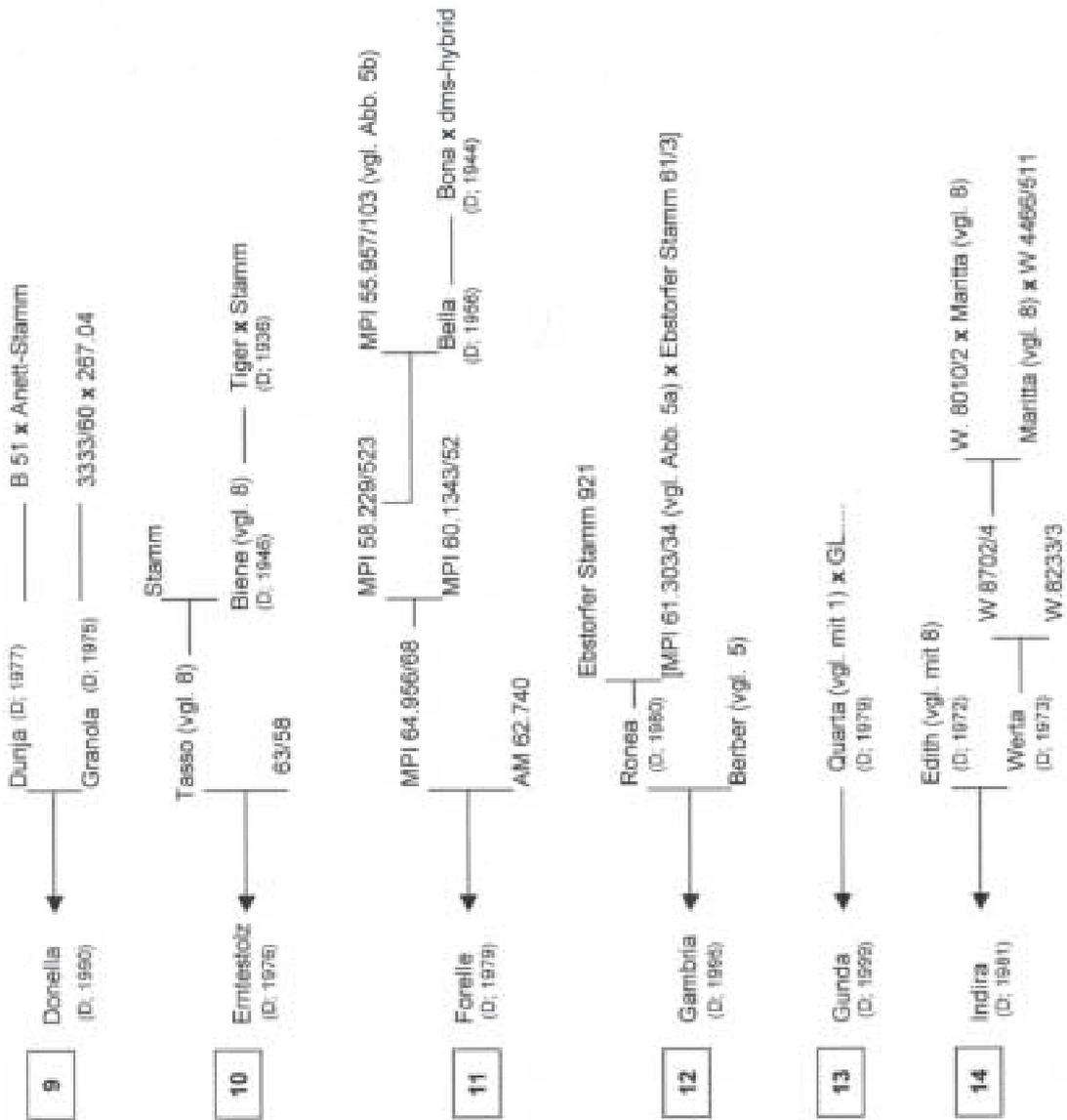
⁵Anfälligkeit: 1 = sehr gering; 5 = mittel; 9 sehr stark ; (RR = extreme Resistenz gegen Y-Virus)

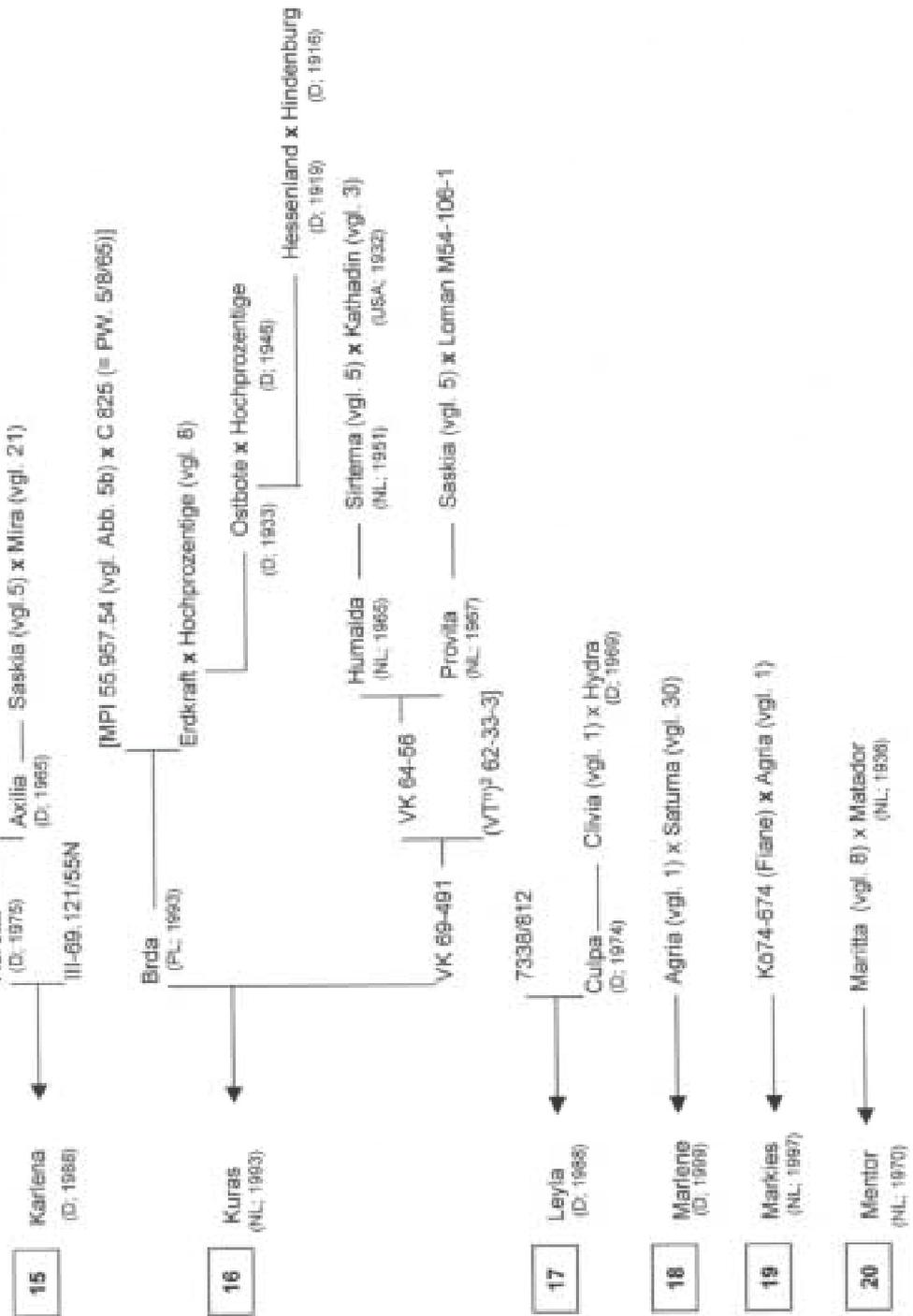
⁶Nummer in der Hauptkoordinatenanalyse AFLP (vgl. Abb. 11) und SSR (vgl. Abb. 12)

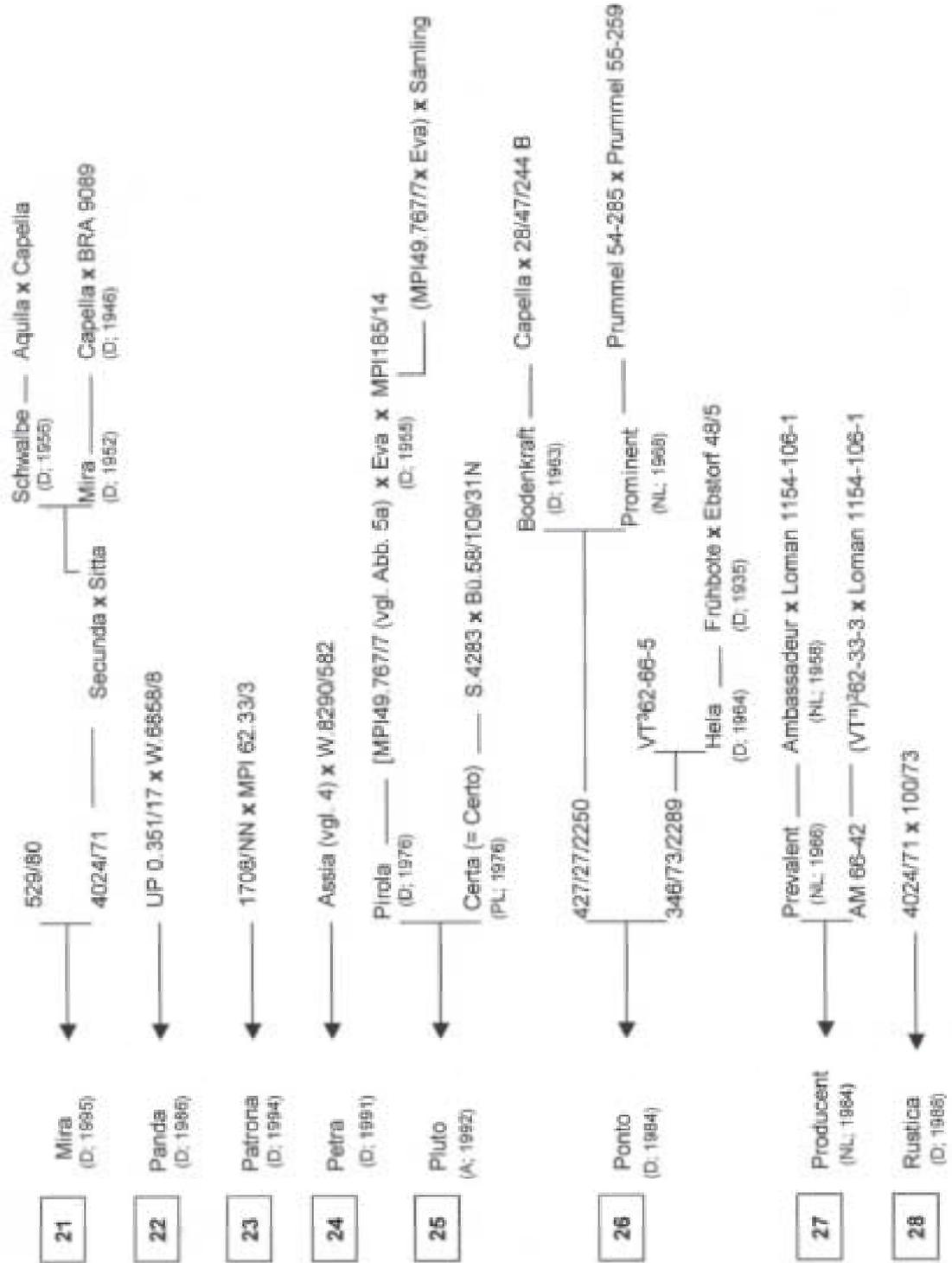
7.2 Stammbäume der in der Verwandtschaftsanalyse untersuchten Sorten

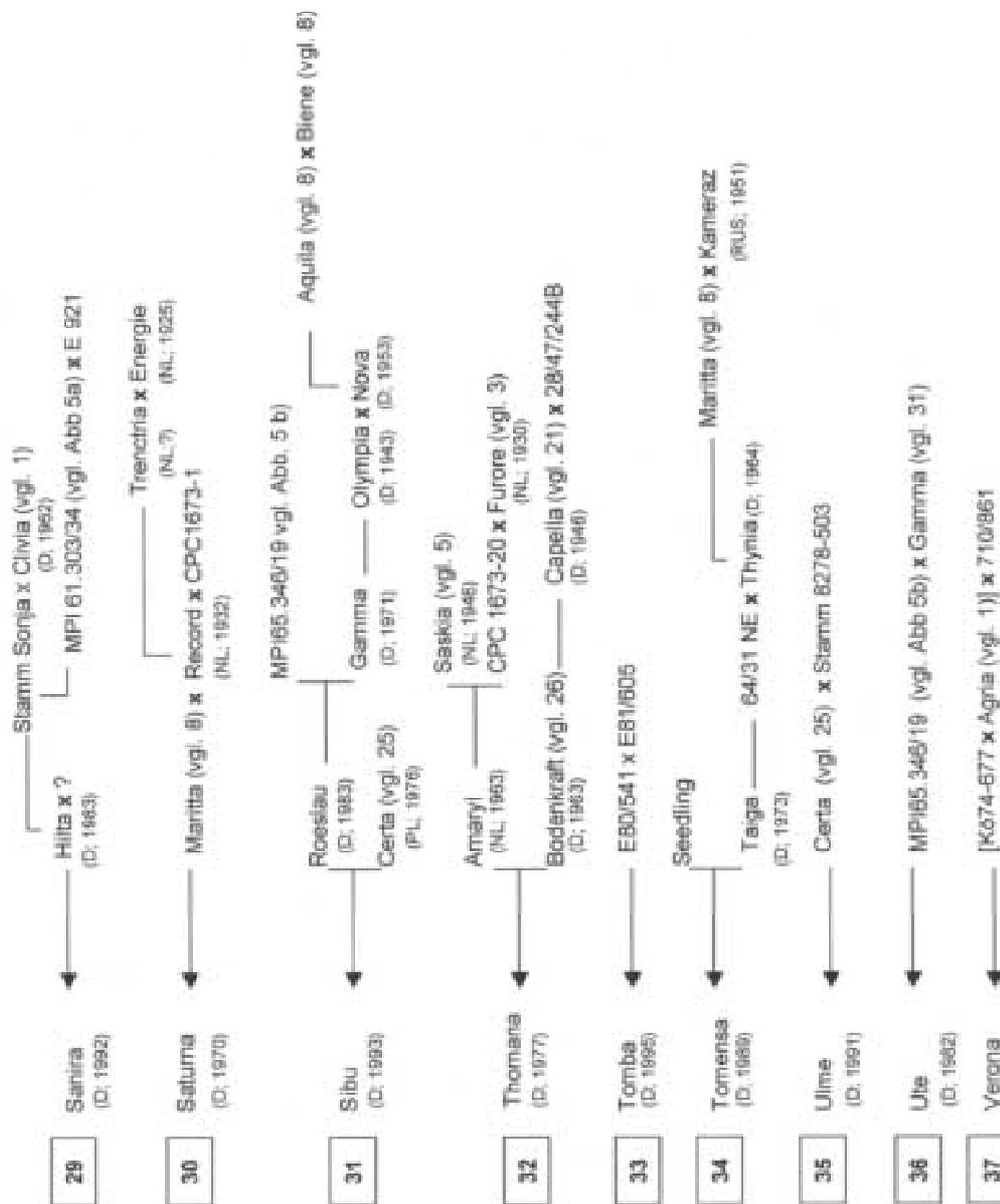












Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Professor Dr. G. Wenzel für die Arbeitsmöglichkeit am Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung bedanken.

Den Herren Dr. G. Schwarz, Dr. V. Mohler und Dr. M. Herz danke ich für die kollegialen, interessanten und anregenden Diskussionen, sowie hilfreichen Hinweise zu technischen Fragen.

Besonderer Dank gilt den Mitgliedern der Arbeitsgruppe ‚Molekulare Marker‘ am Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung für die freundliche Arbeitsatmosphäre.

Weiterhin danke ich herzlich:

Fr. Dr. U. Frei für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Hr. Dennert und der Mannschaft vom Versuchsgut Roggenstein für die Unterstützung bei der Durchführung der Feldversuche.

Fr. Dr. A. Schwarzfischer und Herrn J. Schwarzfischer von der Bayerischen Landesanstalt für Pflanzenbau und Bodenkultur in Freising für die Unterstützung bei der Durchführung der Pollenuntersuchung.

Hr. A. Offereins (Fa. Böhm-Nordkartoffel) für die Informationen zu verschiedenen Stammbäumen.

Meiner Freundin Astrid Ehrhardt für die moralische Unterstützung.

Diese Arbeit wurde von der Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen ‚Otto von Guericke‘ e.V. (AiF), im Rahmen der Kooperation zwischen den Firmen Kartoffelzucht Böhm und Dr. R.J. Mansholt’s Veredelingsbedrijf, unterstützt.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Alexander Braun
Geburtsdatum	23.09.1968
Geburtsort	Frankfurt/M.
Familienstand	ledig

Schulische Ausbildung

1975 - 1979	Adolf Reichwein Grundschule in Frankfurt/M.
1979 - 1988	Friedrich Dessauer Gymnasium in Frankfurt/M. Abschluss mit der allgemeinen Hochschulreife

Zivildienst

1988 - 1990	Frankfurt/M.
-------------	--------------

Studium

1990 - 1997	Studium der Agrarwissenschaften an der Justus-Liebig-Universität Gießen Abschluss als Diplom-Agraringenieur (Univ.)
-------------	--

Studienpraxis

1993 - 1994	Landwirtschaftliches Praktikum mit Abschluss der Praktikantenprüfung
-------------	---

Berufliche Tätigkeit

1998 - 2001	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der TU-München-Weihenstephan im Rahmen eines durch die Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen ‚Otto von Guericke‘ e.V. (AiF) geförderten Projektes
2001 - 2002	Wissenschaftlicher Angestellter am Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der TU-München-Weihenstephan
seit 05/2002	Angestellt bei der Fa. Böhm-Nordkartoffel-Agrarproduktion OHG