**Variation und Vererbung von Glucosinolatgehalt und –muster
in Grünmasse und Samen von Raps (*Brassica napus* L.) und deren
Zusammenhang zum Befall mit Rapsstängelschädlingen**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Agrarwissenschaften
der Georg-August-Universität Göttingen

vorgelegt von
Haiko Brandes
geboren in Peine

Göttingen, im Dezember 2014

D 7

1. Referent: Prof. Dr. H. C. Becker

2. Referent: Prof. Dr. E. Pawelzik

Tag der mündlichen Prüfung: 5. Februar 2015

Inhaltsverzeichnis

Seite

<i>Inhaltsverzeichnis.....</i>	<i>I</i>
<i>Abkürzungsverzeichnis.....</i>	<i>III</i>
<i>Abbildungsverzeichnis.....</i>	<i>IV</i>
<i>Tabellenverzeichnis.....</i>	<i>VI</i>
<i>1 Einleitung.....</i>	<i>1</i>
<i>1.1 Schädlinge im Raps und Resistenzproblematik.....</i>	<i>2</i>
1.1.1 Großer Rapsstängelrüssler	3
1.1.2 Gefleckter Kohltriebrüssler	4
<i>1.2 Das Glucosinolat-Myrosinase System</i>	<i>5</i>
1.2.1 Vorkommen und chemische Struktur	6
1.2.2 Lokalisierung innerhalb der Pflanze	7
1.2.3 Biosynthese und Steuerung	8
1.2.4 Hydrolyse und Abbauprodukte	12
1.2.5 Innerpflanzlicher Transport	13
1.2.6 Einflussfaktoren auf GSL-Gehalte	15
<i>1.3 Rolle der Glucosinolate in der Pflanze-Insekten Interaktion.....</i>	<i>16</i>
<i>1.4 Zielsetzung der Arbeit</i>	<i>17</i>
<i>2 Material und Methoden</i>	<i>19</i>
<i>2.1 Glucosinolatvariation und Schädlingsbefall</i>	<i>19</i>
2.1.1 Versuchsaufbau.....	19
2.1.2 Material.....	19
2.1.3 Probenahmen für Glucosinolatanalysen	21
2.1.4 Erfassung der Befallsparameter	22
2.1.5 Auswertung.....	23
<i>2.2 Kartierungsexperiment Glucosinolatvererbung.....</i>	<i>24</i>
2.2.1 Versuchsaufbau.....	24
2.2.2 Material.....	24
2.2.3 Merkmalserfassung.....	24
2.2.4 Genotypisierung.....	25
2.2.5 Auswertung.....	25
<i>2.3 Probenaufbereitung und HPLC Analytik für Glucosinolatanalysen</i>	<i>26</i>
<i>3 Ergebnisse.....</i>	<i>28</i>
<i>3.1 Quantitative Variation von Glucosinolatgehalt und –muster unter Freilandbedingungen</i>	<i>28</i>
3.1.1 Varianzkomponenten und Heritabilitäten	28
3.1.2 Mittlere GSL-Zusammensetzung der Genotypen in Grünmasse und Samen.....	29
3.1.3 Einfluss des Probenahmetermins	30
3.1.4 Einfluss von Standort und Jahr.....	33
3.1.5 Einfluss des Pflanzenteils	33

3.1.6	Korrelationen zwischen Glucosinolatgehalten und Pflanzenentwicklung	34
3.1.7	Korrelationen der Glucosinolatgehalte zwischen Pflanzenteilen	35
3.1.8	Glucosinolatprofile und Hauptkomponentenanalysen	38
3.2	<i>Zusammenhang zwischen Befall mit Rapsstängelschädlingen und Glucosinolatgehalten und –mustern</i>	42
3.2.1	Variation des Befalls mit <i>C. napi</i> und <i>C. pallidactylus</i>	42
3.2.2	Korrelationen zwischen Befallsmerkmalen und Glucosinolaten in Einzelumwelten	43
3.2.3	Unterschiede in Glucosinolatgehalten und -zusammensetzungen zwischen unterschiedlich stark befallenen Genotypen	47
3.2.4	Hauptkomponentenanalysen	49
3.2.5	Unterschiede in Glucosinolatzusammensetzungen zwischen unterschiedlich stark befallenen Umwelten	51
3.3	<i>Kartierung von Genomregionen für den Glucosinolatstoffwechsel in Blatt, Stängel und Samen der DH-Population ‚L16 x Express‘</i>	53
3.3.1	Merkmalsvariation	53
3.3.2	Korrelationen zwischen Merkmalen und Pflanzenteilen	57
3.3.3	Markerkarte	61
3.3.4	Quantitative Trait Loci	63
4	<i>Diskussion</i>	69
4.1	<i>Quantitative Variation von Glucosinolatgehalt und –muster</i>	69
4.2	<i>Zusammenhang zwischen Befall mit Rapsstängelschädlingen und Glucosinolatgehalten und –mustern</i>	79
4.3	<i>Kartierung von Genomregionen für den Glucosinolatstoffwechsel</i>	89
5	<i>Zusammenfassung</i>	96
6	<i>Literaturverzeichnis</i>	99
7	<i>Anhang</i>	117
	<i>Danksagung</i>	138

Abkürzungsverzeichnis

μmol	Mikromol
4ME	4-Methoxyglucobrassicin
4OH	4-Hydroxyglucobrassicin
ALKSUM	Summe der Gehalte an Alkyl-Glucosinolaten
ALY	Glucoalyssin
cM	centiMorgan
DH	Doppelhaploid(e)
FGL	Fraßganglänge
GBC	Glucobrassicin
GBN	Glucobrassicinapin
GNA	Gluconapin
GNL	Gluconapoleiferin
GSL	Glucosinolat(e)
h ²	Heritabilität
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
INDSUM	Summe der Gehalte an Indol-Glucosinolaten
KG	Kopplungsgruppe
KTR	Kohltriebrüssler
NAS	Gluconasturtiin
NEO	Neoglucobrassicin
NIRS	Nahinfrarotspektroskopie
n. s.	nicht signifikant
PRO	Progoitrin
QTL	Quantitative Trait Locus
RAA	Glucoraphanin
RSR	Rapsstängelrüssler
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
STIC	Stem-Injury-Coefficient
TM	Trockenmasse
z.B.	Zum Beispiel

Abbildungsverzeichnis

	Seite
Abbildung 1.1: Schadsymptome des Rapsstängelrüsslerbefalls	3
Abbildung 1.2: Das Glucosinolat-Myrosinase-System und dessen Abbauprodukte	5
Abbildung 1.3 Biosyntheseweg der aliphatischen und indolischen GSL in <i>Arabidopsis thaliana</i>	9
Abbildung 2.1: A) Trennung einer Einzelpflanze in Blatt und Stängel bei der GSL-Probenahme B) Einstichstellen der Stängelrüsslerweibchen (Göttingen-Weende, März 2012).....	22
Abbildung 2.2: Mittlere relative Zusammensetzung der Populationseletern L16 und Express in Grünmasse (10 Umwelten) und Samen (5 Umwelten)	24
Abbildung 2.3 Zuordnung der Einzelglucosinolate mit Retentionszeiten	27
Abbildung 3.1: Mittlere GSL-Gehalte ($\pm$ Standardfehler) und GSL-Zusammensetzung von 28 Genotypen in Grünmasse und Samen	29
Abbildung 3.2: Einfluss des Probenahmetermins auf GSL-Gehalte ($\pm$ Standardfehler) und GSL- Zusammensetzung in der Grünmasse.....	30
Abbildung 3.3: Veränderung der relativen GSL-Zusammensetzung per Genotyp in der Grünmasse von T1 zu T2 geordnet nach den gemittelten Beträgen der Veränderungen	31
Abbildung 3.4: Einfluss von Standort und Jahr auf GSL-Gehalte ($\pm$ Standardfehler) in der Grünmasse gemittelt über 2 Termine und 2 Pflanzenteile	33
Abbildung 3.5: Einfluss des Pflanzenteils auf GSL-Gehalte ($\pm$ Standardfehler) und GSL- Zusammensetzung in der Grünmasse.....	34
Abbildung 3.6: Korrelationsdiagramme für die Korrelationen der GSL-Gehalte von vier Glucosinolatgruppen (Gesamt, Alkenyl, Indol, NAS).....	37
Abbildung 3.7: Absolute (oben) und relative (unten) Glucosinolatprofile von 28 Genotypen in Grünmasse (GM) und Samen (SA)	39
Abbildung 3.8: Hauptkomponentenanalyse der absoluten GSL-Gehalte in der Grünmasse von 28 Genotypen gemittelt über Termine und Umwelten.....	40
Abbildung 3.9: Hauptkomponentenanalyse der GSL-Zusammensetzung in der Grünmasse von 28 Genotypen gemittelt über Termine und Umwelten.....	41
Abbildung 3.10: Variation des natürlichen Befalls mit großem Rapsstängelrüssler <i>C. napi</i> (links) und geflecktem Kohltriebrüssler <i>C. pallidactylus</i> (rechts) in den einzelnen Umwelten 2011 – 2013.....	42
Abbildung 3.11: Variation von Fraßganglänge und Stem-Injury-Coefficient in vier Umwelten.....	43
Abbildung 3.12: Korrelationskoeffizienten zwischen Stängelglucosinolaten und Befallsmerkmalen am Standorte Weende 2012 (n=23 Genotypen) und 2013 (n=26 Genotypen)	44
Abbildung 3.13: Korrelationsdiagramme zwischen Rapsstängelrüsslerbefall und vier GSL-Gruppen am Standorte Weende getrennt nach zwei Jahren 2012 (rot) und 2013 (blau)	45
Abbildung 3.14: Korrelation des Rapsstängelrüsslerbefalls (RSR) zwischen den Umwelten Weende 2012 und 2013.....	46
Abbildung 3.15: Korrelation des Merkmals Stem-Injury-Coefficient zwischen den Umwelten Weende 2012 und 2013.....	46
Abbildung 3.16: Vergleich der Stängelglucosinolatgehalte (links) und -zusammensetzungen (rechts) an Termin 1 von Genotypen, die, gemittelt über die Umwelten Weende 2012 und 2013, niedrig, mittel oder hoch mit Rapsstängelrüsslerlarven befallen wurden.....	47
Abbildung 3.17: Vergleich der Stängelglucosinolatgehalte (links) und -zusammensetzungen (rechts) an Termin 2 von Genotypen, deren Stängel, gemittelt über die Umwelten Weende 2012 und 2013, wenig, mittel oder hoch durch Larven von Stängelschädlingen miniert wurden.....	48
Abbildung 3.18: Hauptkomponentenanalyse der GSL-Gehalte im Stängel an Termin 1 gemittelt über die Umwelten Weende 2012 und 2013	49
Abbildung 3.19: Hauptkomponentenanalyse der GSL-Zusammensetzung im Stängel an Termin 1 gemittelt über die Umwelten Weende 2012 und 2013	50

<i>Abbildung 3.20: Hauptkomponentenanalyse der GSL-Gehalte im Stängel an Termin 2 gemittelt über die Umwelten Weende 2012 und 2013</i>	<i>50</i>
<i>Abbildung 3.21: Hauptkomponentenanalyse der GSL-Zusammensetzung im Stängel an Termin 2 gemittelt über die Umwelten Weende 2012 und 2013</i>	<i>51</i>
<i>Abbildung 3.22: GSL-Zusammensetzung von niedrig („-Befall“) und hoch („+Befall“) mit Stängelschädlingen befallenen Umwelten zu zwei Probenahmeterminen T1 und T2</i>	<i>52</i>
<i>Abbildung 3.23: Histogramme der Gesamt-GSL-Gehalte in den Pflanzenteilen Blatt, Stängel und Samen von 120 DH-Linien der DH-Population ‚L16 x Express‘ und deren Eltern</i>	<i>56</i>
<i>Abbildung 3.24: Merkmalskorrelationen in Blatt (links) und Stängel (rechts) von 120 Linien der DH-Population ‚L16 x Express‘</i>	<i>57</i>
<i>Abbildung 3.25: Merkmalskorrelationen im Samen von 120 Linien der DH-Population ‚L16 x Express‘</i>	<i>58</i>
<i>Abbildung 3.26: Korrelationsdiagramme zwischen Blatt-, Stängel- und Samen-GSL für die vier GSL-Gruppen Gesamt-, Alkenyl-, Indol- und NAS-Gehalt von 120 DH-Linien der DH-Population ‚L16 x Express‘ sowie deren Eltern</i>	<i>60</i>
<i>Abbildung 3.27: Circleplot der kartierten QTL für alle Glucosinolatmerkmale in der Population ‚L16 x Express‘</i>	<i>67</i>

Tabellenverzeichnis

	Seite
<i>Tabelle 1.1: Namen, Abkürzungen, Gruppierungen und Strukturformeln des chemischen Rests der identifizierten Glucosinolate</i>	7
<i>Tabelle 2.1: Aufbau der Versuchsserie 2011 bis 2013 (Abkürzungen der Standorte in Klammern)</i>	19
<i>Tabelle 2.2: Prüfsortiment 2011 – 2013</i>	20
<i>Tabelle 2.3: Aussaat- und Probenahmetermine T1 und T2 für Glucosinolatanalysen (GSL) sowie Boniturtermine für Schädlingsbefall 2011 - 2013</i>	21
<i>Tabelle 2.4: Versuchsaufbau der DH-Population ‚L16 x Express‘ an vier Standorten (Abkürzungen in Klammern) mit Aussaat- und GSL-Probenahmetermine in der Vegetationsperiode 2012/2013</i>	24
<i>Tabelle 2.5: HPLC-System und Analysenparameter</i>	26
<i>Tabelle 3.1: Varianzkomponenten und Heritabilität (h^2) der Serienverrechnung in der Grünmasse an zwei Terminen (T1/T2) für zwei Pflanzenteile Blatt (BL) und Stängel (ST) sowie zur Samenreife (T3) im Samen (SA)</i>	28
<i>Tabelle 3.2: Veränderung der relativen Glucosinolatanteile per Genotyp in der Grünmasse von T1 zu T2 geordnet nach den gemittelten Beträgen der Veränderungen</i>	32
<i>Tabelle 3.3: Korrelationskoeffizienten zwischen Glucosinolatgruppen und Pflanzenlänge bzw. BBCH-Stadium an zwei Terminen T1 / T2 für je zwei Pflanzenteile Blatt (BL) und Stängel (ST)</i>	34
<i>Tabelle 3.4: Korrelationskoeffizienten zwischen Glucosinolatgehalten der Pflanzenteile Blatt und Stängel mit Samenglucosinolatgehalten zu je zwei Terminen T1 / T2</i>	35
<i>Tabelle 3.5: Variation der GSL-Gehalte in Blatt, Stängel und Samen sowie Pflanzenlänge und Blühbeginn von 120 DH-Linien der DH-Population ‚L16 x Express‘ und deren Eltern gemittelt über zwei Orte</i>	54
<i>Tabelle 3.6: Korrelationskoeffizienten und p-Werte für den Zusammenhang zwischen den Pflanzenteilen Blatt, Stängel und Samen von 120 DH Linien der DH-Population ‚L16 x Express‘</i>	59
<i>Tabelle 3.7: Schritte zur Erstellung der Markerkarte</i>	61
<i>Tabelle 3.8: Übersicht über die Markerkarte der DH-Population ‚L16 x Express‘</i>	62
<i>Tabelle 3.9: Quantitative Trait Loci (QTL) von 20 Merkmalen in drei Pflanzenteilen Blatt, Stängel und Samen in der DH-Population ‚L16 x Express‘</i>	63

1 Einleitung

Als sesshafte Organismen können sich Pflanzen den direkten biotischen und abiotischen Einflüssen aus ihrer Umwelt nicht einfach entziehen, wie es bewegliche Lebewesen können. Um auf Umwelteinflüsse reagieren zu können, haben Pflanzen im Laufe der Evolution eine unüberschaubare Bandbreite an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen hervorgebracht. Nur die heute bereits bekannte Anzahl an Verbindungen wird auf über 50000 geschätzt (Wink 2011). Sekundärmetaboliten erfüllen verschiedenste Funktionen innerhalb von Pflanzen. Sie oder ihre Abbauprodukte können als „Waffenarsenal der Pflanze“ zur Abwehr gegenüber Befall mit Herbivoren, Insekten, Pilzen und anderen Schaderregern beitragen, als Semiochemikalien eine Signalfunktion auf Bestäuber, Insekten und deren Feinde, anderen Pflanzenarten oder symbiotische Mikroorganismen ausüben oder aber auch spezielle endogene physiologische Funktionen besitzen (Schoonhoven *et al.* 2005, Jander 2014, Wink 2011, Poelman & Dicke 2014).

Glucosinolate sind mit 130 derzeit bekannten Verbindungen eine vergleichsweise kleine Gruppe von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen, die primär in der Ordnung der *Brassicales* vorkommen (Mithen *et al.* 2010). Darin enthalten ist auch die Familie der Kreuzblütler, in der wichtige Nutzpflanzen wie Kohl, Rettich, Senf und auch der Raps (*Brassica napus* subsp. *napus* L.) eingeordnet sind (Fahey *et al.* 2001).

Eine besondere Rolle nahmen die Glucosinolate in der Züchtung von Raps als heute bekannte Ölf Frucht ein, welche aktuell in der EU die wichtigste und weltweit hinter Sojaöl und Palmöl die drittwichtigste Ölf Frucht ist (Friedt & Snowdon 2010). Bis Ende der 1960er Jahre enthielten Rapsorten hohe Gehalte an Glucosinolaten und Erucasäure im Samen. Bestimmte Glucosinolatabbauprodukte beeinträchtigen bei einigen Säugetieren die Leber- und Nieren- sowie Schilddrüsenfunktion, was zu Wachstumshemmungen, Leistungshemmung oder verminderter Fruchtbarkeit führen kann (Fenwick & Heaney 1983). Zusätzlich vermindern Glucosinolatabbauprodukte als antinutritiver Faktor die Futtermetaufnahme (Tripathi & Mishra 2007). Für die Tierernährung waren daher Glucosinolate als Sekundärmetaboliten im Rapspresskuchen unerwünscht und es wurde die Suche nach Genotypen begonnen, die deutlich verminderte GSL-Gehalte aufwiesen. Dies gelang mit der Entdeckung der polnischen Sommerrapssorte ‚Bronowski‘ im Jahr 1969, welche auf ein Zehntel reduzierte Glucosinolatgehalte aufwies. Erst die Einkreuzung der Erucasäurefreiheit aus ‚Liho‘ und anschließend der Glucosinolatarmut aus ‚Bronowski‘ in Winterrapssorten führte 1981 zur Zulassung der ersten Sorte mit 00-Qualität in Deutschland, welche die Grundlage für den großflächigen Rapsanbau heute darstellt (Friedt & Snowdon 2010).

Neben dieser eher historischen Bedeutung der Glucosinolate sind heute Glucosinolate in der Grünmasse des Raps von gesteigertem Interesse: Da aus der Literatur bekannt ist, dass Glucosinolate bzw. ihre Abbauprodukte zum einen für Wirtsspezialisten attrahierende oder abschreckende Reize darstellen können (Hopkins *et al.* 2009, Mithen 1992,

Giamoustaris & Mithen 1995, Björkman *et al.* 2011, Agerbirk *et al.* 2009, Bruce 2014) und zum anderen Glucosinolate ein Charakteristikum der Kreuzblütler sind (Fahey *et al.* 2001), erscheint es möglich, dass Glucosinolate spezifisch an der Vermittlung einer Resistenz gegenüber Rapsschädlingen beteiligt sein können. Wichtige Rapsschädlinge sind zwar durch Insektizide kontrollierbar, es ist aber bereits zur Resistenzentwicklung beim Rapsglanzkäfer gegenüber Pyrethroidinsektiziden gekommen (Nauen *et al.* 2012). Daher muss auch die Verbesserung von Resistenzeigenschaften gegenüber spezialisierten Schadinsekten als langfristiges Zuchtziel neben den primären Zielen Erhöhung von Ertrag und Ölgehalt angesehen werden. Folglich wird in dieser Arbeit der Zusammenhang zwischen Glucosinolaten und zwei spezialisierten Rapsstängelschädlingen untersucht. Falls Zusammenhänge bestehen, könnten Sorten mit besonderen Glucosinolatzusammensetzungen oder veränderten Glucosinolatgehalten in bestimmten Pflanzenteilen ein zukünftiges Ziel der Züchtung sein.

Um den heutigen Kenntnisstand der involvierten Themengebiete darzulegen, wird zunächst in Kapitel 1.1 ein kurzer Überblick über die in dieser Arbeit untersuchten Rapsschädlinge gegeben. Anschließend wird in Kapitel 1.2 das konstitutive Abwehrsystem der Pflanze gegenüber Schaderregern, das sogenannte Glucosinolat-Myrosinase System erläutert. In Kapitel 1.3 werden bekannte Beziehungen zwischen GSL mit Insekten wiedergegeben und anschließend in Kapitel 1.4 die Zielstellung der Arbeit dargelegt.

1.1 Schädlinge im Raps und Resistenzproblematik

Im europäischen Rapsanbau treten folgende sechs Insekten als Hauptschädlinge auf (Alford *et al.* 2003):

- Großer Rapserdfloh (*Psylliodes chrysocephalus*)
- Gefleckter Kohltriebrüssler (*Ceutorhynchus pallidactylus*)
- Großer Rapsstängelrüssler (*Ceutorhynchus napi*)
- Rapsglanzkäfer (*Meligethes aeneus* und spp.)
- Echter Kohlschotenrüssler (*Ceutorhynchus assimilis*)
- Kohlschotenmücke (*Dasineura brassicae*)

Die größte wirtschaftliche Bedeutung der genannten Schädlinge hat der Rapsglanzkäfer (Williams 2010). Durch die praxisüblichen Mehrfachbehandlungen mit Insektiziden zur Bekämpfung des Glanzkäfers hat sich im letzten Jahrzehnt eine weitverbreitete Resistenz gegenüber der Insektizidwirkstoffklasse der Pyrethroide entwickelt (Nauen *et al.* 2012). Weiter berichten Zimmer *et al.* (2014) beim Rapserdfloh von ersten Wirkortresistenzen gegenüber Pyrethroiden, sodass eine Resistenzentwicklung in anderen Schädlingsarten aufgrund von hohen Selektionsdrücken auf die Schaderregerpopulationen nicht unwahrscheinlich erscheint. Zudem wurde im Oktober 2013 ein Verbot der Beizung von Rapssaatgut mit Neonicotinoiden erlassen, was die Wirkstoffpalette zur Schädlingsbekämpfung im Raps weiter einschränkt. Diese Beispiele zeigen, dass deutlich höhere Insektizidbehandlungsindizes im Raps gegenüber anderen Kulturen wie Weizen

oder Mais (Freier *et al.* 2014) ein konsequentes Resistenzmanagement der verbliebenen Wirkstoffklassen erfordern. Die genannten Entwicklungen machen es notwendig im Rahmen eines integrierten Pflanzenschutzes natürliche Resistenzquellen gegenüber Schadinsekten im Raps als wichtige Alternative zum chemischen Pflanzenschutz zu identifizieren. In dieser Arbeit werden die beiden zuerst im Frühjahr auftretenden Stängelschädlinge großer Rapsstängelrüssler und gefleckter Kohltriebrüssler untersucht, da Hinweise existieren, dass durch Klimaveränderungen bedingte, steigende Temperaturen im Frühjahr die Verbreitung beider Rüssler fördern und damit das Schädigungspotential in Zukunft steigen kann (Junk *et al.* 2012, Eickermann *et al.* 2014).

1.1.1 Großer Rapsstängelrüssler

Die Körper ausgewachsener Rapsstängelrüssler (*Ceutorhynchus napi*) sind zwischen 3 und 4 mm lang und grau gefärbt mit schwarzen Beinen. Wirtspflanzen sind neben Raps andere Kreuzblütler wie Kohlarten, Rübsen, Rettich oder Senf (Günthart 1949). Adulte des Rapsstängelrüsslers finden sich frühestens ab Februar bei Temperaturen über 9 °C in den Rapsfeldern des Vorjahres, wo sie sich verpuppt und überwintert haben. Der Hauptzuflug in die neuen Rapsschläge findet bei Temperaturen zwischen 12 und 15 °C statt, was jahresabhängig von Ende Februar bis Mitte April der Fall sein kann (Juran *et al.* 2011). Nach dem Zuflug findet bei Weibchen ein kurzer Reifungsfraß an Blättern statt, woraufhin wenig später mit Hilfe des Rüssels Fraßgänge im Mark des schossenden Stängels angelegt werden. In diese erfolgt die Ablage einzelner Eier, bevorzugt wenige Zentimeter unterhalb der Triebspitze (Abbildung 1.1 A, Günthart 1949, Landschreiber 2007). Es ist bekannt, dass Pflanzen über 22 cm Stängellänge seltener mit Eiern belegt werden und frühe Sorten gegenüber späteren Sorten weniger Larven enthalten (Büchi 1996). Weibchen können bis zu 60 Eier ablegen (Juran *et al.* 2011). Charakteristisch ist eine weiße Umrandung der Einstichstellen und eine anschließende Verdickung, die als Gallbildung bezeichnet wird (Abbildung 1.1 A+D). Die Entwicklung des Embryos bis zum Schlupf der Larve dauert in Abhängigkeit der Temperatur zwischen 8 und 16 Tagen. Die Larven fressen anschließend zwischen drei und fünf Wochen bis zu einer Größe von ca. 7 mm im Stängelgewebe, welches von ihren Ausscheidungen braun verfärbt ist (Juran

Abbildung 1.1: Schadsymptome des Rapsstängelrüsslerbefalls. A Einstichstellen unterhalb Triebspitze weiß umrandet. B+C S-förmige Verkrümmung. D Gall- und Seitentriebbildung.

et al. 2011, Landschreiber 2007). Von Mai bis Juni wandern die Larven aus dem Stängel aus und verpuppen sich in der Erde in einem Erdkokon, in dem die Jungkäfer auch überwintern. Es wird eine Generation pro Jahr ausgebildet (Günthart 1949, Juran et al. 2011).

Die Schadsymptome an Pflanzen sind das Verdrehen und Aufplatzen des Stängels, Gallbildung um die Einstichstelle, sowie eine typische S-förmige Verkrümmung (Abbildung 1.1 C-D, Günthart 1949, Büchi 1996, Landschreiber 2007), welche möglicherweise durch ein wuchsstoffähnliches Sekret verursacht wird das bei der Oviposition von den Weibchen abgegeben wird (Günthart 1949, Deubert 1952). Durch die Verletzung des Gewebes beim Einstich zur Eiablage können sekundäre Erreger wie die Wurzelhals und Stängelfäule *Phoma lingam* in die Pflanze eindringen (Krause et al. 2006). Teils stirbt der Haupttrieb ab und es werden früh mehrere Nebentriebe ausgebildet (buschiges Wachstum), was eine verzögerte und unregelmäßige Blüte nach sich zieht (Günthart 1949). In jedem Fall ist eine Wuchsdepression Folge eines Befalls. Der Hauptschaden entsteht durch die Eiablage, weniger durch Larvenfraß (Dosse 1951, Williams 2010). Bei starkem Befall können Ertragsverluste bis zu 50 % entstehen (Landschreiber 2007).

1.1.2 Gefleckter Kohltriebrüssler

Erwachsene Kohltriebrüssler (*Ceutorhynchus pallidactylus*) sind mit 2,5 bis 3,5 mm etwas kleiner als Rapsstängelrüssler und zeigen einen hellen Fleck auf dem Rücken (Günthart 1949, Landschreiber 2007). Die Käfer überwintern unter Pflanzenresten wie Laub oder im flachen Boden an geschützten Stellen wie Waldrändern (Günthart 1949, Juran et al. 2011). Die Flugaktivität beginnt ab 12 °C und erreicht ihr Maximum bei 14,5 °C, womit sie meistens später als der Rapsstängelrüssler einfliegen. Weiterhin fliegen die Männchen 10 - 15 Tage früher in die Rapsbestände ein als die Weibchen (Juran et al. 2011). Die Eiablage erfolgt nach einem ca. zweiwöchigem Reifungsfraß in kleinen Gelegen von zwei bis acht Eiern an die Unterseite der Petiolen, teilweise auch direkt in den Stängel. Die Periode der Eiablage ist länger als beim Rapsstängelrüssler und wird von Günthart (1949) von Ende März bis Ende Mai angegeben. Weibchen des Kohltriebrüsslers bevorzugen Pflanzen zur Eiablage, die bereits vom Rapsstängelrüssler belegt worden sind (Dechert & Ulber 2004). Die Larven minieren zunächst in Blattstielen, in späteren Stadien auch im unteren Stängel (Günthart 1949). Die im Vergleich mit dem Rapsstängelrüssler kleineren Larven (ca. 4 - 5 mm) wandern Ende Mai bis Anfang Juni aus den Wirtspflanzen aus und verpuppen sich im Boden. Nach drei bis vier Wochen schlüpfen die Jungtiere, die nach einem kurzen Reifungsfraß in die Winterquartiere migrieren (Günthart 1949). Mit Kohltriebrüsslerlarven belegte Pflanzen zeigen im Gegensatz zum Stängelrüssler keine Verkrümmung des Haupttriebes, wohl aber durch den Minierfraß der Larven verursachte bräunliche Fraßgänge. Das Schadpotential des Kohltriebrüsslers wird niedriger eingestuft als das des Stängelrüsslers und kann bei hohem Befall Ertragsverluste bis zu 20 % hervorrufen (Landschreiber 2007).

1.2 Das Glucosinolat-Myrosinase System

Glucosinolate (GSL), oder im deutschen Sprachgebrauch auch Senfölglycoside genannt, sind eine Gruppe von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen, die stickstoff- und schwefelhaltig sind (Mithen 2001). Sie kommen in Pflanzen immer zusammen mit dem Enzym Myrosinase vor. GSL und Myrosinase sind die beiden Bestandteile des zweiphasigen GSL-Myrosinase Systems (Abbildung 1.2), welches einen konstitutiven Abwehrmechanismus gegenüber Schadorganismen und insbesondere herbivoren Fraßfeinden darstellt (Bones & Rossiter 1996). Die präformierten GSL und das sie hydrolysierende Enzym liegen voneinander getrennt vor: Entweder in unterschiedlichen, aber benachbarten Zellen oder auf subzellulärer Ebene (Koroleva *et al.* 2000, Andreasson *et al.* 2001).

Abbildung 1.2: Das Glucosinolat-Myrosinase-System und dessen Abbauprodukte (nach Wittstock und Halkier 2002, verändert)

Bei einer Verletzung des Gewebes wird die Kompartimentierung von GSL und Enzym aufgehoben und die als intakte Moleküle nicht-toxischen GSL werden durch die Myrosinase abgebaut (Mithen 2001). Dabei entstehen zunächst unter Abspaltung von Glucose instabile Aglucone, welche sich anschließend in Abhängigkeit der Struktur des Ausgangsglucosinolates, den vorherrschenden Reaktionsbedingungen, sowie weiteren die Myrosinase beeinflussenden Proteinen in verschiedene bioaktive und teils toxische Verbindungen umwandeln (Halkier & Gershenzon 2006). Unter neutralen Bedingungen werden vermehrt Isothiocyanate gebildet, während saure pH-Werte die Bildung von Nitrilen fördern. Weitere GSL-Abbauprodukte können Epithionitrile, Thiocyanate oder Oxazolidine-2-thione sein, die unterschiedliche Wirkungen auf Herbivoren, Insekten und

andere Organismen haben (Bones & Rossiter 2006). Die Abbauprodukte der GSL sind geschmacksgebend für Gemüsearten wie Brokkoli oder Kohl oder auch für die Schärfe von Meerrettich, Senf und Wasabi (Watzl 2001).

1.2.1 Vorkommen und chemische Struktur

GSL kommen hauptsächlich in der Ordnung der *Brassicales* vor, welche auch die Familie der *Brassicaceae* einschließt, die wiederum viele Nutzpflanzen wie Raps, Rübsen, verschiedene Kohlarten, Senf oder Rettich und auch die wissenschaftliche Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* enthält (Daxenbichler *et al.* 1991, Fahey *et al.* 2001).

Die Grundstruktur der GSL besteht aus einem N-Hydroximosulfatester der mit einem thioglucosidisch gebundenen Molekül Glucose und einer variablen Seitenkette verbunden ist (Abbildung 1.2 oben). GSL werden aus den Aminosäuren Methionin, Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Tryptophan, Tyrosin oder Phenylalanin synthetisiert (Halkier & Gershenzon 2006). Bis heute sind über 130 GSL bekannt, von denen die größte Gruppe die vom Methionin-abgeleiteten GSL sind (Fahey *et al.* 2001, Mithen *et al.* 2010, Agerbirk & Olsen 2012). Von der großen Anzahl bekannter GSL kommen bei den meisten Pflanzenarten aber nur einige wenige Haupt-GSL vor. Anhand der Ausgangsaminosäure aus der sie synthetisiert werden, lassen sich GSL in 1) aliphatische GSL aus Methionin, 2) indolische GSL aus Tryptophan und 3) aromatische GSL aus Phenylalanin bzw. Tyrosin gruppieren. In den beiden Donorarten des amphidiploiden Raps, *Brassica oleracea* und *Brassica rapa*, existiert eine größere Variabilität der vorkommenden Glucosinolate als im Raps (Magrath *et al.* 1993). Im Raps kommen nahezu keine aliphatischen GSL mit Seitenkettenlänge von 3 C-Atomen (Propenyl-GSL) vor, sondern nur GSL mit 4 und 5 C-Atomen langen Seitenketten (Butenyl bzw. Pentyl-GSL). Durch interspezifische Hybridisierung erzeugte Rapsresynthesen können ein abweichendes, variables GSL-Muster besitzen (Gland 1982). In dieser Arbeit wurden im Raps insgesamt 11 GSL quantifiziert, deren Namen und Strukturformeln der Seitenkette in Tabelle 1.1 aufgeführt sind. In der Arbeit werden alle 6 aliphatischen GSL zusammengefasst auch als Alkenyl-GSL bezeichnet, die 4 indolischen als Indol-GSL.

GSL haltige Pflanzen kommen immer mit Myrosinasen (EC 3.2.1.147) vor. Diese katalysieren ausschließlich und spezifisch den Abbau von GSL und gehören zu den β -Thioglucosidasen (Bones & Rossiter 2006). Sie sind stark glycolisierte Dimere, deren Untereinheiten eine Masse zwischen 62 und 75 kDa aufweisen (Rask *et al.* 2000). Die verschiedenen Isoenzyme, die teilweise substratspezifisch nur bestimmte GSL hydrolysieren (MacLeod & Rossiter 1986, Loebers *et al.* 2014), werden in den Geweben unterschiedlich stark exprimiert (Thangstadt *et al.* 2004). Myrosinasen werden in Kreuzblütlern durch eine Genfamilie codiert, welche in die drei Unterfamilien MA, MB und MC aufgeteilt wird (Rask *et al.* 2000). Mit den verschiedenen Myrosinasen sind sogenannte „Myrosinase Binding Proteins“ und „Myrosinase Associated Proteins“ assoziiert, deren Funktion noch unklar ist, aber nicht für die Funktion der Myrosinase notwendig sind (Chen & Halkier 1999). Die Anzahl der funktionellen Myrosinasegene *in*

B. napus innerhalb der Unterfamilien wird auf 5 in MA, 10-15 in MB und weitem 5 in MC geschätzt (Rask *et al.* 2000).

Tabelle 1.1: Namen, Abkürzungen, Gruppierungen und Strukturformeln des chemischen Rests der identifizierten Glucosinolate

Gruppe	Trivialname	Abkürzung	Chemischer Name	Struktur Rest
Aliphatische GSL (ALKSUM)	4C Atome	Glucoraphanin	RAA 4-Methylsulfinylbutyl	
		Gluconapin	GNA 3-Butenyl	
		Progoitrin	PRO 2-Hydroxy-3-Butenyl	
	5C Atome	Glucoalyssin	ALY 5-Methylsulfinylpentyl	
		Glucobrassicinapin	GBN 4-Pentenyl	
		Gluconapoleiferin	GNL 2-Hydroxy-4-Pentenyl	
Indol GSL (INDSUM)	Glucobrassicin	GBC	3-Indolylmethyl	
	4-Hydroxyglucobrassicin	4OH	4-Hydroxy-3-Indolylmethyl	
	4-Methoxyglucobrassicin	4ME	4-Methoxy-3-Indolylmethyl	
	Neoglucobrassicin	NEO	1-Methoxy-3-Indolylmethyl	
Aromati- sche GSL	Gluconasturtiin	NAS	2-Phenylethyl	

1.2.2 Lokalisierung innerhalb der Pflanze

Bei GSL-haltigen Pflanzen finden sich GSL und Myrosinasen in allen vegetativen und generativen Pflanzenteilen, jedoch in gewebe- und altersspezifischen Konzentrationen und -zusammensetzungen (Bones & Rossiter 1996, Porter *et al.* 1991, Brown *et al.* 2003). Selbst kleinste Gewebe wie Trichome können GSL enthalten und synthetisieren (Frerigmann *et al.* 2012). Die Verteilung von GSL in Organen ist nicht gleichmäßig und statisch. Innerhalb der Blätter von *Arabidopsis* wurde eine unterschiedliche Verteilung einzelner GSL in Mittelrippe und Blattrand gefunden, welche mit dem Fraßbild der Larven von Baumwollwürmern übereinstimmte (Shroff *et al.* 2008). Die unterschiedliche Akkumulation dreier Glucosinolate in verschiedenen Bereichen eines Pflanzenorgans wird von Sarsby *et al.* (2012) für Knospen, Kelchblätter und Schoten von *Arabidopsis* gezeigt.

Damit die GSL *in planta* nicht durch die Myrosinase abgebaut werden, müssen sie voneinander getrennt sein. Es ist bekannt, dass Myrosinasen in den Vakuolen von Myrosinzellen lokalisiert sind, welche einerseits größer und unregelmäßiger geformt sind als die Nachbarzellen und andererseits erhöhte Proteingehalte aufweisen (Höglund *et al.* 1991). Diese Ideoblasten finden sich vereinzelt im Gewebe aller Orange verstreut, jedoch mit sehr unterschiedlicher Dichte in den verschiedenen Organen (Husebye *et al.* 2002, Andreasson *et al.* 2001). Bei *Arabidopsis* finden sich die Myrosinzellen nur im Phloemparenchym, während sie beim Raps in allen Geweben aufzufinden sind (Andreasson *et al.* 2001, Chen & Andreasson 2001). Die Lokalisierung der GSL hingegen ist nicht vollständig aufgeklärt (Kissen *et al.* 2009). Studien an Meerrettich, Raps und *Brassica juncea* haben gezeigt, dass die GSL mit Ascorbinsäure zusammen in Vakuolen von nicht spezifischen Zellen gespeichert werden (Grob & Matile 1979, Yiu *et al.* 1984, Kelly *et al.* 1998). Bei *Arabidopsis* sind allerdings in Blättern und Sprossachsen nahe des Phloems Zellen mit vielfach höheren GSL-Konzentrationen gefunden worden; die sogenannten S-Zellen (Koroleva *et al.* 2000). Die S-Zellen zeigen Anzeichen eines programmierten Zelltods und weisen einen hohen Spezialisierungsgrad auf. Beispielsweise haben sie dünne Zellwände und Zellorganellen sind zurückgebildet. In der nahen Umgebung der S-Zellen wurden Myrosinzellen gefunden, sodass eine räumlich Trennung von S-Zellen und Ideoblasten besteht. Daher wird die primäre Funktion der S-Zellen im Zusammenhang mit dem Schutz der Leitgefäße angenommen. Aber auch die Möglichkeit eines temporären Zwischenspeichers für GSL, die mit zunehmender Seneszenz in andere Pflanzenteile verlagert werden können, wird in Betracht gezogen (Koroleva *et al.* 2010). Ob im Raps spezifische Zellen ähnlich der S-Zellen existieren, ist aus der Literatur heraus nicht bekannt, scheint aber nicht ausgeschlossen. Die Alternative ist die Speicherung der GSL in nicht-differenzierten Zellen oder eine subzelluläre Trennung. Allgemein sind die Lokalisierung und Expression der Komponenten des GSL-Myrosinase-Systems (GSL, Myrosinase und weiteren Proteinen) für Pflanzenart, Pflanzenteil, Entwicklungsstadium und Genotyp spezifisch (Kissen *et al.* 2009).

1.2.3 Biosynthese und Steuerung

Die Biosynthesepfade der GSL sind größtenteils in *Arabidopsis thaliana* aufgeklärt worden und ein Großteil der involvierten Gene ist heute identifiziert. Wichtige Übersichtsartikel finden sich bei Halkier & Gershenzon (2006), Grubb & Abel (2006) oder Sonderby *et al.* (2010a). Ebenso sind wichtige Transkriptionsfaktoren für aliphatische und indolische GSL beschrieben worden (Hirai *et al.* 2007, Gigolashvili *et al.* 2007, 2009, Frerigmann & Gigolashvili 2014). Zwischen *Arabidopsis* und *Brassica*-Arten wurden überschneidende QTL und orthologe Loci gefunden (Magrath *et al.* 1994, Kliebenstein 2009). Es kann daher angenommen werden, dass die Erkenntnisse zur Synthese aufgrund der Syntenie mit *Arabidopsis* auf Raps übertragbar sind. Aufgrund der komplexen amphidiploiden Genomstruktur des Rapses (Chalhoub *et al.* 2014) ist eine insgesamt vielfach höhere Anzahl an Genkopien im Raps gegenüber der diploiden *Arabidopsis* zu

2-Oxo Säure des Methionins entsteht. Daraufhin beginnt die Verlängerungsreaktion an dessen Ende das 2-Oxo Intermediär um eine Methylengruppe, also ein Kohlenstoffatom, verlängert wurde (Sonderby *et al.* 2010a). Diese Reaktion läuft über eine Kondensation durch eine von drei Methylthioalkylmalat-Synthasen (MAM1-3), gefolgt von einer Isomerisation durch eine von drei verschiedenen Isopropylmalat-Isomerasen (IPMI-LSSU1/IPMI-SSU2/3) und schließlich eine oxidative Decarboxylierung zweier Isopropylmalat-Dehydrogenasen (IPMDH1/3) ab (Halkier & Gershenzon 2006). Die so verlängerte 2-Oxosäure kann dann entweder eine weitere Runde der Kettenverlängerung durchlaufen oder durch BCAT3 zu Homomethionin transaminiert werden und anschließend in den zweiten Hauptschritt, der Bildung des GSL-Grundgerüsts übergehen. Die Desaminierung durch BCAT4 findet im Cytosol statt, alle weiteren Schritte der Kettenverlängerung im Chloroplasten. Das kettenverlängerte Methionin wird über einen noch unbekannten Mechanismus wieder ins Cytosol transportiert (Sonderby *et al.* 2010a). Der Locus, der für die verschiedenen MAM Gene codiert, ist in der Literatur in anderen Arten auch als GSL-ELONG bekannt. MAM1 kann die ersten drei Runden der Kettenverlängerung katalysieren, MAM2 nur die erste und MAM3 die ersten 6 Runden. Bei indolischen GSL findet der Schritt der Kettenverlängerung nicht statt (Grubb & Abel 2006).

Die Ausbildung der Grundstruktur beginnt mit der Umformung der Vorläuferaminosäuren zu Aldoximen. Im Cytosol wird die Reaktion über P450 Cytochrome aus der Familie CYP79 katalysiert. Im Falle der Indol-GSL lauten diese CYP79B2 und B3, bei aromatischen GSL bzw. Phenylalanin CYP79A2. Bei von Methionin abgeleiteten Aminosäuren kann CYP79F1 alle Vorstufen umsetzen, CYP79F2 nur langkettige Vorstufen (Sonderby *et al.* 2010a).

Im zweiten Schritt werden die Aldoxime wiederum von P450 Cytochromen, hier aus der Familie CYP83, zu Nitriloxiden oder aci-nitro Verbindungen oxidiert (Methionin-GSL von CYP83A1, Tryptophan-GSL und Phenylalanin-GSL von CYP83B1). Im folgenden Schritt wird mit Hilfe von Glutathion-S-Transferasen (Methionin-GSL von GSTF11/U20, Tryptophan-GSL von GSTF9/F10) das aktivierte Aldoxim an Glutathion gebunden, welches als Schwefeldonor dient. Das entstandene S-Alkyl-Thiohydroximat wird über die Glutamyl Peptidasen GGP1 und GGP3 hydrolysiert, bevor die C-S-Lyase SUR1 unter Abspaltung von Pyruvat und Ammoniak Thiohydroximate bildet (Halkier & Gershenzon 2006). Im Folgeschritt entstehen aus Thiohydroximaten durch die Konjugation der Glucose aus Uridindiphosphat-Glucose Desulfo-GSL. Der Schritt wird von Glucosyltransferasen aus der Familie UGT74 katalysiert (Methionin-GSL von UGT74C1, Tryptophan-GSL und Phenylalanin-GSL von UGT74B1). Der letzte Schritt vom Desulfo-GSL zum GSL ist eine Sulfatierung durch die Sulfotransferasen SOT16 (Tryptophan-GSL und Phenylalanin-GSL), SOT17 oder SOT18 (Methionin-GSL). Die Sulfatgruppe stammt dabei aus PAPS (3'-Phosphoadenosin-5'-phosphosulfat, Grubb & Abel 2006).

Im Anschluss an die Ausbildung des Grundglucosinolates wird durch sekundäre Modifikationen weitere Strukturvariabilität geschaffen (Wittstock & Halkier 2002). Im Raps besitzen die aliphatischen Haupt-GSL entweder vier oder fünf Kohlenstoffatome in den Seitenketten, während GSL mit drei C-Atomen in der Seitenkette, wie Sinigrin oder Iberin üblicherweise nicht oder nur in Spuren vorkommen (Velasco *et al.* 2008). In Abbildung 1.3 sind daher nur die Haupt-GSL des Raps dargestellt. Als erste Modifikation der aliphatischen GSL ist eine Oxygenierung am Schwefelatom des ursprünglichen Methionins durch Flavin-Monooxygenasen möglich (Sonderby *et al.* 2010a). Bei 4C-GSL wird Glucoerucin demnach zu Glucoraphanin und bei 5C-GSL Glucobervertoin zu Glucoalyssin. Der Locus ist GSL-OX benannt und es sind 5 verschiedene Gene von Flavin-Monooxygenasen FMO_{GSL-OX1-5} bekannt, die eine unterschiedliche Spezifität für verschieden lange Seitenketten zeigen (Sonderby *et al.* 2010a). Ein weiterer übergeordneter Locus zur sekundären Modifikation ist GSL-AOP, unter dem die beiden eng gekoppelten Loci GSL-ALK und GSL-OHP subsummiert sind. Beide Loci kodieren für 2-Oxoglutarat-abhängige Dioxygenasen. GSL-AOP kann als Locus mit drei Allelen angesehen werden (Kliebenstein *et al.* 2005): GSL-ALK oder AOP2 ist das für die Umwandlung von Methylsulfinylalkyl-GSL (wie RAA und ALY) zu Alkenyl-GSL verantwortliche Allel, welches im Raps RAA zu GNA und ALY zu GBN umsetzt. Das zweite Allel, GSL-OHP oder AOP3, wandelt die Methylsulfinylalkyl-GSL in Hydroxyalkyl-GSL um. Da diese im Raps nicht vorkommen, kann angenommen werden, dass die AOP3 Dioxygenase im Raps nicht funktionell ist. Das dritte Allel ist GS-Null, welches die Ausgangs Methylsulfinyl-GSL nicht verändert, da es für kein funktionelles Genprodukt codiert (Kliebenstein *et al.* 2001).

Der dritte Locus, der für Sekundärmodifikationen von Methionin abgeleiteten GSL verantwortlich sein kann, ist GSL-OH. Das Gen kodiert für eine 2-Oxo-Säure-abhängige Dioxygenase, die Alkenyl-GSL hydroxyliert. Im Raps transformiert das Enzym so Gluconapin zu Progoitrin, dem Haupt-GSL des Rapses, und Glucobrassicinapin zu Gluconapoleiferin (Sonderby *et al.* 2010a).

Bei den Indol-GSL sind ebenfalls Modifikationen des Indolyl-3-Methyl-GSL (GBC) möglich. Die P450 Cytochrome aus der Familie CYP81 sind in der Lage den Indolring des GBC zu hydroxylieren, sodass durch CYP81F2/F3/F1 4OH-Indolyl-3-Methyl-GSL und durch CYP81F4 das instabile 1OH-Indolyl-3-Methyl entstehen. Über die beiden Indol-GSL Methyltransferasen IGMT1 und IGMT2 können 1OH und 4OH jeweils zu 4ME und NEO katalysiert werden (Pfalz *et al.* 2011).

In Arabidopsis wird die GSL-Biosynthese durch sechs Transkriptionsfaktoren aus der Genfamilie R2R3 MYB reguliert. MYB28, MYB76 und MY29 (auch „HAGs“ bzw. „High Aliphatic GSL“) steuern die aliphatische GSL-Synthese, während MYB34, MYB51 und MYB122 („HIGs“ bzw. „High Indolic GSL“) die der Indol-GSL regulieren (Hirai *et al.* 2007, Sonderby *et al.* 2010b, Gigolashvili *et al.* 2007, 2008 und 2009).

Die drei Transkriptionsfaktoren MYB28, MYB76 und MYB29 funktionieren alle als Aktivatoren der aliphatische GSL-Synthese, wobei MYB28 der Hauptregulator ist und MYB76 und MYB29 eine geringere Rolle einnehmen. MYB76 spielt eine Rolle in der räumlichen Verteilung der aliphatischen GSL im Blatt und möglicherweise in der Regulation des innerpflanzlichen GSL-Transportes. Die Gene der Biosynthese sind direkte Ziele der MYBs (Sonderby *et al.* 2010b, Gigolashvili *et al.* 2008). Die drei Transkriptionsfaktoren MYB51, MYB34 und MYB122 zeigen sowohl additive als auch epistatische Effekte auf die Regulation der Indol-GSL Synthese (Frerigmann & Gigolashvili 2014). Es besteht ein komplexes Netzwerk zwischen den Transkriptionsfaktoren, die auch eine gegenseitige Regulation der MYBs einschließt. MYB51 spielt eine größere Rolle im Spross und bei Induktion mit Ethylen und Salicylsäure, während MYB34 die Indol-GSL Synthese in der Wurzel reguliert und bei Abscisinsäure- oder Methyljasmonatbehandlung eine wichtige Rolle einnimmt. MYB122 hat eher eine untergeordnete Rolle, besitzt aber unter Stressbedingungen eine bestimmte Bedeutung. Alle drei Faktoren können die Produktion von GBC regulieren, nicht aber das Verhältnis von 4ME zu NEO (Frerigmann & Gigolashvili 2014). Schweizer *et al.* (2013) berichten von drei weitere Transkriptionsfaktoren aus der Familie MYC, die mit allen sechs MYBs interagieren und essentiell für die konstitutive oder induzierte Synthese von GSL sind.

1.2.4 Hydrolyse und Abbauprodukte

Intakte GSL sind innerhalb der Pflanze nicht giftig. Erst bei Beschädigung des Pflanzengewebes kommen die in verschiedenen, aber benachbarten Kompartimenten gespeicherten GSL und Myrosinase zusammen und werden in verschiedenste Abbauprodukte hydrolysiert (Abbildung 1.2, Bones & Rossiter 1996). Es sind vor allem diese unterschiedlichen Abbauprodukte, die die biologischen Funktionen der GSL bestimmen. Welche Abbauprodukte entstehen, hängt von der Struktur der Seitenkette des GSL, dem Vorhandensein von spezifischen Proteinen mit Einfluss auf die Myrosinasen und Kofaktoren wie Eisen und Ascorbinsäure und den Reaktionsbedingungen, insbesondere des pH-Wertes ab (Halkier & Gershenzon 2006). Aus einem GSL spaltet die Myrosinase die Bindung zwischen Schwefelatom und Glucoseeinheit und es entsteht ein instabiles Aglucon und Glucose. Ascorbinsäure erhöht in niedrigen Konzentrationen die Myrosinaseaktivität (Halkier & Gershenzon 2006).

Das Hauptabbauprodukt unter neutralen Reaktionsbedingungen sind in den meisten Pflanzen Isothiocyanate (Reaktion 1 in Abbildung 1.2). Wenn das GSL, wie bei Progoitrin, am zweiten C-Atom eine Hydroxylgruppe trägt, sind die zunächst gebildeten Isothiocyanate instabil und formen Oxazolidine-2-Thione (Wittstock & Halkier 2002).

Weiterhin sind sogenannte „Specifier“ Proteine bekannt, die in Verbindung mit Myrosinasen einen Einfluss auf das Ergebnis des GSL-Abbauproduktes haben (Wittstock & Burow 2007). Das sogenannte Epithiospecifier Protein (ESP) steuert die Hydrolyse von Alkenyl-GSL hin zu Epithionitrilen (Reaktion 4), aber auch den Abbau von Nicht-Alkenyl-GSL und Indol-GSL zu einfachen Nitrilen. Nitrile können alternativ bei sauren pH-Werten

oder Anwesenheit von zweiwertigen Eisenionen entstehen (Reaktion 3, Bones & Rossiter 2006). Neben Isothiocyanaten, einfachen Nitrilen und Epithionitrilen, die in vielen Pflanzen zu finden sind, sind Thiocyanate ein seltenes Abbauprodukt (Reaktion 5). Sie finden sich jedoch in nur wenigen Pflanzenarten und wurden bisher nur bei Vorhandensein der drei Ausgangs-GSL Sinigrin, Glucotropaeolin und Glucoerucin gefunden. In den Abbau dieser GSL zu Thiocyanaten ist das Thiocyanate-Forming Protein (TFP) involviert, welches allerdings ähnlich zu ESP auch die Bildung von Epithionitrilen und Nitrilen katalysieren kann (Kuchernig *et al.* 2011).

Ein weiteres Protein namens „Nitril Specifier Protein“ (NSP) wurde in Larven des Kohlweißlings *Pieris rapae* gefunden, durch dessen Anwesenheit die Hydrolyse der GSL zu Nitrilen anstatt von Isothiocyanaten umgeleitet wird. Vermutlich sind Nitrile im Gegensatz zu den Isothiocyanaten für die Larven weniger schädlich und werden ausgeschieden (Wittstock *et al.* 2004).

Es ist wenig darüber bekannt, ob neben dem GSL-Abbau durch Myrosinase *in vivo* ein „sicherer“ Abbau der GSL im intakten Gewebe durch andere Mechanismen stattfindet und ob intakte GSL oder Metaboliten Funktionen in der Pflanze haben (Grubb & Abel 2006, Agerbirk & Olsen 2012). In Blattmaterial von Arabidopsis-Myrosinase-Knockoutmutanten zeigte sich beispielsweise keine Myrosinaseaktivität mehr, aber dennoch fand ein Abbau von Indol-GSL statt (Barth & Jander 2006). Interessant ist die Entdeckung der Gene PEN2, und PEN3, welche für eine atypische Myrosinase kodieren und im Zusammenhang mit der Abwehr von pilzlichen Erregern stehen (Bednarek *et al.* 2009, Clay *et al.* 2009).

Es gibt Hinweise, dass es zwischen den Indol-GSL und dem Auxin Indol-3-Essigsäure eine Verbindung im Stoffwechsel gibt (Bak *et al.* 2001, Mikkelsen *et al.* 2000). Indol-GSL können bei Anwesenheit von ESP durch Myrosinase zu Indol-Acetonitril umgesetzt werden. Diese kann durch Nitrilasen dann zu Indol-3-Essigsäure hydrolysiert werden. Eine zweite Querverbindung zur Bildung von Indol-3-Essigsäure könnte über Indol-3-Acetaldoxime (IAOx) während der Bildung des GSL-Grundgerüst bestehen: Werden die Enzyme abwärts des IAOx blockiert, erhöht sich das Niveau an Indol-Essigsäure. IAOx ist eine Verzweigungsstelle für die Synthesewege von Indol-GSL, Indol-3-Essigsäure und auch dem Phytoalexin Camalexin (Halkier & Gershenzon 2006). Die genauen Mechanismen sind allerdings nicht bekannt. Dies zeigt jedoch, dass der GSL-Stoffwechsel in komplexe Regulationsnetzwerke eingebunden ist (Yan & Chen 2007).

1.2.5 Innerpflanzlicher Transport

Aufgrund der stark variierenden GSL-Gehalte zwischen Pflanzenteilen, zwischen Entwicklungsstadien und zwischen jungen und alten Geweben eines Pflanzenteiles (Benkert 1992, Clossais-Besnard & Larher 1991, Brown *et al.* 2003) und insbesondere der vielfach höheren Gehalte im Samen gegenüber vegetativen Pflanzenteilen, stellt sich die

Frage inwieweit Transportprozesse für die Verteilung der GSL in der Pflanze verantwortlich sind. Damit verbunden ist die Frage, wo die GSL des Samens synthetisiert werden.

Seit langem ist bekannt dass die GSL-Gehalte im Samen durch den Genotyp der Mutter bestimmt werden (Kondra & Stefansson 1970). Weiterhin fand Lein (1972) mittels Pfropfungen heraus, dass die Samen-GSL zum Großteil in der Schote synthetisiert werden, aber auch aus anderen Pflanzenteile stammen und ein Transport aus den Pfropfungsunterlagen erfolgt. GSL und Desulfo-GSL besitzen die physiochemischen Eigenschaften für einen Transport im Phloem (Brudenell *et al.* 1999). Mittels radioaktiv markierten GSL konnte bei *Arabidopsis* die Verlagerung von exogen zugeführten GSL aus Blättern in den Spross gezeigt werden. In der Studie werden intakte GSL im Phloemsaft nachgewiesen- und als wahrscheinliche Transportform beschrieben (Chen *et al.* 2001). Von maternalen Effekten freie Mikrosporenembryonen des Raps können exogen zugegebenes Sinigrin gegen ein Konzentrationsgefälle aufnehmen, was auf einen aktiven Symport der GSL hindeutet (Iqbal & Möllers 2003). Aufgrund von Genexpressionsdaten wichtiger Biosynthesegene in Embryonen von *Arabidopsis* schließen Nour-Eldin & Halkier (2009), dass Embryonen nicht zur GSL-Neusynthese fähig sind, dort aber Gene für Sekundärmodifikationen der GSL exprimiert werden. Die lange vorhergesagten GSL-spezifischen Transporter wurden 2012 in *Arabidopsis* nachgewiesen (Nour-Eldin *et al.* 2012). Die zwei Protonen-Symporter aus der Klasse der Nitrat/Peptid Transporter, die GTR1 und GTR2 benannt wurden, sind für den Langstreckentransport im Phloem verantwortlich. Sie transportieren aktiv und spezifisch aliphatische GSL, und zwar unabhängig von der Seitenkette. Indol-GSL werden nicht durch diese Transporter verlagert. GTR1 und GTR2 sind in den Plasmamembranen lokalisiert. GTR2 wird nur in den Gefäßbündeln exprimiert und ist vermutlich für den Export in das Phloem zuständig, während GTR1 auch im Mesophyll exprimiert wird und in der Verteilung der GSL innerhalb eines Blatt eine Rolle spielt. Die Doppel-Knockout-Mutanten der beiden Transporter GTR1 und GTR2 sind im Samen frei von GSL und zeigen eine deutliche Überakkumulation von aliphatischen GSL in Blättern und Schotenwänden. Damit wurde gezeigt, dass keine Neusynthese von GSL im Embryo stattfindet und beide GTR Transporter eine Rolle im Transport in den Embryo spielen. (Nour-Eldin *et al.* 2012, Nour-Eldin & Halkier 2013, Andersen *et al.* 2013).

Andersen *et al.* (2013) berichten, dass GTR Transporter an der Verlagerung von aliphatischen GSL zwischen Wurzel und Spross beteiligt sind. Somit ist der Langstreckentransport von aliphatischen GSL im Phloem und Xylem maßgeblich für die GSL-Verteilung zwischen Organen verantwortlich und es bestehen unterschiedliche Source-Sink Beziehungen zwischen vegetativen Organen wie Wurzeln und Blättern. Beim Übergang in die generative Phase ändern sich die Prioritäten der Sinks und GSL werden zu den Knospen bzw. Blüten transloziert (Andersen & Halkier 2014). Weiterhin sind GTR1 und GTR2 auch an der heterogenen Verteilung von GSL innerhalb von Blättern beteiligt. Auch können GSL von der Wurzel über das Xylem in den Spross transportiert werden (Madsen *et al.* 2014). Für die Zukunft stellt sich die Frage, ob auch für Indol-GSL spezifische Transporter existieren und ein Langstreckentransport dieser erfolgt.

1.2.6 Einflussfaktoren auf GSL-Gehalte

Während hauptsächlich durch den Genotyp bedingt ist, welche GSL in Pflanzen vorkommen, sind die GSL-Gehalte von vielen Faktoren abhängig und unterliegen einer großen Variation (Björkmann *et al.* 2011). Der Genotyp, das Entwicklungsstadium und der Pflanzenteil können als „pflanzeninnere“ Faktoren der GSL-Variation angesehen werden (Schilling 1991). In vielen Versuchen wurde eine große Variabilität zwischen Genotypen einer Art oder verwandten Arten festgestellt (Gland 1982, Bradshaw *et al.* 1984, Rosa 1999, Velasco & Becker 2000, Cleemput & Becker 2012). Einen ebenso wichtigen Einflussfaktor auf die GSL-Gehalte stellt das Entwicklungsstadium da, in dem sich eine Pflanze befindet (Brown *et al.* 2003, Stephani 1985, Fieldsend & Milford 1994a,b). In verschiedenen Studien wurden typische Verläufe der GSL-Gehalte in der Vegetationsperiode gefunden. Während der Keimung und in Phasen mit starkem Wachstum nehmen die Gehalte ab und zur Samenreife wieder zu (Bennert 1992, Porter *et al.* 1991, Clossais-Besnard & Larher 1991, Schilling 1991). Auch zwischen verschiedenen Pflanzenteilen gibt es große Unterschiede in den GSL-Gehalten und -zusammensetzungen (Milford *et al.* 1989, Buchner 1988, Fieldsend & Milford 1994a, Rothe *et al.* 2004, Cleemput & Becker 2008, Velasco *et al.* 2008, Fang *et al.* 2012). Generative Teile wie Knospen, Schoten oder Samen haben häufig höhere Gehalte als Stängel oder Blätter und jüngere Pflanzenteile höhere Gehalte als ältere (Petersen *et al.* 2002, Brown *et al.* 2003). Auch die GSL-Zusammensetzungen der Organe können spezifisch sein, beispielsweise weisen Wurzeln mehr NAS auf als oberirdische Pflanzenteile (van Dam *et al.* 2009) und im Samen ist das GSL 4OH mit einem hohen Anteil vertreten (Bennert 1992). Selbst innerhalb von Pflanzenteilen, beispielsweise Blättern wurde eine bestimmte Verteilung der GSL gefunden (Shroff *et al.* 2008).

Von inneren Faktoren unterscheiden sich äußere, abiotische Faktoren, deren Auswirkungen selten genau quantifiziert werden können. So kann neben Dauer und Qualität der Belichtung auch die Temperatur einen Einfluss auf die GSL-Gehalte haben (Charron & Sams 2004, Charron *et al.* 2005). Saisonale, witterungsbedingte Effekte und Standortfaktoren wie die Bodengüte können GSL-Gehalte beeinflussen (Milford & Evans 1991, Rosa *et al.* 1996, Rosa 1999, Schilling & Friedt 1991, Werteker & Kramreither 2002). Agronomische Parameter wie die Pflanzendichte (Milford & Evans 1991, Wentzell & Kliebenstein 2008) oder Schwefel- und Stickstoffdüngung (Demes 1989, Milford & Evans 1991, Schonhof *et al.* 2007) spielen eine Rolle für die Variation der GSL-Gehalte, ebenso wie die Wasserverfügbarkeit bzw. Trockenstress (Milford & Evans 1991, Del Carmen Martínez-Ballesta *et al.* 2013). GSL sind nicht nur konstitutive sekundäre Inhaltsstoffe, sondern ihre Synthese kann auch induziert werden (Textor & Gershenzon 2009). Die mechanische Verletzung oder Behandlung mit chemischen Verbindungen kann die Synthese der Gesamtgehalte oder von GSL-Gruppen wie den Indol-GSL erhöhen (Bodnaryk & Rymerson 1994, Koritsas *et al.* 1991, Li *et al.* 1991a, Doughty *et al.* 1995). Zusätzlich können auch biologische Faktoren wie eine Verwundung der Pflanze durch Fraß (Velasco *et al.* 2007), pilzliche Infektionen (Rask *et al.* 2000, Li *et al.* 1991b) oder ein Insektenbefall

(Hopkins *et al.* 1998, Bartlet *et al.* 1999) die Synthese von GSL induzieren und so die GSL-Gehalte verändern. Die GSL-Gehalte und -Zusammensetzungen unterliegen also dynamischen Veränderungen in der Pflanze und sind nicht als statische Größe anzusehen.

1.3 Rolle der Glucosinolate in der Pflanze-Insekten Interaktion

GSL können auf vielen Ebenen Auswirkungen auf die Interaktionen zwischen Pflanzen und Schadorganismen haben (Hopkins *et al.* 2009). Sie spielen nicht nur eine Rolle in der Interaktion zwischen Pflanze und Insekten, sondern interagieren auch mit Pilzen und Nematoden (Schnug & Ceynowa 1990, Giamoustaris & Mithen 1997, Bednarek *et al.* 2009, Lazzeri *et al.* 2004). In Bezug auf Insekten sind GSL für *Brassicaceae* ein zweischneidiges Schwert: Einerseits können hohe GSL-Gehalte über ihre toxischen Abbauprodukte den Fraß von Wirtsgeneralisten wie Tauben oder Schnecken abwehren bzw. hemmen (Giamoustaris & Mithen 1995, Lambdon *et al.* 2003). Andererseits können GSL Pflanzen aber für Wirtsspezialisten attraktiv machen, die sich durch Anpassung an ihre GSL-haltigen Wirte eine ökologische Nische nutzbar gemacht haben (Mithen 1992, Giamoustaris & Mithen 1995, Björkman *et al.* 2011, Ahuja *et al.* 2011). So können GSL bzw. ihre Abbauprodukte für herbivore Insekten als Kairomone bei der Wirtspflanzenlokalisation dienen oder bei der Evaluierung der Wirtsqualität wichtige Reize für Fraß und Oviposition der Insekten bzw. ihrer Larven darstellen (Renwick 2002, Bartlet *et al.* 1997, Müller 2009, Mewis *et al.* 2002, Hopkins *et al.* 2009).

Auf den Kohlschotenrüssler *Ceutorhynchus assimilis* üben die Isothiocyanate 3-Butenyl-, 4-Pentenyl- und 2-Phenylethyl-Isothiocyanat als GSL-Abbauprodukte eine anziehende Wirkung aus (Evans & Allen-Williams 1998, Bartlet *et al.* 1993, Moyes & Raybould 2001). Auch Rapsglanzkäfer (*Meligethes aeneus*) wurden häufiger in mit Isothiocyanaten behandelten Fallen gefunden als in unbehandelten Fallen (Smart & Blight 2000). 3-Butenyl-Isothiocyanat wirkt attrahierend auf adulte Kohlblattläuse und Senfblattläuse, während die schwarze Bohnenlaus von Isothiocyanaten abgeschreckt wird (Nottingham *et al.* 1991). Das 4-Methoxyindol-3-ylmethyl-GSL (4ME) ist ein Deterrent für die grüne Pfirsichblattlaus (Kim & Jander 2007). Die indolischen GSL Glucobrassicin und Neoglucobrassicin wirken attrahierend auf Rapserdflöhe (Wallsgrrove *et al.* 1999, Koritsas *et al.* 1991). Auf den großen Kohlweißling zeigte Gluconasturtiin eine anziehende Wirkung und wirkte auf dessen Larven fraßstimulierend (Miles *et al.* 2005). Hohe GSL-Gesamtgehalte wirken ebenfalls fraßstimulierend auf Rapserdflöhe und erhöhten die Anzahl von Larven des Kohlweißlings *Pieris rapae* (Giamoustaris & Mithen 1995, Bartlet *et al.* 1994). Isothiocyanate reduzieren das Wachstum von Kohlweißlinglarven (Agrawal & Kurashige 2003). Die Oviposition der Kohlschabe wird durch die Isothiocyanate der GSL Glucoiberin und Glucoraphanin stimuliert (Renwick *et al.* 2006). Und auch Glucobrassicin wirkt als Ovipositionsreiz auf große und kleine Kohlweißlinge (Renwick *et al.* 1992, Städler *et al.* 1995, van Loon *et al.* 1992). Kleine und große Kohlfliegen reagieren ebenfalls positiv auf GSL (Baur *et al.* 1996, Roessingh *et al.* 1992).

Im Laufe der Evolution haben einige der Spezialisten wie die Kohlschabe oder der kleine Kohlweißling Möglichkeiten entwickelt um den GSL-Myrosinase Abwehrmechanismus zu umgehen, indem sie GSL enzymatisch detoxifizieren und anschließend ausscheiden (Ratzka *et al.* 2002, Wittstock *et al.* 2004). Die mehrligige Kohlblattlaus sequestriert GSL und macht sich in Verbindung mit einer insekteneigenen Myrosinase die GSL als eigenes Abwehrsystem gegenüber Prädatoren und Parasitoiden nutzbar (Winde & Wittstock 2011). Das GSL-Myrosinase System ist kein rein konstitutiver Abwehrmechanismus. Nach einer Schädigung oder einem Befall kann die Synthese von GSL induziert werden und so die Attraktivität als Wirtspflanze für später auftretende Schädlinge verändert werden (Textor & Gershenzon 2008). Durch eine GSL-Induktion können volatile GSL-Abbauprodukte indirekt als eine Art „Hilfeschrei“ der Pflanze Nützlinge anlocken (Pope *et al.* 2008, Kos *et al.* 2012). Über die vielschichtigen Wechselwirkungen zwischen GSL, Insekten und weiteren trophischen Ebenen wurden unzählige Untersuchungen durchgeführt, weshalb für detaillierte Informationen auf die Übersichtsartikel von Ahuja *et al.* (2010) und Hopkins *et al.* (2009) verwiesen wird.

1.4 Zielsetzung der Arbeit

Aufgrund von Resistenzentwicklungen wichtiger Rapsschädlinge gegenüber Insektizidwirkstoffen, einer eingeschränkten Wirkstoffpalette von Insektiziden und potentiell zunehmender Bedeutung von Stängelrüsslern im Zuge von Klimaveränderungen ist es eine wichtige Aufgabe der Pflanzenzüchtung natürliche Resistenzquellen gegenüber Schaderregern im Raps zu identifizieren und mit diesen zusätzliche Alternativen zum chemischen Pflanzenschutz bereitzustellen.

Die erste Zielsetzung dieser Arbeit bestand daher in der Evaluierung von Glucosinolatgehalten und –mustern in der Grünmasse als potentielle Resistenzfaktoren gegenüber den spezialisierten Rapsstängelschädlingen Rapsstängelrüssler und Kohltriebrüssler. Eng damit verknüpft war die zweite Zielsetzung, die Vererbung der GSL in Stängel und Blatt zu untersuchen, um eine potentielle, Glucosinolat vermittelte Teilresistenz später für die Pflanzenzüchtung nutzbar machen zu können.

Die zu diesem Zweck durchgeführten dreijährigen Feldversuche mit 30 genetisch und morphologisch sehr unterschiedlichen Rapsgenotypen lieferten eine Datengrundlage, welche es in einem ersten Schritt ermöglichte, die Variation von Glucosinolatgehalten und –mustern, sowie deren quantitativ-genetischen Parameter zu erfassen. Zentrale Fragestellungen im **Kapitel 3.1** lauteten:

- (1) Wie groß ist die genetische Variation für einzelne Glucosinolate, Gruppen von Glucosinolaten und für die Gesamtgehalte in der Grünmasse und im Samen?
- (2) Wie groß ist der Umwelteinfluss auf Glucosinolatgehalte und –zusammensetzungen und gibt es signifikante Interaktionen zwischen Genotypen und Umwelten?

- (3) Sind Veränderungen der Glucosinolatgehalte und –zusammensetzungen in der Grünmasse vom Schossen zur Blüte hin zu beobachten?
- (4) Gibt es in der Grünmasse Unterschiede in den Glucosinolatgehalten und –zusammensetzungen zwischen den Pflanzenteilen Blatt und Stängel?
- (5) Gibt es Unterschiede in den Glucosinolatgehalten und –zusammensetzungen zwischen Grünmasse und Samen? Wie ist die Beziehungen zwischen Samen und Grünmasse?
- (6) Wie lässt sich die zeitliche und räumliche Glucosinolatverteilung innerhalb der Pflanze erklären?

In **Kapitel 3.2** werden anschließend mögliche Zusammenhänge zwischen dem Schädlingsbefall mit dem großen Rapsstängelrüssler *Ceutorhynchus napi* sowie dem gefleckten Kohltriebrüssler *Ceutorhynchus pallidactylus* und Glucosinolaten untersucht. Es wird untersucht, ob

- (1) zwischen Genotypen eine Differenzierung im Befall mit Stängelschädlingen festgestellt werden kann,
- (2) lineare Zusammenhänge zwischen Gehalten an einzelnen Glucosinolaten oder Gruppen von Glucosinolaten mit den erfassten Befallsmerkmalen bestehen und
- (3) sich stärker oder weniger stark befallene Genotypen oder Gruppen von Genotypen durch bestimmte Glucosinolatmuster auszeichnen.

Für den Fall, dass Glucosinolate in der Grünmasse im Zusammenhang mit vorteilhaften Effekten wie beispielsweise verminderter Anfälligkeit gegenüber Schadinsekten stehen sollten, ist es aus Sicht der Pflanzenzüchtung entscheidend, ob gezielte Manipulationen hin zu bestimmten Glucosinolatgehalten oder –zusammensetzungen möglich sind. Dazu ist das Wissen über die genetische Architektur und Regulation der Biosynthese von Glucosinolaten unumgänglich, sodass **Kapitel 3.3** sich schließlich einem Experiment zur Kartierung von Genomregionen widmet, die am Glucosinolatstoffwechsel beteiligt sind. Die Kartierung von Quantitative Trait Loci (QTL) stellt dabei den ersten Schritt im Prozess bis der Identifizierung der verantwortlichen Gene dar. Im Einzelnen soll durch die QTL-Kartierung geklärt werden,

- (1) wo auf dem Genom QTL für Einzelglucosinolate und Gruppen von Glucosinolaten lokalisiert sind, wie diese verteilt sind und
- (2) inwiefern die GSL-Gehalte in den Pflanzenteilen Blatt, Stängel und Samen von gemeinsamen oder verschiedenen Faktoren reguliert werden.

In **Kapitel 4** werden dann die wichtigsten Ergebnisse der drei Themenfelder diskutiert.

2 Material und Methoden

2.1 Glucosinolatvariation und Schädlingsbefall

2.1.1 Versuchsaufbau

Zur Erfassung der GSL-Variation und des Befalls mit spezialisierten Stängelschädlingen wurden dreijährige Versuche an je vier Standorten mit einem 30 Genotypen umfassenden Prüfsortiment als Blockversuch durchgeführt (Tabelle 2.1). Die Aussaat erfolgte in Einzelkornsaat. Aussaat-, Dünge-, Herbizid-, Fungizid- und ergänzende Pflegemaßnahmen wurden ortsüblich durch die jeweiligen Versuchsbetriebe durchgeführt. Auf Insektizidbehandlungen wurde mit Hinblick auf die Versuchsfragestellung verzichtet.

Tabelle 2.1: Aufbau der Versuchsserie 2011 bis 2013 (Abkürzungen der Standorte in Klammern)

Faktor	Anzahl	Stufen
Jahre (J)	3	2011, 2012, 2013
Standorte (O)	4	Göttingen-Reinshof (RH) Göttingen-Weende (WE) Einbeck/KWS (EI) Peine/Limagrain (PE)
Genotypen (G)	30	siehe Tabelle 2.2
Wiederholungen	2 (4) [§]	

[§] 2012 und 2013 4 Wiederholungen am Standort Weende

2.1.2 Material

Unter dem geprüften Material (Tabelle 2.2) befanden sich neben 15 resynthetisierten Rapslinien die Hybriden Visby und Mendel, ältere (Sollux, Liropa, Santana, Mansholt und Samurai), als auch jüngere Sorten (Express, Oase, Grizzly, Campala), sowie die wiederholt auf sehr niedrigen GSL-Gehalt im Samen selektierte Linie GOE-1991 und drei nicht angepasste Linien (Abukuma natane, Olimpiade und Gaoyou). Kriterien für die Auswahl der Genotypen waren eine große Variabilität im Gesamtgehalt und der Zusammensetzung der Glucosinolats in Samen und Grünmasse. Da in den Versuchen auch die Präferenz von Schaderregern überprüft werden sollte, war eine große Variabilität in morphologischen Merkmalen ebenfalls erwünscht. Einige der Genotypen wurden in vorherigen Arbeiten bereits im Zusammenhang mit dem Befall des Kohltriebrüsslers von Eickermann (2008) und Eickermann *et al.* (2011) untersucht.

Tabelle 2.2: Prüfsortiment 2011 – 2013 (Darstellung der Resynthesen nach Girke 2002, §)2013 gegen H196 getauscht. §)2013 gegen H4 getauscht)

Genotyp	Sortentyp	Mutter Resynthese / Klassifizierung	Vater Resynthese / Beschreibung
S30	Resynthese	<i>B. oleracea</i> convar. <i>capitata</i> var. <i>capitata</i>	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>
S3	Resynthese	<i>B. rapa</i> ssp. <i>rapa</i>	<i>B. oleracea</i> convar. <i>acephala</i> var.
S14	Resynthese	<i>B. napus</i> var. <i>pabularia</i> x <i>B. oleracea</i> convar. <i>acephala</i> var. <i>sabellica</i>	<i>B. rapa</i> ssp. <i>oleifera</i>
L16	Resynthese	<i>B. oleracea</i> convar. <i>botrytis</i> var. <i>alboglobra</i>	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>
L122	Resynthese	<i>B. oleracea</i> convar. <i>capitata</i> var. <i>sabauda</i>	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>
G53	Resynthese	<i>B. oleracea</i> convar. <i>capitata</i> var. <i>capitata</i>	<i>B. rapa</i> ssp. <i>nipposinica</i> var. <i>pervi-</i>
H327	Resynthese	<i>B. oleracea</i> convar. <i>capitata</i> var. <i>capitata</i>	<i>B. rapa</i> ssp. <i>nipposinica</i> var. <i>pervi-</i>
H10	Resynthese	<i>B. oleracea</i> convar. <i>capitata</i> var. <i>capitata</i>	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>
H113	Resynthese	<i>B. oleracea</i> convar. <i>capitata</i> var. <i>sabauda</i>	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>
H231 [§]	Resynthese	<i>B. oleracea</i> convar. <i>capitata</i> var. <i>capitata</i>	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>
H4 [§]	Resynthese	<i>B. oleracea</i> convar. <i>acephala</i> var. <i>sabellica</i>	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i> var. <i>laxa</i>
H30	Resynthese	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>	<i>B. napus</i> ssp. <i>napus</i> var. <i>pabularia</i>
H65 [§]	Resynthese	<i>B. oleracea</i> convar. <i>capitata</i> var. <i>sabauda</i>	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>
H196 [§]	Resynthese	<i>B. oleracea</i> convar. <i>acephala</i> var. <i>gongyloides</i>	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>
H149	Resynthese	<i>B. oleracea</i> convar. <i>acephala</i> var. <i>medullosa</i>	<i>B. rapa</i> ssp. <i>chinensis</i>
R140	Resynthese	<i>B. oleracea</i> convar. <i>capitata</i> var. <i>capitata</i>	<i>B. rapa</i> ssp. <i>oleifera</i>
R53	Resynthese	<i>B. oleracea</i> convar. <i>acephala</i> var. <i>sabellica</i>	<i>B. rapa</i> ssp. <i>pekinensis</i>
Abukuma natane	Linie	<i>B. napus</i> subsp. <i>napus</i> var. <i>napus</i> f. <i>biennis</i>	Herkunft Japan (IPK CR 156), ++ Qualität
GOE-1991	Linie	<i>B. napus</i> subsp. <i>napus</i> var. <i>napus</i> f. <i>biennis</i>	Deutschland, Uni Göttingen, 00-Qualität selektiert auf Niedrig-GSL
Sollux	Linie	<i>B. napus</i> subsp. <i>napus</i> var. <i>napus</i> f. <i>biennis</i>	Deutschland, Zuchtgemeinschaft WR 1973, ++-Qualität, Hoch-GSL
Gaoyou	Linie	<i>B. napus</i> subsp. <i>napus</i> var. <i>napus</i> f. <i>biennis</i>	China aus Chinese breeding line '695' x Japanese cultivar 'Nongling 18' ++ Qualität
Mendel	Hybride	<i>B. napus</i> var. <i>oleifera</i>	Deutschland, NPZ Lembke 2001, 00-Qualität, Kohlhernie resistent
Liropa	Linie	<i>B. napus</i> subsp. <i>napus</i> var. <i>napus</i> f. <i>biennis</i>	Deutschland, DSV 1983, 00-Qualität
Visby	Hybride	<i>B. napus</i> var. <i>oleifera</i>	Deutschland, NPZ Lembke 2007, 00-Qualität
Express	Linie	<i>B. napus</i> var. <i>oleifera</i>	Deutschland, NPZ Lembke 1993, 00-Qualität
Oase	Linie	<i>B. napus</i> var. <i>oleifera</i>	Deutschland, Linie DSV 2004, 00-Qualität
Santana	Linie	<i>B. napus</i> subsp. <i>napus</i> var. <i>napus</i> f. <i>biennis</i>	Frankreich, 00-Qualität, 1985
Grizzly	Linie	<i>B. napus</i> var. <i>oleifera</i>	Frankreich, RAGT 2004, 00-Qualität
DH Mansholt	DH Linie	<i>B. napus</i> subsp. <i>napus</i> var. <i>napus</i> f. <i>biennis</i>	DH-Linie aus „Mansholt's Hamburger Raps“ Niederlande 1899, ++ Qualität
DH Samourai	DH Linie	<i>B. napus</i> subsp. <i>napus</i> var. <i>napus</i> f. <i>biennis</i>	DH-Linie aus Frankreich, INRA/SERASEM 1989, 00-Qualität
Olimpiade	Linie	<i>B. napus</i> subsp. <i>napus</i> var. <i>napus</i> f. <i>biennis</i>	Italien, Semiwintertyp, ++ Qualität
Campala	Linie	<i>B. napus</i> var. <i>oleifera</i>	UK, Dekalb 2002, 00-Qualität

2.1.3 Probenahmen für Glucosinolatanalysen

In jedem Versuchsjahr wurden zu zwei Terminen (T1 und T2) Probenahmen für die GSL-Analysen in der Grünmasse durchgeführt (Tabelle 2.3). Um einen Zusammenhang zwischen Befall mit Stängelschädlingen und GSL untersuchen zu können, wurden die ersten GSL-Probenahmetermine unmittelbar mit dem beginnenden Zuflug der Rapsstängelrüssler terminiert. Die zweiten GSL-Probenahmetermine wurden im jeweiligen Versuchsjahr kurz vor Blühbeginn des Sortiments durchgeführt. Damit konnten Veränderungen im GSL-Muster zwischen den beiden Probenahmeterminen verglichen werden. Sofern möglich wurden zur Samenreife auch offen abgeblühte Samenproben entnommen und GSL mit Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) und Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) untersucht.

Tabelle 2.3: Aussaat- und Probenahmetermine T1 und T2 für Glucosinolatanalysen (GSL) sowie Boniturtermine für Schädlingsbefall 2011 - 2013

Jahr	Standort	Aussaat	GSL T1	GSL T2	Befallsbonitur
2011	Göttingen-Reinshof	08.09.2010		Auswinterung	
	Göttingen-Marienstein	13.09.2010	13. April	15. Mai	5. Mai
	Einbeck-Rotenkirchen	02.09.2010	15. April	16. Mai	5. Mai
	Peine-Hofschwicheldt	06.09.2010		Auswinterung	
2012	Göttingen-Reinshof	22.08.2011	28. März	30. April	3. Mai
	Göttingen-Weendelsgraben	22.08.2011	27. März	30. April	8. Mai
	Einbeck-Rotenkirchen	02.09.2011	29. März	27. April	9. Mai
	Peine-Mehrum	02.09.2011	30. März	01. Mai	10. Mai
2013	Göttingen-Reinshof	21.08.2012	19. April	21. Mai	21. Mai
	Göttingen-Weendelsgraben	22.08.2012	17. April	24. Mai	22. Mai
	Einbeck-Rotenkirchen	29.08.2012	18. April	21. Mai	-
	Peine- Groß Bülden	30.08.2012	23. April	23. Mai	23. Mai

Aus jeder Parzelle wurden für eine Grünmassemischprobe mindestens fünf Einzelpflanzen entnommen und in Blatt und Stängel getrennt, wie in Abbildung 2.1A exemplarisch dargestellt ist. Um die durch das breite genetische Material bedingten Unterschiede in den Entwicklungsstadien der Genotypen zu berücksichtigen, wurde jeweils von der Triebspitze des Haupttriebes ausgehend beprobt, zumal die Eiablagepunkte der Rapsstängelrüsslerweibchen ebenfalls im oberen Stängelsegment zu finden sind (Abbildung 2.1B). Es wurden pro Einzelpflanze maximal 15 cm Stängel und die obersten fünf voll entfalteten Blätter verwandt. Um die unterschiedliche Pflanzenentwicklung der Genotypen festzuhalten, wurde zu den beiden Probenahmeterminen die Pflanzenlänge gemessen und eine Bonitur des BBCH-Stadiums durchgeführt.

Beim Trennen der Pflanzen ist eine Verletzung des Gewebes nicht vermeidbar, sodass ein GSL-Abbau durch das pflanzeigene Enzym Myrosinase angenommen werden musste. Um diese Verluste zu minimieren, wurden die Proben unmittelbar nach Entnahme in Papierzweinahtflachbeutel (11,5*16cm, Artikel-Nr. 30710, Fa. Nette Papier Göttingen) überführt und auf dem Feld auf Trockeneispellets (-78 °C) gefroren. Bis zur Inaktivierung des Enzyms durch Wasserentzug in der Gefriertrocknung verblieben die Proben dementsprechend in der Gefrierkette.

Abbildung 2.1: A) Trennung einer Einzelpflanze in Blatt und Stängel bei der GSL-Probenahme B) Einstichstellen der Stängelrüsslerweibchen (Göttingen-Weende, März 2012)

2.1.4 Erfassung der Befallsparameter

Als Parameter des Befalls wurden im Rahmen der Dissertation von Schäfer-Kösterke (2015) von der Abteilung Agrarentomologie die Anzahl an Larven des Großen Rapsstängelrüsslers und des Gefleckten Kohltriebrüsslers pro Pflanze im Haupttrieb bestimmt. Die Bonitur wurde im Zeitfenster um die Blüte durchgeführt, bevor die Larven aus dem Stängel auswandern konnten (Tabelle 2.3). Dazu wurden pro Parzelle mindestens 10 Pflanzen entnommen, deren Stängel aufgeschnitten und anschließend unter einem Binokular die Art der Larven bestimmt und ausgezählt. Als weiterer Parameter für die Entwicklung der Larven innerhalb des Stängels wurde die Länge der Fraßgänge in cm gemessen. In Verbindung mit der Pflanzenlänge zum Termin der Bonitur wurde der „Stem-Injury-Coefficient“ (STIC) nach der Formel

$$STIC = \frac{\text{Fraßganglänge [cm]}}{\text{Pflanzenlänge [cm]}}$$

berechnet. Er stellt somit den von den Larven minierten, prozentualen Anteil an der Gesamtlänge des Stängels dar. Weitere Einzelheiten sind der Dissertation von Schäfer-Kösterke (2015) zu entnehmen.

2.1.5 Auswertung

Die varianzanalytische Auswertung der Versuche erfolgte mit der Software PLABSTAT Version 3Bwin (Utz 2005). Zunächst erfolgte die Verrechnung der Einzelorte als vollständig randomisierter Blockversuch. Schließlich wurde mit den Mittelwerten der Umwelten eine Verrechnung als Serie über Umwelten mit gepoolten Fehlervarianzen durchgeführt. Für die Auswertung der dreijährig angelegten Versuche über Jahre und Orte wurde jede Jahr-Standort Kombination als Umwelt betrachtet, da die Anzahl der Standorte aufgrund von Auswinterungsschäden in zwei von drei Jahren nicht konstant war. Im zugrunde gelegten Modell setzte sich dabei der Beobachtungswert x_{ij} des i -ten Genotyps in der j -ten Umwelt im betrachteten Merkmal additiv aus folgenden Parametern zusammen:

$$x_{ij} = \mu + g_i + u_j + gu_{ij} + e_{ij} \quad \text{mit}$$

x_{ij}	Beobachtungswert des i -ten Genotyps in der j -ten Umwelt
μ	Versuchsmittel
g_i	Effekt des i -ten Genotyps
u_j	Effekt der j -ten Umwelt
gu_{ij}	Interaktionseffekt zwischen i -tem Genotyp und j -ter Umwelt
e_{ij}	Restfehler

Die Genotypen wurden dabei als fixer, die Umwelten als zufälliger Faktor definiert. Im Teil GSL-Variation (Kapitel 3.1) waren für die Grünmasse-GSL am Termin T1 (T2) in der finalen Auswertung 10 (9) Umwelten eingeschlossen. Für die Samen-GSL umfasste die Zahl der Umwelten 5. Zwei Genotypen mussten zur Aussaat 2012 aufgrund von Saatgutmangel getauscht werden, sodass in der Verrechnung der Serie die Anzahl der Prüfglieder bei 28 lag. PLABSTAT schätzt die Heritabilität h^2 nach folgender Formel (Falconer & Mackay 1996):

$$h^2_{iws} = \frac{V_G}{V_P} = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \frac{\sigma_{gu}^2}{u} + \frac{\sigma_e^2}{ur}} \quad \text{mit}$$

h^2_{iws}	Heritabilität im weiteren Sinn
V_P	Phänotypische Varianz der Mittelwerte
$V_G = \sigma_g^2$	Genotypische Varianz der Mittelwerte
σ_{gu}^2	Varianz der Genotyp-Umwelt Interaktion
σ_e^2	Fehlervarianz
u	Anzahl Umwelten
r	Anzahl Wiederholungen

Für multiple Mittelwertvergleiche wurde sofern nicht anders angegeben Tukey's HSD Test aus dem R-Paket 'agricolae' verwendet. Hauptkomponentenanalysen wurden mit der Funktion prcomp aus dem R-paket 'stats' durchgeführt, dazu wurden die Daten dazu jeweils durch Subtraktion des Mittels zentriert und durch Division mit der Standardabweichung skaliert (R Core Team 2013).

2.2 Kartierungsexperiment Glucosinolatvererbung

2.2.1 Versuchsaufbau

Für den Projektteil der QTL-Kartierung von Blatt, Stängel und Samen-GSL wurde an insgesamt vier Standorten die DH-Population ‚L16 x Express‘ jeweils als Gitteranlage mit zwei Wiederholungen ausgesät (Tabelle 2.4). Die Populationsentwicklung und Vermehrung wurde vom Projektpartner Limagrain GmbH durchgeführt. Aufgrund unterschiedlicher Saatgutmengen nach einjähriger Vermehrung variierte die Anzahl ausgesäter DH-Linien pro Standort.

Tabelle 2.4: Versuchsaufbau der DH-Population ‚L16 x Express‘ an vier Standorten (Abkürzungen in Klammern) mit Aussaat- und GSL-Probenahmeterminen in der Vegetationsperiode 2012/2013 (WDH Anzahl Wiederholungen)

Standort	Anzahl DH-Linien	WDH	Aussaattermin	Probenahme GSL
Reinshof (RH)	150	2	03.09.2012	06.05.2013
Peine (PE)	120	2	01.09.2012	29.04.2013
Einbeck (EI)	104	2	29.08.2012	30.04.2013
Hovedissen (HD)	90	2	28.08.2012	02.05.2013

2.2.2 Material

Der Elter L16 der Population ist nach Girke (2002) eine Resynthese aus Chinesischem Brokkoli und Chinakohl. Der Samen ist frei von Erucasäure, jedoch hoch-GSL haltig. Die GSL-Gehalte in der Grünmasse (Abbildung 2.2) sind mit rund 3 μmol hingegen jedoch sehr niedrig. Insbesondere dessen relativer Anteil an Indol-GSL ist mit 57 % im Vergleich zum Elter Express (19 %) erhöht. Letzterer besitzt im Samen 00-Qualität und es finden sich in der Grünmasse im Mittel absolute GSL-Gesamtgehalte um 10 μmol . Der relative Anteil an Alkenyl-GSL in der Grünmasse von Express beläuft sich auf 77 % gegenüber 40 % bei L16.

Abbildung 2.2: Mittlere relative Zusammensetzung der Populationseltern L16 und Express in Grünmasse (10 Umwelten) und Samen (5 Umwelten). Gesamtgehalte in Klammern.

2.2.3 Merkmalerfassung

Es wurden an allen vier Standorten zu je einem Termin Grünmasseproben und zur Samenreife offen abgeblühte Samenproben entnommen (Tabelle 2.4). Die Vorgehensweise glich dabei der in Teil 2.1.3 beschriebenen. Aufgrund des Einflusses der

Ontogenese auf den absoluten GSL-Gehalt in der Grünmasse wurde versucht die Probenahmetermine anhand der Entwicklungsstadien der Eltern der Population an den Standorten zu terminieren, um Ortseffekte zu minimieren. Als weitere phänotypische Merkmale wurden Blühbeginn, -ende und -dauer, als auch Pflanzenhöhe zur Reife aufgenommen.

2.2.4 Genotypisierung

Für die Genotypisierung der DH-Linien konnte der 60k Brassica Infinium® SNP-Array von Illumina mit Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Markern genutzt werden (Ganal *et al.* 2012, Hayward *et al.* 2012). Die Analysen wurden bei Trait Genetics in Gatersleben durchgeführt. Dafür wurden 150 DH Linien der Population im Gewächshaus angezogen und aus 200 mg Blattmaterial DNA extrahiert. Die Extraktion und Aufreinigung erfolgte per Kit (innuPREP Plant DNA Kit, Analytik Jena AG, Jena). Anschließend wurde die DNA-Konzentration unter Zuhilfenahme des Standards Hoechst 33528 (Sigma Aldrich, USA) photometrisch bestimmt (VersaFluor Fluorometer, BioRad, München), auf 50 ng/µl verdünnt und die Proben in 96er-Microtiterplatten (Rotilabo, Carl Roth, Karlsruhe) zur Analyse verschickt.

2.2.5 Auswertung

Die statistische Auswertung der Versuche erfolgte nach den Modellen in Kapitel 2.1.5 ebenfalls als Serie mit PLABSTAT (Utz 2005). Die Einzelorte wurden als Gitteranlage verrechnet. Nach einem technischen Defekt während eines Gefriertrocknungslaufs musste ein Probensatz aus dem Versuch aus Einbeck verworfen werden, was zur Folge hatte, dass der Ort aufgrund zu vieler fehlender Datenpunkte nicht ausgewertet werden konnte. Nach Verrechnung der Einzelorte Reinshof (150 Linien), Peine (120 Linien) und Hovedissen (90 Linien) wurde aufgrund der unterschiedlichen Anzahl Linien (Tabelle 2.4) eine Verrechnung über zwei Orte (Reinshof und Peine) mit 120 Linien, sowie eine Verrechnung über drei Orte mit 90 Linien vorgenommen.

Die Markerkarte der DH-Population in Kapitel 3.3 wurde mit dem R-Paket ‚rqtl‘ erstellt (Broman *et al.* 2003). Für das Ordering der Marker innerhalb der Kopplungsgruppen wurde RECORD (van Os *et al.* 2005) und für das QTL Mapping Windows QTL Cartographer 2.5 benutzt (Wang *et al.* 2012). In letzterem wurden im Modul Composite Interval Mapping folgenden Einstellungen vorgenommen: Walk speed 1 cM, CIM Model 6 mit fünf Kontrollmarkern und einem Fenster von 10 cM, sowie Forward & Backward Regression mit $p_{\text{into/out}} = 0,1$. Die LOD Grenzwerte der Merkmale wurden durch 500 Permutationen bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % ermittelt. Der ‚circleplot‘ (Abbildung 3.27) wurde mit dem Perlscript ‚circos‘ erstellt (Krzywinski *et al.* 2009), die Visualisierung der Kopplungskarte mit Mapchart 2.2 (Voorrips 2002).

2.3 Probenaufbereitung und HPLC Analytik für Glucosinolatanalysen

Die Zwischenlagerung der Grünmasseproben erfolgte bei -20°C, das anschließende Gefriertrocknen für rund 97 Stunden (Christ EPS 2-40, Fa. Christ, Osterode am Harz). Die getrockneten und hygroskopischen Proben wurden in 50ml Falcon-Röhrchen (CELLSTAR® PP, mit Stehrand, Artikel 210261, Fa. Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen) überführt und eine Mischung von Stahlkugeln (3 - 8mm Durchmesser, Menge in Abhängigkeit des Materials und der Füllhöhe) für das Vermahlen hinzugefügt. Das Vermahlen erfolgte für 60 Sekunden in einem Vertikalschüttler. Wurde Samenmaterial analysiert, wurden die Proben in einer handelsüblichen Kaffeemühle (KM 75, Krups) für zweimal vier Sekunden vermahlen. Die homogenisierten Proben wurden bis zur Extraktion dunkel bei Zimmertemperatur gelagert.

In allen zu analysierenden Proben wurden gemäß Protokoll (Anhang 7.1) Desulfo-GSL analysiert (nach Thies 1977 und Kräling *et al.* 1990, modifiziert). Dabei werden zunächst in einer zweistufigen Heißextraktion mit einem Methanol-Wassergemisch (70 % und 10 % MeOH) bei 75°C lösliche Pflanzeninhaltsstoffe, unter anderem auch Glucosinolate extrahiert. Im darauffolgenden spezifischen Aufreinigungsschritt werden die negativ geladenen GSL-Moleküle an einen Anionenaustauscher (20mg DEAE-Sephadex A-25, Sigma-Aldrich, USA) gebunden und ungebundene Substanzen des Extraktes mit destilliertem Wasser von der Säule gewaschen. Anschließend werden die noch am Dextrangel gebundenen Glucosinolate durch die GSL-spezifische H1-Sulfatase aus *Helix pomatia* (Thies 1979)

Tabelle 2.5: HPLC-System und Analysenparameter

Beschreibung	Parameter	
Shimadzu Prominence Series (Shimadzu Corp. Japan)		
Pumpe LC-20AT	Flussrate 0,6 ml / min	
Autosampler SIL-20AC	Kühltemperatur Proben 15°C	
Controller CBM-20A		
Photodiodenarray-Detektor SPD-M20A	Detektionswellenlänge 229 nm	
Säulenofen CTO-20A	Säulentemperatur 35°C	
Trennsäule	Nucleodur 100-3 C18ec (Machery-Nagel)	
Vorsäule	LiChrospher 100 RP 18-5µ (Merck Millipore)	
Eluent A	H2O _{demi} (< 18 MΩ/cm, Elgastat UHQ)	
Eluent B	Acetonitril (ROTISOLV, Carl Roth)	
Laufzeit pro Probe	35 min	
Injektionsvolumen	30µl - 60µl	
Lösungsmittelgradient	Min. 0 – 20	Eluent B in A -> 1 % auf 20 %
	Min. 20 – 25	Eluent B in A -> 20 %
	Min. 25 – 27	Eluent B in A -> 20 % auf 1 %
	Min. 27 – 35	Eluent B in A -> 1 %

über Nacht umgesetzt, sodass aufgereinigte Proben mit neutralen Desulfo-GSL von den Säulen eluiert und nachfolgend direkt injiziert werden können. Die HPLC-Analysen wurden mit der Gerätezusammenstellung und –einstellungen in Tabelle 2.5 durchgeführt.

Die Identifikation der Einzel-GSL (Abbildung 2.3) erfolgte per Abgleich der Retentionszeiten mit vorhandenen Referenzsubstanzen. Waren diese nicht verfügbar wurden verbleibende Peaks aus bekannten Standardproben oder durch den Vergleich der Peakreihenfolgen von Referenzchromatogrammen zugeordnet (Wathelet 1987, EU-Kommission 1990, Kräling *et al.* 1990, Wathelet *et al.* 2004).

Abbildung 2.3 Zuordnung der Einzelglucosinolate mit Retentionszeiten (Notation: GSL-Name, Retentionszeit, Peakfläche. Abkürzungen siehe Tabelle 1.1)

Die Quantifizierung der Einzel-GSL erfolgte über die Hinzugabe einer konstanten Stoffmenge des internen Standards Glucotropaeolin, welcher in *B. napus* nicht vorkommt. Unter Zuhilfenahme der relativen Responsefaktoren wurden die Gehalte der einzelnen Desulfo-GSL (DS-GSL) mit folgender Formel ermittelt (EU-Kommission 1990):

$$\text{Gehalt}_{\text{DS-GSL}} (\mu\text{mol} * \text{g TM}^{-1}) = \frac{\text{Peakfläche}_{\text{DS-GSL}}}{\text{Peakfläche}_{\text{GTL}}} * \text{rel. RF} * \frac{\text{Stoffmenge}_{\text{GTL}} (\mu\text{mol})}{\text{Einwaage} (\text{mg})}$$

3 Ergebnisse

3.1 Quantitative Variation von Glucosinolatgehalt und -muster unter Freilandbedingungen

3.1.1 Varianzkomponenten und Heritabilitäten

In Tabelle 3.1 sind die Ergebnisse der Varianzanalyse über Umwelten getrennt nach Termin und Pflanzenteil dargestellt. Insgesamt konnten elf Glucosinolate (GSL) gefunden werden, welche, je nach entsprechender Aminosäure aus der diese synthetisiert werden, in die Gruppen der Alkenyle, Indole und aromatischen Glucosinolate subsummiert wurden, um die Darstellung zu vereinfachen. Die Ergebnisse der Einzel-GSL sind im Anhang 7.2 zu finden.

Tabelle 3.1: Varianzkomponenten und Heritabilität (h^2) der Serienverrechnung in der Grünmasse an zwei Terminen (T1/T2) für zwei Pflanzenteile Blatt (BL) und Stängel (ST) sowie zur Samenreife (T3) im Samen (SA)

Merkmal	Termin	Material	Varianzkomponenten							h² [%]
			Genotyp		Umwelt		G*U		Fehler	
Gesamt-GSL	T1	BL	61,24	**	35,69	**	10,74	**	1,98	98
		ST	111,33	**	42,34	**	17,74	**	3,07	98
	T2	BL	4,73	**	5,59	**	3,64	**	0,24	92
		ST	10,78	**	8,07	**	6,16	**	0,70	93
	T3	SA	1001,40	**	34,43	**	43,88	**	11,52	99
Alkenyl-GSL	T1	BL	57,46	**	25,56	**	9,65	**	1,69	98
		ST	96,49	**	25,27	**	15,85	**	2,42	98
	T2	BL	3,91	**	4,87	**	2,41	**	0,91	91
		ST	9,07	**	6,69	**	5,28	**	0,54	93
	T3	SA	981,03	**	28,41	**	41,14	**	10,54	99
Indol-GSL	T1	BL	0,44	**	1,90	**	0,60	**	0,15	85
		ST	1,26	**	3,66	**	0,79	**	0,30	92
	T2	BL	0,03	**	0,11	**	0,01	**	0,02	87
		ST	0,04	**	0,24	**	0,05	**	0,02	82
	T3	SA	0,43	**	0,39	**	0,34	**	0,15	81
Aromat-GSL (NAS)	T1	BL	0,08	**	0,01	**	0,05	**	0,01	94
		ST	0,37	**	0,05	**	0,14	**	0,04	95
	T2	BL	0,002	**	0,001	**	0,003	**	0,002	75
		ST	0,08	**	0,11	**	0,04	**	0,03	91
	T3	SA	0,43	**	0,05	**	0,08	**	0,01	96

Für den Gesamt- und Alkenylgehalt an T1 wurden sehr große genotypische Varianzkomponenten geschätzt, die 1,7 bis 3,8-fach größer als die der Umwelten waren. An T2 lag dieses Verhältnis zwischen 0,8 und 1,35. An beiden Terminen gab es für diese beiden Merkmale signifikante Genotyp-Umwelt Interaktionen, deren Größe der Varianzkomponenten am ersten Termin zwischen 16 und 18 % und am zweiten Termin zwischen 57 und 77 % der genotypischen Varianzkomponente betrug. In Verbindung mit geringen

Restfehlern errechnen sich Heritabilitäten zwischen 97 und 98 % an T1 und zwischen 91 und 93 % an T2.

Die für die Indol-GSL ermittelten Heritabilitäten lagen im Bereich zwischen 81 und 92 %. Die zwei Fälle niedrigerer Heritabilitäten (T1 BL und T2 ST) resultierten aus jeweils leicht größeren Varianzkomponenten der Genotyp-Umwelt Interaktionen gegenüber derjenigen der Genotypen. Weiterhin waren die genotypischen Varianzkomponenten für die Indol-GSL kleiner als die des Faktors Umwelt, was als Hinweis auf einen höheren Umwelteinfluss gegenüber den anderen GSL-Gruppen gedeutet werden kann. Bei NAS als Vertreter der aromatischen GSL waren die Heritabilitäten in drei von vier Fällen größer als 90 %. In der Kombination T2 Blatt (h^2 75 %) waren erhöhte Varianzkomponenten für Fehler und Genotyp-Umwelt Interaktion auffällig. Zudem fällt auf, dass für alle vier Merkmale in Tabelle 3.1 die genotypischen Varianzkomponenten für Stängel-GSL konsistent höher waren als für Blatt-GSL und in 15 der 16 Fälle die Heritabilitäten der Stängel-GSL Merkmale größere Werte annahmen als für Blatt-GSL. Auch war die Relation des Restfehlers zur Gesamtvarianz am zweiten Termin häufig höher als am ersten Termin.

3.1.2 Mittlere GSL-Zusammensetzung der Genotypen in Grünmasse und Samen

In Abbildung 3.1 ist die über Umwelten gemittelte Zusammensetzung der untersuchten 28 Genotypen jeweils für die Grünmasse und den Samen dargestellt. Im GSL-Gesamtgehalt bestanden deutliche Unterschiede zwischen der Grünmasse mit rund 11 μmol und den Samen mit ca. 58 μmol . Weiterhin wird im rechten Teil der Abbildung deutlich, dass der relative Anteil der Einzel-GSL am Gesamtgehalt zwischen Samen und Grünmasse unterschiedlich war. Während die Alkenyl-GSL in der Grünmasse knapp 81 % aller

Abbildung 3.1: Mittlere GSL-Gehalte ($\pm$ Standardfehler) und GSL-Zusammensetzung von 28 Genotypen in Grünmasse und Samen (*) signifikante Unterschiede im GSL-Gesamtgehalt zwischen Gruppen bei $p=0,001$. Tukey's HSD, 138 df error)**

GSL ausmachten, waren es im Samen 92 %. Der relative Anteil an Indol-GSL und dem aromatischen NAS war wiederum in der Grünmasse mit rund 15 % bzw. 4 % höher als im Samen. Hauptbildner in beiden Organen war jeweils PRO (Samen 60 % und Grünmasse 32 %), gefolgt von GBN in der Grünmasse (25 %) bzw. GNA im Samen (19 %). Die nächstgrößere Fraktion stellte ALY in der Grünmasse (15 %) und GBN im Samen (6 %) dar. In der Grünmasse machten die Indol-GSL GBC und NEO zusammen weitere 15 % des GSL-Gesamtgehaltes aus, während sie im Samen zur Summe unter 1 % beitrugen. Der Anteil NAS betrug im Samen knapp 1,5 % und in der Grünmasse ca. 4 %. Der Anteil an 4OH im Samen mit 5,6 % im Vergleich zu 0,5 % in der Grünmasse bedeutet, dass es sich im untersuchten Material um ein samenspezifisches GSL handelte.

3.1.3 Einfluss des Probenahmetermins

Aus Abbildung 3.2 ist ersichtlich, dass der Probenahmetermin einen hochsignifikanten Einfluss auf den GSL-Gesamtgehalt hatte. Hatten die Genotypen im Mittel über Umwelten und Pflanzenteile in der Grünmasse zum ersten Termin T1 zu Beginn des Schossens noch knapp über 18,1 μmol , so reduzierte sich ihr Gehalt am Termin 2 (T2) zu Beginn der Blüte auf 4,1 μmol . Der relative Anteil der GSL-Gruppen war von dieser Abnahme nur marginal tangiert: Während der Anteil Alkenyl-GSL um 1,7 % auf 79,4 % abnahm, waren ebendiese 1,7 % als Zunahme beim NAS zu verzeichnen. Damit blieb der Anteil der Indol-GSL konstant bei 15,3 %.

Abbildung 3.2: Einfluss des Probenahmetermins auf GSL-Gehalte ($\pm$ Standardfehler) und GSL-Zusammensetzung in der Grünmasse (**signifikante Unterschiede im GSL-Gesamtgehalt zwischen Terminen bei $p=0,001$. Tukey's HSD, 108 df error)

Abbildung 3.3: Veränderung der relativen GSL-Zusammensetzung per Genotyp in der Grünmasse von T1 zu T2 geordnet nach den gemittelten Beträgen der Veränderungen

Betrachtet man für jeden Genotyp die relativen Veränderungen der GSL-Anteile von T1 zu T2 (Abbildung 3.3), so fällt auf, dass zwischen den Genotypen eine große Variation in der Veränderung der GSL-Zusammensetzung existierte. Einerseits finden sich links im Diagramm Genotypen, deren GSL-Zusammensetzung sich zwischen den Terminen kaum änderte. Die 14 Genotypen von ‚Abukuma natane‘ bis ‚Grizzly‘ wiesen alle Veränderungen im Bereich unter 5 % auf. Andererseits gab es aber auch solche Genotypen, bei denen Verschiebungen zwischen den Gruppen von bis zu 18 % beobachtet werden konnten.

Genotypen mit stärkeren absoluten Abnahmen (schwarze Punkte in Abbildung 3.3), scheinen im Diagramm geringe Veränderungen aufzuweisen. Bei niedrig-GSL Typen beispielsweise, deren absolute Abnahmen im GSL-Gesamtgehalt gering sind, fallen die relativen Veränderungen vergleichsweise groß aus. Zwischen den Genotypen bestanden weiterhin Unterschiede in der Art der Verschiebung: Bei 18 Genotypen war der Anteil der Alkenyl-GSL reduziert, dafür der Anteil Indol-GSL und Aromat-GSL erhöht. Am deutlichsten ist dies bei Samourai zu erkennen, dessen Anteil Alkenyl-GSL an T2 um knappe 19 % unter dem an T1 lag, im Gegenzug dafür der Anteil Indol-GSL um ca. 14 % sowie NAS um ca. 5 % erhöht waren. Die umgekehrte Veränderung findet sich beispielsweise bei Liropa, dessen Indol-GSL Gehalt in der Grünmasse von T1 zu T2 um knapp 18 % vermindert war, dafür 12,6 % mehr Alkenyl-GSL und 4,8 % mehr aromatische GSL an T2 enthielt. Bei den Genotypen R140, H10 und H113 hingegen wurden zu T2 höhere Anteile NAS (+5,5 %, +2,1 % und +1,9 %) beobachtet.

Betrachtet man anstatt der GSL Gruppen die Verschiebungen der Anteile an Einzel-GSL (Tabelle 3.2), so fällt auf, dass bei 26 der 28 Genotypen der Anteil an GBN vermindert war, und zwar im Mittel der Genotypen um ca. 8 %. Weiterhin war PRO um knapp 2 % vermindert, GNL (+3,1 %), ALY (+1,9 %) und RAA (+1,2 %) dafür jedoch erhöht. Bei den Indol-GSL fanden sich im Mittel höhere Anteile an 4ME (+1,6 %) und 4OH (+1,4 %) und NEO (+0,4 %) gegenüber einer Verminderung des Anteils an GBC um 2,5 %. Zwischen den einzelnen Genotypen variierten diese beschriebenen Verschiebungen der Einzel-GSL jedoch stark ohne eindeutig erkennbares Muster.

Tabelle 3.2: Veränderung der relativen Glucosinolatanteile per Genotyp in der Grünmasse von T1 zu T2 geordnet nach den gemittelten Beträgen der Veränderungen (ALK Alkenyl-GSL, IND Indol-GSL, ARO Aromat-GSL)

Genotyp	Diff. Gesamt- GSL [µmol/g TM]	Veränderung der Glucosinolatanteile von T1 zu T2 [% Änderung]													
		ALK	IND	ARO	Alkenyl-GSL						Indol-GSL				Mitt- lere Diff.
					NAS	PRO	GBN	ALY	GNA	GNL	RAA	GBC	NEO	4ME	
Abukuma	-9,0	-0,3	+0,4	-0,0	-3,8	-2,7	-0,3	+1,9	+2,5	+2,1	-1,6	-1,7	+2,6	+1,1	+0,2
L122	-23,4	+0,6	-1,0	+0,4	+1,8	-7,8	+3,5	+1,4	+1,5	+0,2	-1,0	-1,2	+0,2	+0,9	+0,7
S3	-22,3	-1,1	+0,5	+0,6	+0,4	-2,6	-0,1	+1,3	+0,2	-0,3	-0,5	+0,2	+0,5	+0,2	+0,7
S14	-21,9	+0,6	-1,2	+0,7	+5,2	-12,1	+4,8	+0,6	+1,3	+0,8	-1,3	-0,6	+0,2	+0,4	+0,8
H327	-12,9	+1,7	-0,2	-1,5	+2,9	-4,4	-5,1	+6,9	+1,2	+0,2	-2,2	-0,7	+2,1	+0,7	+1,1
G53	-19,4	+1,6	-1,7	+0,1	-0,5	-6,0	+1,0	+4,3	+1,2	+1,6	-2,2	-0,7	+0,8	+0,4	+1,1
H113	-20,7	-0,5	-1,4	+1,9	-1,8	-4,4	+3,9	+0,3	+1,3	+0,3	-3,4	-0,3	+0,8	+1,6	+1,2
Sollux	-31,9	+0,6	-1,9	+1,3	+1,4	-7,4	+4,5	+0,6	+0,4	+1,2	-1,8	-0,7	+0,2	+0,5	+1,3
H10	-10,7	-0,8	-1,3	+2,1	-5,1	+2,2	-2,7	+3,6	+2,2	-1,0	-3,2	-0,8	+0,7	+2,1	+1,4
R53	-14,1	-2,1	+1,9	+0,2	+4,0	-8,9	+3,0	-4,8	+4,4	+0,1	-2,7	+0,7	+1,8	+2,1	+1,4
Campala	-12,9	-2,2	+2,2	+0,0	-0,9	-8,5	+2,7	-0,8	+3,9	+1,4	-5,0	+2,7	+1,8	+2,6	+1,5
Mansholt	-21,1	+2,7	-3,1	+0,3	+8,4	-11,8	+4,0	+0,3	+1,0	+0,8	-4,4	+0,0	+0,8	+0,5	+2,1
GOE1991	-5,3	+3,6	-2,6	-1,0	-0,1	+1,1	-9,9	+1,5	+7,8	+3,2	-7,4	-1,7	+3,1	+3,4	+2,4
Grizzly	-18,3	-4,3	+3,3	+1,0	-3,5	-8,3	+4,5	-0,2	+2,3	+0,8	-0,3	+1,7	+1,1	+0,7	+2,9
Olimpiade	-11,8	-5,4	+3,3	+2,1	-2,5	-10,7	+4,2	-0,4	+1,0	+2,9	+0,2	+0,5	+1,7	+1,0	+3,6
R140	-16,6	-2,5	-3,0	+5,5	-4,1	-4,4	+1,3	+3,4	+1,0	+0,3	-6,1	+0,6	+1,3	+1,2	+3,7
Oase	-10,2	-7,1	+4,2	+2,9	-6,4	-9,6	+2,0	+0,1	+4,8	+2,1	-0,6	+1,6	+2,0	+1,2	+4,7
Santana	-5,0	+3,6	-7,2	+3,5	-4,1	-3,5	+4,4	+0,1	+5,4	+1,3	-8,5	-3,4	+1,9	+3,0	+4,8
Express	-14,0	-7,6	+4,3	+3,3	-6,5	-8,6	+2,9	-0,8	+3,9	+1,4	+1,0	+0,5	+1,5	+1,2	+5,0
Mendel	-11,8	-7,6	+3,9	+3,7	-2,2	-12,8	+1,3	-0,4	+4,7	+1,8	-0,3	+1,9	+1,3	+1,0	+5,1
H149	-15,9	-7,7	+6,8	+0,9	-1,4	-8,1	+1,4	-1,2	+1,2	+0,3	+3,7	+1,3	+1,5	+0,3	+5,2
S30	-9,1	-10,6	+6,8	+3,8	-7,3	-11,1	+3,8	-1,3	+4,0	+1,2	+0,6	+2,8	+2,1	+1,3	+7,1
Gaoyou	-15,7	-11,7	+6,0	+5,7	-5,0	-15,9	+6,2	-1,1	+3,3	+0,9	-0,3	+2,8	+2,3	+1,3	+7,8
H30	-11,2	-12,5	+11,8	+0,7	-11,6	-12,1	+4,8	-0,8	+5,5	+1,7	+4,3	+2,9	+2,5	+2,1	+8,3
L16	-3,5	+10,0	-13,6	+3,6	+0,6	-1,2	+3,0	+0,3	+5,5	+1,8	-18,1	-1,8	+3,3	+3,0	+9,1
Visby	-9,2	-15,4	+13,8	+1,6	-7,6	-16,6	+0,5	-1,1	+7,2	+2,2	+2,1	+6,1	+3,4	+2,2	+10,3
Liropa	-4,5	+12,8	-17,6	+4,8	+2,6	-3,3	+3,2	+2,4	+5,7	+2,2	-14,9	-5,6	+1,7	+1,2	+11,8
Samourai	-10,4	-18,7	+13,6	+5,1	-7,4	-17,2	+1,6	-1,4	+3,7	+2,0	+3,1	+5,0	+3,2	+2,3	+12,5
Mittel	-14,0	-2,9	+1,0	+1,9	-1,9	-7,7	+1,9	+0,5	+3,1	+1,2	-2,5	+0,4	+1,6	+1,4	+4,2

3.1.4 Einfluss von Standort und Jahr

Neben dem Probenahmetermin unterlagen die GSL-Gehalte in der Grünmasse Umwelt-
effekten, welche in Abbildung 3.4 zusammengefasst sind. Das Gesamtmittel (orange ge-
strichelte Linie) der GSL-Gesamtgehalte über alle 10 Umwelten lag bei 11,1 μmol . In den
Jahren 2012 und 2013 unterschieden sich die GSL-Gesamtgehalte kaum (gelbe und
blaue Linie) und auch die Rangierung der Einzelorte blieb in der Reihenfolge Peine <
Reinshof < Einbeck < Weende gleich. Eine Ausnahme stellte das Jahr 2011 dar, in dem
die Gehalte mit 6,4 μmol deutlich unter den Jahresmitteln aus 2012 und 2013 lagen.

Abbildung 3.4: Einfluss von Standort und Jahr auf GSL-Gehalte ($\pm$ Standardfehler) in der Grünmasse gemittelt über 2 Termine und 2 Pflanzenteile (Orangene Linie: Gesamtmittel über alle Umwelten. Rote, gelbe und blaue Linie: Jahresmittel. Standorte: MS Marienstein, PE Peine, EI Einbeck, RH Reinshof, WE Weende)

3.1.5 Einfluss des Pflanzenteils

Zu den zwei Probenahmeterminen wurden jeweils Blätter und Stängel gleichzeitig untersucht. Im GSL-Gesamtgehalt zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen Blatt (9,7 μmol) und Stängel (12,6 μmol), welche damit 2,9 μmol ausmachten (Abbildung 3.5). Der Anteil an Alkenyl-GSL lag im Stängel 4,5 % niedriger als im Blatt, während die Indol-GSL um 1,1 % bzw. das aromatische GSL NAS zu 3,4 % vermehrt im Stängel zu finden waren.

Abbildung 3.5: Einfluss des Pflanzenteils auf GSL-Gehalte ($\pm$ Standardfehler) und GSL-Zusammensetzung in der Grünmasse (* signifikante Unterschiede im GSL-Gesamtgehalt zwischen Pflanzenteilen bei $p=0,05$, Tukey's HSD, 108 df error)

3.1.6 Korrelationen zwischen Glucosinolatgehalten und Pflanzenentwicklung

Neben den GSL-Profilen wurden als Parameter für die Pflanzenentwicklung die Pflanzenlänge und das BBCH-Stadium der Genotypen an den Probenahmeterminen erfasst (Tabelle 3.3). Auf den ersten Blick fällt auf, dass ein Großteil der Korrelationskoeffizienten ein negatives Vorzeichen aufwies. An beiden Terminen ließen sich signifikant negative Korrelationen der Pflanzenlänge mit dem Gehalt an Indol-GSL finden, die am ersten Termin stärker ausgeprägt waren ($r_{BL} = -0,57$ und $r_{ST} = -0,59$) als am zweiten Termin ($r_{BL} = -0,40$ und $r_{ST} = -0,38$).

Tabelle 3.3: Korrelationskoeffizienten zwischen Glucosinolatgruppen und Pflanzenlänge bzw. BBCH-Stadium an zwei Terminen T1 / T2 für je zwei Pflanzenteile Blatt (BL) und Stängel (ST). n.s. nicht signifikant. *, ** Korrelation signifikant verschieden von Null bei $p=0,05$, $0,01$

Termin	Merkmal	Material	Gesamt-GSL	Alkenyl-GSL	Indol-GSL	Aromat-GSL
T1	Pflanzenlänge	BL	-0,20 n.s.	-0,14 n.s.	-0,57 **	-0,23 n.s.
		ST	-0,23 n.s.	-0,16 n.s.	-0,59 **	-0,23 n.s.
	BBCH-Stadium	BL	-0,30 n.s.	-0,27 n.s.	-0,46 *	0,05 n.s.
		ST	-0,43 *	-0,38 *	-0,59 **	-0,15 n.s.
T2	Pflanzenlänge	BL	0,06 n.s.	0,10 n.s.	-0,40 *	-0,34 n.s.
		ST	0,02 n.s.	0,09 n.s.	-0,38 *	-0,43 *
	BBCH-Stadium	BL	0,16 n.s.	-0,16 n.s.	-0,20 n.s.	-0,13 n.s.
		ST	-0,29 n.s.	-0,27 n.s.	-0,28 n.s.	-0,23 n.s.

Für die BBCH-Stadien existierten am ersten Termin für Blatt und Stängel neben einer signifikanten negativen Korrelation zwischen den Indol-GSL ($r_{BL} = -0,46$ und $r_{ST} = -0,59$) weiterhin negative Zusammenhänge zwischen Gesamt-GSL ($r_{ST} = -0,43$) und Alkenyl-GSL ($r_{ST} = -0,38$) im Stängel. Diese Korrelationen ließen sich jedoch am zweiten Termin nicht wiederfinden. Weiterhin war das aromatische GSL NAS am Termin 2 im Stängel negativ mit der Pflanzenlänge korreliert ($r_{ST} = -0,43$).

3.1.7 Korrelationen der Glucosinolatgehalte zwischen Pflanzenteilen

Für die linearen Zusammenhänge zwischen Blatt- und Stängelmateriale (Tabelle 3.4 und Abbildung 3.6) fanden sich an beiden Terminen hohe bis sehr hohe positive Koeffizienten für Gesamt- und Alkenyl-GSL ($r = 0,83$ bis $0,97$), hohe für NAS ($r = 0,78$ und $0,87$) und mittlere für Indol-GSL-Gehalte ($r = 0,61$ bis $0,68$). An Termin 2 war dieser Zusammenhang zwischen beiden Grünmasseanteilen in Abhängigkeit des einzelnen GSL stets geringer ausgeprägt. Bei dem GSL GNL war die Korrelation nicht signifikant von Null verschieden.

Tabelle 3.4: Korrelationskoeffizienten zwischen Glucosinolatgehalten der Pflanzenteile Blatt und Stängel mit Samenglucosinolatgehalten zu je zwei Terminen T1 / T2 (n.s. nicht signifikant; *, **, * Korrelation signifikant verschieden von Null bei $p=0,05$, $0,01$, $0,001$)**

Merkmal	Blatt - Stängel		Samen - Stängel		Samen - Blatt	
	T1	T2	T1	T2	T1	T2
Gesamt-GSL	0,96 ***	0,83 ***	0,53 **	0,64 ***	0,68 ***	0,62 ***
Alkenyl-GSL	0,96 ***	0,86 ***	0,55 **	0,64 ***	0,66 ***	0,63 ***
PRO	0,97 ***	0,92 ***	0,55 **	0,59 ***	0,66 ***	0,53 **
GBN	0,96 ***	0,84 ***	0,31 n.s.	0,44 *	0,39 *	0,43 *
ALY	0,93 ***	0,85 ***	0,51 **	0,57 **	0,55 **	0,48 *
GNA	0,98 ***	0,89 ***	0,42 *	0,64 ***	0,49 **	0,57 **
RAA	0,84 ***	0,49 **	0,78 ***	0,51 **	0,94 ***	0,89 ***
GNL	0,58 **	-0,08 n.s.	-0,05 n.s.	-0,19 n.s.	0,16 n.s.	-0,19 n.s.
Indol-GSL	0,68 ***	0,61 ***	0,18 n.s.	0,30 n.s.	0,01 n.s.	-0,03 n.s.
GBC	0,60 ***	0,51 **	-0,17 n.s.	0,14 n.s.	-0,06 n.s.	-0,08 n.s.
NEO	0,80 ***	0,55 **	-0,19 n.s.	-0,24 n.s.	-0,15 n.s.	-0,02 n.s.
4OH	0,76 ***	0,52 **	0,25 n.s.	0,05 n.s.	0,09 n.s.	0,18 n.s.
4ME	0,69 ***	0,44 *	-0,002 n.s.	-0,05 n.s.	0,12 n.s.	-0,10 n.s.
NAS	0,87 ***	0,78 ***	0,42 *	0,53 **	0,47 *	0,37 n.s.

Für die Beziehung der GSL-Gehalte zwischen Samen und Blatt bzw. Stängel fanden sich im Vergleich zur Grünmasse insgesamt geringer ausgeprägte Zusammenhänge: Gesamt- und Alkenylgehalt besaßen Korrelationskoeffizienten zwischen $r = 0,53$ und $0,68$. Für die Einzel-GSL dieser Gruppe lagen diese im Bereich von $r = -0,19$ bis $0,94$. Für GNL bestand als einziges der Alkenyl-GSL kein signifikanter Zusammenhang zwischen Grünmasse und Samen.

Sowohl für den Indol-Gehalt als Gruppe, als auch für die Einzel-GSL dieser Gruppe fanden sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen Samen und Blatt bzw. Samen und Stängel. Die Werte der Korrelationskoeffizienten variierten im Bereich um Null zwischen $r = -0,24$ bis $0,30$. Für NAS zeigten sich mittlere, positive Korrelationskoeffizienten von $r = 0,37$ bis $0,53$ für den Zusammenhang zwischen Grünmasse und Samen. Im Vergleich dazu war die Korrelation zwischen Blatt und Stängel mit $r = 0,87$ (T1) und $r = 0,78$ (T2) deutlich stärker ausgeprägt.

Durch die insgesamt hohen Korrelationen zwischen Blatt und Stängel finden sich jeweils nur geringe Unterschiede in der Höhe der Korrelationen Samen-Blatt und Samen-Stängel. Am Termin 1 fällt auf, dass für die Einzel-GSL der Alkenyle im Stängel geringere Korrelationskoeffizienten vorlagen als im Blatt. Zu Termin 2 hatten sich diese Unterschiede jedoch egalisiert.

Für vier GSL-Gruppen sind in Abbildung 3.6 die beschriebenen Korrelationen als Punktediagramm visualisiert. Aufgrund der hohen Korrelation zwischen Blatt- und Stängel-GSL wurden diese zum Merkmal Grünmasse zusammengefasst. Beim Gesamt- und Alkenygehalt fällt auf, dass es einen Genotypen (L16, grüner Punkt) gibt, der einen hohen Samen-gehalt und gleichzeitig einen sehr niedrigen Grünmassegehalt $< 2 \mu\text{mol}$ besitzt. Die umgekehrte Kombination aus niedrigem Samen-gehalt und hohem Grünmassegehalt (unterer rechter Bereich des Diagramms) trat in diesem Materialsatz jedoch nicht auf. Weiterhin lässt sich die Gruppe von Genotypen mit 00-Qualität im Samen für Gesamt-, Alkenyl- und NAS-Gehalte klar identifizieren, während für den Indol-Gehalt keine Gruppierung zu erkennen ist.

Abbildung 3.6: Korrelationsdiagramme für die Korrelationen der GSL-Gehalte von vier Glucosinolatgruppen (Gesamt, Alkenyl, Indol, NAS). Links: Zwischen Stängel (y-Achse) und Blatt (x-Achse) gemittelt über 2 Termine. Rechts: Zwischen Samen (y-Achse) und Grünmasse (x-Achse, gemittelt über Blatt und Stängelgehalte und zwei Termine). r Korrelationskoeffizient nach Pearson. p p-Wert.

3.1.8 Glucosinolatprofile und Hauptkomponentenanalysen

Die beschriebenen Einflussfaktoren Probenahmetermin, Standort und Jahr sowie Pflanzenteil führen zu einer großen Variation der GSL-Gehalte und -Zusammensetzungen in den Genotypen. Abbildung 3.7 versucht diese Variabilität bezogen auf die Genotypen zusammenzufassen. Im oberen Teil der Abbildung sind die Absolutgehalte der Genotypen getrennt nach Grünmasse (GM) und Samen (SA) dargestellt, während der untere Teil die relative Zusammensetzung darstellt. Die Werte der Grünmasse sind jeweils gemittelt über zwei Probenahmetermine sowie die beiden Pflanzenteile Blatt und Stängel.

Für die GSL-Gehalte lässt sich erkennen, dass sowohl in der Grünmasse, als auch im Samen innerhalb der Sortentypen weiterhin eine quantitative Variation existierte. Die GSL-Gehalte der Genotypen mit ++-Qualität im Samen variierten in der Grünmasse von 7 μmol bei H30 bis zu ca. 26 μmol bei Sollux. Im Samen lag der Wertebereich der Gesamtgehalte innerhalb dieser Gruppe zwischen 40 μmol bei R53 und 101 μmol bei H327. Große Unterschiede zwischen Samen und Grünmassegehalt waren bei H327 (90 μmol Differenz), H10 (84 μmol) oder L122 (82 μmol) erkennbar. Auch die 0+-Resynthese L16, deren Samengehalt mit fast 54 μmol mehr als das 18-fache des Gehaltes der Grünmasse von 2,7 μmol betrug, fiel auf.

Die Variation innerhalb der Genotypen mit 00-Qualität war erwartungsgemäß geringer als in Genotypen mit ++-Qualität, aber dennoch vorhanden. Beispielweise besaß Grizzly in der Gruppe der 00-Linien in der Grünmasse mit fast 13 μmol deutlich höhere GSL-Gehalte als Liropa oder GOE-1991 (< 4 μmol). Zwischen letztgenannten fand sich im Samen wiederum ein Unterschied der GSL-Gehalte von rund 8 μmol .

Bezüglich der GSL-Zusammensetzungen (Abbildung 3.7 unten) wird deutlich, dass in den ++-Genotypen mit hohen Gesamtgehalten (wie Sollux, S3, Mansholt und L122) die GSL PRO, GBN und GNA in der Grünmasse dominierten und dementsprechend Anteile an Indol-GSL unter 20 % enthalten waren. Als Genotypen mit den höchsten Anteilen an Indol-GSL in der Grünmasse hingegen fanden sich L16, Santana und Liropa (> 50 % Indol-GSL). Aus der Gruppe der ++-Resynthesen fielen R53 und H10 mit erhöhten Indol-Gehalten auf. ‚Abukuma natane‘ wies gegenüber den restlichen Genotypen in der Grünmasse einen erhöhten Anteil an NAS (grün) mit ca. 11 % auf. Die Samen der 00-Linien und Hybriden enthielten Anteile an 4OH (lila) über 10 %.

Um zu überprüfen, inwiefern die Klassifizierung der Genotypen nach Sortentypen aufgrund der Samenqualität mit den Glucosinolatgehalten und -Zusammensetzungen in der Grünmasse übereinstimmt, wurde als multivariate Methode eine Hauptkomponentenanalyse mit den absoluten GSL-Gehalten zum einen (Abbildung 3.8) und den relativen GSL-Zusammensetzungen zum anderen (Abbildung 3.9) durchgeführt.

Für die Analyse der GSL-Absolutwerte (Abbildung 3.8) zeigte sich im positiven Bereich der ersten Hauptkomponente (PC1) eine Gruppe Genotypen, die aus Resynthesen (blau) und Linien mit ++-Qualität (rot) im Samen bestand. Am auffälligsten ist der Genotyp S3, welcher hinter Sollux den höchsten GSL-Gehalt in der Grünmasse mit rund 21 μmol aufwies (siehe auch Abbildung 3.7). Die als ++-Linien klassifizierten Genotypen (rote Punkte) Abukuma natane, Gaoyou und Olimpiade waren in ihren GSL-Gehalten ähnlich niedrig und sind im Diagramm von den höherhaltigen Mansholt und Sollux getrennt.

Abbildung 3.8: Hauptkomponentenanalyse der absoluten GSL-Gehalte in der Grünmasse von 28 Genotypen gemittelt über Termine und Umwelten

Linksseitig, im negativen Bereich der ersten Hauptkomponente finden sich diejenigen Genotypen mit sehr niedrigen GSL-Gehalten in der Grünmasse. Darunter befinden sich neben den Linien und den beiden Hybriden mit 00-Qualität im Samen auch die Resynthesen L16 und S30, welche im Samen zwar erucasäurefrei, aber hoch-GSL haltig sind. Eine Ausnahme stellt H30 dar, welche den niedrigsten GSL-Gehalt der ++Resynthesen in der Grünmasse besaß. Andersherum ähnelte Grizzly in seinem Grünmassegehalt eher Genotypen wie Gaoyou und Abukuma natane aus der Gruppe der Linien mit ++-Qualität im Samen.

Für die relative GSL-Zusammensetzung der Genotypen fand sich in der Hauptkomponentenanalyse eine Gruppe aus den Genotypen L16, Santana und Liropa, deren GSL-Anteile in der Grünmasse durch hohe Anteile an GBC und NEO gekennzeichnet waren (Abbildung 3.9). Der Genotyp S3 lässt aus beiden Abbildungen einen gleichzeitig erhöhten Anteil an PRO und GNA erkennen. H30 besaß analog einen Anteil an ALY mit über 30 %. In den Genotypen Sollux, S14, L122 und Mansholt war hingegen der Anteil an GBN erhöht.

Abbildung 3.9: Hauptkomponentenanalyse der GSL-Zusammensetzung in der Grünmasse von 28 Genotypen gemittelt über Termine und Umwelten

3.2 Zusammenhang zwischen Befall mit Rapsstängelschädlingen und Glucosinolatgehalten und -mustern

3.2.1 Variation des Befalls mit *C. napi* und *C. pallidactylus*

In der im vorherigen Kapitel beschriebenen Versuchsserie zur Variation der GSL-Gehalte wurde durch die Abteilung Agrarentomologie auch der natürliche vorhandene Befall mit zwei spezialisierten Rapsstängelschädlingen bestimmt (vgl. Dissertation Schäfer-Kösterke 2015). Abbildung 3.10 zeigt die Variation des natürlichen Befalls mit dem großen Rapsstängelrüssler *C. napi* (links) und dem gefleckten Kohltriebrüssler *C. pallidactylus* (rechts) anhand der Anzahl Larven pro Pflanze.

Abbildung 3.10: Variation des natürlichen Befalls mit Großem Rapsstängelrüssler *C. napi* (links) und Geflecktem Kohltriebrüssler *C. pallidactylus* (rechts) in den einzelnen Umwelten 2011 – 2013. Unterschiede zwischen Genotypen innerhalb der Umwelten nach Kruskal-Wallis-Test: n.s. keine signifikanten Unterschiede, ** (***) sign. bei $p=0,01$ ($0,001$). Boxplots: + Mittelwert. – Median. Gefüllte Box enthält mittlere 50 % der Werte. Whisker entsprechen dem 1,5-fachen des Interquartilabstands. Schwarze Punkte Ausreißer.

Es zeigte sich für Rapsstängelrüssler und Kohltriebrüssler, dass der natürlich vorherrschende Befallsdruck an 6 bzw. 7 der 9 Umwelten mit weniger als 2,5 Larven pro Pflanze insgesamt auf einem niedrigen Niveau lag. Für den Rapsstängelrüssler führte der Befallsdruck zu einer signifikanten Differenzierung der Genotypen im Befall an zwei Umwelten, jeweils am Standort Weende. Im Jahr 2012 lag die Spannweite der Genotypen zwischen 5,9 und 16,0 Larven pro Pflanze, im Folgejahr 2013 zwischen 0,2 und 9,1 Larven pro Pflanze. Für den Kohltriebrüssler hingegen fanden sich in keiner der 9 Umwelten genotypische Unterschiede im Befall. Auffallend ist die Umwelt Peine 2013 in der die Genotypen im Mittel zwar mit 12,6 Larven pro Pflanze befallen wurden, jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen festgestellt werden konnten. Dies

ist auf hohe Restfehler im Verhältnis zur genotypischen Varianz zurückzuführen (Daten nicht gezeigt).

Für die Merkmale Fraßganglänge und den daraus abgeleiteten Stem-Injury-Coefficient lagen Daten aus 4 Umwelten vor. Im Mittel wies die Umwelt Peine 2012 die höchsten Fraßganglängen mit 48,1 cm auf, gefolgt von 2013 Weende mit 26,0 cm und 2012 Weende mit 25,1 cm, sowie 2013 Reinshof mit 16,6 cm (Abbildung 3.11). In Relation zur Stängellänge hatten die Genotypen in der Umwelt 2013 Reinshof mit 15 % (5 – 27 %) im Mittel (Spanne) den niedrigsten Anteil Minierfraß. In aufsteigender Reihenfolge lagen die Werte der Genotypen für das Merkmal Stem-Injury-Coefficient in der Umwelt 2013 Weende bei 26 % (4 – 54 %), in der Umwelt 2013 Peine bei 45 % (28 – 63 %) und in der Umwelt 2012 Weende bei durchschnittlich 53 % (40 – 65 %). Hochsignifikante genotypische Unterschiede konnten sich in den Umwelten Weende 2012 und 2013 absichern lassen, während dies für die Umwelten 2013 Peine und 2013 Reinshof nicht zutraf.

Abbildung 3.11: Variation von Fraßganglänge und Stem-Injury-Coefficient in vier Umwelten. Unterschiede zwischen Genotypen innerhalb der Umwelten nach Kruskal-Wallis test: n.s. keine Unterschiede, ** (*) sign. bei $p=0,01$ ($0,001$)**

3.2.2 Korrelationen zwischen Befallsmerkmalen und Glucosinolaten in Einzelumwelten

Aufgrund der fehlenden signifikanten genotypischen Unterschiede im Befall und der geringen Variation des Befalls zwischen einem Großteil der Umwelten erschien eine Verrechnung der Befallsmerkmale über die Umwelten wenig aussichtsreich, weshalb die Umwelten 2012 Weende und 2013 Weende jeweils als Einzelorte für die Auswertung verblieben. Das Merkmal Kohltriebrüsslerlarven pro Pflanze wird trotz fehlender signifikanter Unterschiede zwischen Genotypen mit dargestellt.

Abbildung 3.12 gibt eine Übersicht, ob zwischen den vier ermittelten Befallsmerkmalen und den jeweils relevanten Gehalten an Stängel-GSL an den beiden ausgewählten Umwelten in Weende lineare Zusammenhänge bestanden. Für die Fragestellung der Wirtspflanzenattraktivität waren die Stängel-GSL zum ersten GSL-Probenahmetermin mit beginnendem Schädlingszuflug relevant. Für den Rapsstängelrüssler zeigten sich in beiden Jahren keine signifikanten Korrelationen zwischen Befall und Einzel-GSL oder GSL-Gruppen. Die Korrelationskoeffizienten lagen zwischen $r_{4OH} = -0,34$ und $r_{GBC} = 0,34$. Im Jahr 2012 fanden sich Korrelationskoeffizienten für den GSL-Gesamtgehalt von $r_{GSLSUM} = 0,16$, für die Summe der Alkenyl-GSL von $r_{ALKSUM} = 0,13$ und für die Summe der Indol-GSL von $r_{INDSUM} = 0,17$ (Abbildung 3.12 und Abbildung 3.13). Im Jahr 2013 waren diese mit $r_{GSLSUM} = 0,10$, $r_{ALKSUM} = 0,08$ und $r_{INDSUM} = 0,05$ nur unwesentlich von Null verschieden. Bei den GSL RAA und 4OH wiesen die Korrelationskoeffizienten für den Rapsstängelrüssler negative Vorzeichen auf, während diese für NAS positiv waren.

Abbildung 3.12: Korrelationskoeffizienten zwischen Stängelglucosinolaten und Befallsmerkmalen am Standorte Weende 2012 (n=23 Genotypen) und 2013 (n=26 Genotypen)

Für den Kohltriebrüsslerbefall lagen die Korrelationen mit Koeffizienten zwischen $r_{NEO,ALY} = -0,37$ und $r_{4OH} = 0,51$, wobei letztere signifikant von Null verschieden war. Aufgrund der nicht statistisch absicherbaren genotypischen Unterschiede für den Kohltriebrüsslerbefall (vgl. Abbildung 3.10) ist solch eine Korrelation statistisch nicht zu erwarten. Das Korrelationsdiagramm der beiden Merkmale (Anhang 7.4) bestätigt die Annahme der Scheinkorrelation, denn 12 der 26 Genotypen wiesen den Wert Null auf, während zwei Genotypen mit 4OH Gehalten über $0,05 \mu\text{mol}$ zur Ausprägung der Korrelation beitrugen. Weiterhin fällt auf, dass für den Kohltriebrüssler 18 der 28 angegebenen Korrelationskoeffizienten negative Vorzeichen hatten (rötlich).

Für die Merkmale Fraßganglänge und Stem-Injury-Coefficient konnten keine signifikanten Zusammenhänge zu den GSL-Gehalten im Stängel am zweiten GSL-Probenahmetermin gefunden werden. Der Wertebereich der Koeffizienten lag für das Merkmal Fraßganglänge zwischen $r_{GNA} = 0,41$ und $r_{4OH} = -0,40$, sowie zwischen $r_{NEO} = -0,23$ und $r_{4ME} = 0,33$ für das Merkmal STIC. Wie für die vorherigen Merkmale befanden sich die

Korrelationskoeffizienten im Bereich um Null. Für die einzelnen GSL fällt insgesamt kein klares Muster auf, da die Richtungen der Korrelationen nicht konsistent waren und die Vorzeichen wechselten.

Abbildung 3.13: Korrelationsdiagramme zwischen Rapsstängelrüsslerbefall und vier GSL-Gruppen am Standorte Weende getrennt nach zwei Jahren 2012 (rot) und 2013 (blau) (r Pearson Korrelationskoeffizient, p p-Wert)

Betrachtet man die Daten des Befalls mit Rapsstängelrüsslerlarven zwischen den Jahren 2012 und 2013 (Abbildung 3.14), so stimmte die Rangierung der Genotypen zwischen den beiden Umwelten kaum überein, was sich in einer nicht signifikant von Null verschiedenen Korrelation ($r = 0,146$) äußert. Dennoch gab es Genotypen, die in beiden Umwelten übereinstimmend niedriger befallen waren als das Mittel der Genotypen (unterer linker Quadrant). Insbesondere fällt der Genotyp S30 auf. Auch fand sich eine Gruppe von Genotypen, die vom Rapsstängelrüssler stärker als das Mittel der Genotypen befallen wurden (oberer, rechter Quadrant). Darunter befanden sich die Genotypen Mendel, Visby, Mansholt und L122.

Abbildung 3.14: Korrelation des Rapstängelrüsslerbefalls (RSR) zwischen den Umwelten Weende 2012 und 2013 (gestrichelte Linien: Mittelwerte der Umwelt, r Pearson Korrelationskoeffizient, p p-Wert)

Die gleiche Betrachtungsweise für das Befallsmerkmal Stem-Injury-Coefficient (Abbildung 3.15) zeigt, dass S30 in beiden Jahren mit 5 % im Jahr 2013 und 40 % im Jahr 2012 auch jeweils den niedrigsten Anteil Minierfraß im Stängel aufwies. Für beide Befallsmerkmale übereinstimmend über dem Genotypenmittel lagen in beiden Umwelten die Genotypen Mendel und Mansholt. Die Korrelation des Stem-Injury-Coefficient zwischen den beiden Umwelten war zwar leicht stärker ausgeprägt ($r=0,369$) als für den Rapsstängelrüsslerlarvenbefall ($r=0,149$), aber weiterhin nicht signifikant von Null verschieden.

Abbildung 3.15: Korrelation des Merkmals Stem-Injury-Coefficient zwischen den Umwelten Weende 2012 und 2013 (gestrichelte Linien: Mittelwerte der Umwelt, r Pearson Korrelationskoeffizient, p p-Wert)

3.2.3 Unterschiede in Glucosinolatgehalten und -zusammensetzungen zwischen unterschiedlich stark befallenen Genotypen

Um zu vergleichen, ob in den Glucosinolatgruppen Unterschiede zwischen stärker und weniger stark befallenen Genotypen bestanden, wurden für die Merkmale Rapsstängelrüsslerbefall und Stem-Injury-Coefficient Gruppen gebildet und die GSL-Gehalte der enthaltenen Genotypen gemittelt. Für den Rapsstängelrüsslerbefall wurden anhand von Abbildung 3.14 die Genotypen S30, Campala, Oase und G53 als Gruppe „- Befall“ zusammengefasst. Die Gruppe „+ Befall“ bestand aus Mendel, Visby, Mansholt und L122. Für den Stem-Injury-Coefficient (Abbildung 3.15) wurden für „+ Befall“ Mendel, Liropa, H149 und „- Befall“ aus S30, S14, Campala, Express und Oase gewählt.

Abbildung 3.16: Vergleich der Stängelglucosinolatgehalte (links) und -zusammensetzungen (rechts) an Termin 1 von Genotypen, die gemittelt über die Umwelten Weende 2012 und 2013, niedrig, mittel oder hoch mit Rapsstängelrüsslerlarven befallen wurden (Klammern: Anzahl Rapsstängelrüsslerlarven / Pflanze)

Aus Abbildung 3.16 (links) wird zunächst deutlich, dass die im Mittel über die beiden Umwelten Weende 2012 und 2013 sehr niedrig befallene Resynthese S30 mit ca. $18\mu\text{mol}$ auch gleichzeitig den geringsten Gesamt-GSL-Gehalt hatte. Für die Niedrig-Befallsgruppe („-Befall“) lag dieser bei $25\mu\text{mol}$ und damit $5\mu\text{mol}$ unter dem Mittel aller 22 Genotypen. Die Hochbefallsgruppe mit $34\mu\text{mol}$ lag wiederum ca. $4\mu\text{mol}$ über dem Mittel. Mendel als am stärksten befallener Genotyp (10,8 Larven pro Pflanze) wies mit knapp $24\mu\text{mol}$ hingegen einen um $10\mu\text{mol}$ niedrigen GSL-Gesamtgehalt auf, als die Hochbefallsgruppe und lag damit auf dem Niveau der Gruppe mit geringem Befall.

Bezüglich der GSL-Zusammensetzung (Abbildung 3.16 rechts) unterschieden sich Niedrig- und Hochbefallsgruppe für die Anteile der Einzel-GSL nur marginal vom Mittel der Genotypen. S30 ist gleichfalls unauffällig, wohingegen Mendel einen höheren Anteil an GBC und NEO aufwies, welcher in der Summe ca. 11 % über dem Genotypenmittel lag.

Dieser erhöhte Anteil an Indol-GSL war auf der Seite der Alkenyle mit erniedrigten Anteilen von ALY (-8 %) und PRO (-5 %) sowie einem erhöhten Anteil an GBN (+3 %) verbunden.

Für das Merkmal Stem-Injury-Coefficient am zweiten GSL-Probenahmetermin wies das Mittel aller Genotypen einen GSL-Gesamtgehalt von 6,2 μmol auf und im Mittel waren 39 % des Stängels miniert (Abbildung 3.17). Die GSL-Gehalte der Niedrig- bzw. Hochbefallsgruppe lagen mit 5,1 μmol respektive 4,8 μmol unter dem Mittel der Genotypen. Ihre Stängel waren je zu 30 % bzw. 47 % durch die Schädlinge miniert. Weiterhin gaben weder die GSL-Gehalte des am höchsten geschädigten Genotyps Mendel mit 3,6 μmol , noch die am niedrigsten geschädigte Resynthese S30 mit 3,9 μmol Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen Schädigung und GSL-Gehalten.

Abbildung 3.17: Vergleich der Stängelglucosinolatgehalte (links) und -zusammensetzungen (rechts) an Termin 2 von Genotypen, deren Stängel, gemittelt über die Umwelten Weende 2012 und 2013, wenig, mittel oder hoch durch Larven von Stängelschädlingen miniert wurden (Klammern: Stem-Injury-Coefficient in %)

Bezüglich der GSL-Zusammensetzung wies Mendel analog zum ersten Probenahmetermin (Abbildung 3.16) einen erhöhten Gehalt an Indol-GSL auf (42 %). Auch S30 zeigte mit 31 % einen erhöhten Gehalt an Indol-GSL gegenüber dem über dem Mittel der Genotypen mit 22 %. Der Anteil NAS lag mit 7 % bei S30 über dem von Mendel mit 3 %, unterschied sich jedoch nur geringfügig vom Mittel der Genotypen (5 %). Für die Alkenyl-GSL fällt bei S30 ein erhöhter Anteil an ALY (27 %) und ein mit 7 % relativ geringer GBN-Anteil auf. Weiterhin waren in der Gruppe „-Befall“, sowie beim Genotyp S30 die Gehalte an PRO (25 % und 27 %) gegenüber der Gruppe „+Befall“ (38 %) und dem Mittel (36 %) vermindert.

3.2.4 Hauptkomponentenanalysen

Mit den über die Umwelten Weende 2012 und 2013 gemittelten GSL-Gehalten und GSL-Anteilen wurde für jeden Termin eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt. Für den ersten GSL-Probenahmetermin zeigt die Einfärbung mit Klassen des gemittelten Rapsstängelrüsslerbefalls sowohl für den GSL-Gehalt (Abbildung 3.18), als auch für die GSL-Zusammensetzung (Abbildung 3.19) weder für die niedrig befallenen Genotypen, noch für die hoch befallenen Genotypen eindeutige abgegrenzte Gruppierungen. Die Verteilung erscheint vielmehr zufällig.

Abbildung 3.18: Hauptkomponentenanalyse der GSL-Gehalte im Stängel an Termin 1 gemittelt über die Umwelten Weende 2012 und 2013 (22 Genotypen eingefärbt mit Klassen des mittleren Rapsstängelrüsslerbefalls)

Die Genotypen S30 und Oase zeigten für den GSL-Gehalt Ähnlichkeiten, jedoch findet sich auch der hoch befallene Genotyp GOE1991 in der nahen Umgebung der beiden Genotypen (Abbildung 3.18). In der GSL-Zusammensetzung des Genotyps S30 finden sich keine Besonderheiten (Abbildung 3.19): Der Punkt liegt im Zentrum des Diagramms, zusammen mit der hochbefallenen Linie Express, sowie mittel befallenen Samurai und Visby.

Abbildung 3.19: Hauptkomponentenanalyse der GSL-Zusammensetzung im Stängel an Termin 1 gemittelt über die Umwelten Weende 2012 und 2013 (22 Genotypen eingefärbt mit Klassen des mittleren Rapsstängelrüsslerbefalls)

Für das Befallsmerkmal Stem-Injury-Coefficient und die Einzel-GSL am Termin 2 zeigten die Ergebnisse der Hauptkomponentenanalysen ein ähnliches Bild wie an Termin 1. Weder für die Absolutgehalte (Abbildung 3.20), noch die Zusammensetzung (Abbildung 3.21) konnten einzelne GSL identifiziert werden, für die sich stark und weniger stark geschädigte Genotypen als Gruppe differenzieren ließen. Auch hier erscheint die Verteilung der Genotypen innerhalb der Schadensklasse zufällig.

Abbildung 3.20: Hauptkomponentenanalyse der GSL-Gehalte im Stängel an Termin 2 gemittelt über die Umwelten Weende 2012 und 2013 (22 Genotypen eingefärbt mit Klassen der Stängelschädigung)

Abbildung 3.21: Hauptkomponentenanalyse der GSL-Zusammensetzung im Stängel an Termin 2 gemittelt über die Umwelten Weende 2012 und 2013 (22 Genotypen eingefärbt mit Klassen der Stängelschädigung)

3.2.5 Unterschiede in Glucosinolatzusammensetzungen zwischen unterschiedlich stark befallenen Umwelten

Aus der Literatur ist bekannt, dass durch die Schädigung einer Pflanze eine Veränderung im Sekundärmetabolismus induziert werden kann. In diesem Datensatz bestand durch die zwei GSL-Probenahmetermine die Möglichkeit Unterschiede zwischen den Terminen zu vergleichen. Da aufgrund des Versuchsaufbaus im Freiland keine unbefallene Negativkontrolle existierte, wurde durch Teilung des Datensatzes in Umwelten mit hohem und niedrigem Befall versucht zu prüfen, ob sich Veränderungen der GSL-Zusammensetzung innerhalb der Gruppen ergaben. Aus der Anzahl Rapsstängelsrüssler- und Kohltriebrüsslerlarven wurde dazu zunächst für jede Umwelt das mittlere Befallsniveau an Stängelschädigungen ermittelt. Anschließend wurden jeweils diejenigen vier Umwelten mit höchstem und niedrigstem Niveau als Gruppe zusammengefasst. Die Gruppe „+Befall“ besaß einen mittleren Befall von 4,8 Larven pro Pflanze und umfasste die Umwelten 2012 Weende, 2013 Weende, 2013 Peine und 2012 Reinshof. In der Gruppe „-Befall“ waren die Umwelten 2012 Einbeck, 2011 Marienstein, 2012 Peine und 2013 Reinshof enthalten. Diese unterschied sich mit ihrem Befallsmittelwert von 1,1 Larven pro Pflanze hochsignifikant von der Gruppe „+Befall“ (p-Wert ANOVA $< 2e-16$ *** und Tukey's-HSD 0.56 mit je 177 DF_{error} , ANOVA nicht gezeigt).

Die GSL-Zusammensetzungen der beiden Gruppen sind getrennt für die zwei Probenahmeterminen in Abbildung 3.22 dargestellt. In der Gruppe der weniger stark befallenen Umwelten gab es zwischen Termin 1 und Termin 2 für den Anteil an Alkenylen einen marginalen Unterschied von 0,8 %. Die Indol-GSL (NAS) besaßen jedoch am zweiten Termin einen um 3,4 % (2,5 %) niedrigeren (höheren) Anteil als am ersten Probenahmetermin. In der Gruppe der Umwelten „+Befall“ waren an T2 die Anteile an Indol-GSL mit 4,5

% gegenüber T1 stärker erhöht, als die von dem aromatischen GSL NAS (1,1 %). Diese Erhöhung ging mit einem um 5,7 % verminderten Anteil an Alkenyl-GSL einher.

Abbildung 3.22: GSL-Zusammensetzung von niedrig („-Befall“) und hoch („+Befall“) mit Stängelschädlingen befallenen Umwelten zu zwei Probenahmeterminen T1 und T2 (Gesamt-GSL-Gehalte in Klammern)

Da sich in der „-Befall“ Gruppe das Verhältnis von Alkenylen und Indolen zwischen T1 und T2 kaum unterschied und der Anteil Indol-GSL gegenüber NAS vermindert war, könnte die Veränderung des Alkenyl-Indol-Verhältnisses in den „+Befall“ Umwelten zugunsten der Indole als Indiz für eine induzierte Veränderung aufgrund des Befalls interpretiert werden. In diesem Fall würden die Möglichkeiten bestehen, dass als Folge der Schädigung entweder mehr Indol-GSL synthetisiert wurden und/oder dass durch die Schädigung der Pflanze vermehrt Alkenyl-GSL abgebaut wurden.

3.3 Kartierung von Genomregionen für den Glucosinolatstoffwechsel in Blatt, Stängel und Samen der DH-Population ‚L16 x Express‘

3.3.1 Merkmalsvariation

Tabelle 3.5 zeigt die Ergebnisse der zweiortigen Varianzanalysen mit 120 DH Linien getrennt nach Blatt, Stängel und Samen. Die QTL-Kartierung wurde auch für eine Variante mit 90 Linien an drei Orten durchgeführt und ist im Anhang 7.6 zu finden.

Bis auf einige Ausnahmen fand sich für den Großteil der GSL eine signifikante genotypische Variation, wie auch signifikante Interaktionen zwischen Genotypen und Umwelten. Merkmale ohne signifikante genotypische Variation waren im Stängel die GSL-Merkmale RAA, GNL, und 4ME, im Blatt RAA, GNL, 4OH und 4ME und im Samen GNL und 4ME. Sie wurden für die QTL-Kartierung entfernt.

Die Heritabilität der Merkmale mit signifikanter genotypischer Variation lag im Stängel (Blatt) zwischen 60 und 88 % (53 bis 89 %). Es fällt auf, dass sich in der Grünmasse für die Alkenyl-GSL durchweg höhere Heritabilitäten (84 bis 92 %) finden ließen als für GSL aus der Gruppe der Indole (54 bis 77 %). Für NAS lag die Heritabilität im Stängel mit 83 % höher als im Blatt (53 %). Die Varianzkomponente der Genotyp-Umwelt Interaktion betrug für die Summe der GSL und Alkenyl-GSL im Stängel ca. ein Viertel derer der Genotypen und im Blatt ca. ein Fünftel. Für die Indol-GSL als Gruppe besaß die Genotyp-Umwelt Interaktion in Stängelmateriale ungefähr ein Drittel der Größe der genotypischen Varianzkomponente. In Blattmaterial war dieses Verhältnis mit zwei Dritteln nahezu doppelt so groß. Im Fall von NAS im Blatt war die Varianzkomponente der Genotyp-Umwelt Interaktion sogar leicht größer als die der Genotypen, wodurch die niedrigere Heritabilität im Vergleich zum Stängel bedingt ist. Die hohen Heritabilitäten auch für kleinere GSL-Fractionen wie NEO, NAS oder GBC sind ein Hinweis auf reproduzierbare Analyseergebnisse und Versuchsdurchführung.

Im Samen fanden sich im Vergleich zur Grünmasse höhere genotypische Varianzkomponenten und höhere Heritabilitäten der GSL Merkmale. Letztere lagen im Bereich von 70 % für 4OH und 98 % für GSUM, ALKSUM, PRO, GBN und GNA. Die Varianzkomponenten der Genotyp-Umwelt Interaktion sind im Verhältnis zur genotypischen Varianzkomponente insbesondere für die Alkenyl-GSL sehr klein (unter 2 % oder 1:50), während dieses Verhältnis für die Indol-GSL ca. zwischen 1:5 (INDSUM, 4OH) und 1:30 (NEO) lag. Aus diesem erhöhten Einfluss der Interaktion resultieren ähnlich wie bei der Grünmasse leicht niedrigere Heritabilitäten für die Indol-GSL von 70 % für 4OH bis zu 92 % für NEO im Vergleich zu den Alkenyl-GSL (95 bis 98 %).

In Blatt und Stängel besaß der Elter L16 mit 0,67 und 1,45 μmol gegenüber dem Elter Express mit 5,03 und 7,31 μmol die niedrigeren GSL-Gehalte (Abbildung 3.23 und Tabelle 3.5). Im Samen war die Reihenfolge umgekehrt und L16 hatte als 0+-Resynthese die höheren Gehalte mit 59,02 μmol gegenüber der 00-Sorte Express mit 26,43 μmol . Der GSL-Gesamtgehalt der DH-Linien variierte im Samen zwischen 14,56 und 97,04 μmol (Mittel

48,59 μmol). Die Häufigkeitsverteilung der GSL-Gehalte im Samen (Abbildung 3.23) zeigt zwei voneinander getrennte Gruppen von DH-Linien, welche auf die Hauptwirkung eines Genes (1:1 Spaltung) hinweisen könnte. Für die Gesamtgehalte in Blatt (links) und Stängel (rechts) ist im Histogramm in Abbildung 3.23 keine solche Trennung in Gruppen zwischen den Eltern erkennbar. Besonders für die Blattgehalte fällt auf, dass die Verteilung

Tabelle 3.5: Variation der GSL-Gehalte in Blatt, Stängel und Samen sowie Pflanzenlänge und Blühbeginn von 120 DH-Linien der DH-Population ‚L16 x Express‘ und deren Eltern gemittelt über zwei Orte (Werte in $\mu\text{mol/g}$ TM, sofern nicht anders angeben. SD Standardabweichung. σ^2_G Genotypische Varianzkomponente. $\sigma^2_{G \times U}$ Varianzkomponente Genotyp-Umwelt Interaktion. h^2 Heritabilität in %. PFLP Pflanzenlänge in cm zur GSL-Probenahme. BOF Blühbeginn in Tagen nach 1. Januar. NIRXL NIRS-Ölgehalt in %. NIRXP NIRS-Proteingehalt in %. NIRGSL NIRS-Glucosinolatgehalt in $\mu\text{mol/g}$ TM. NIR18:1 NIRS-Ölsäureanteil in %. NIR18:3 NIRS-Linolensäureanteil in %. NIRERU NIRS-Erucasäureanteil in %. n.s. keine signifikanten Unterschiede, * [] sign. bei $p=0,05$ [0,01])**

	Merkmal	Eltern		DH – Population							
		Express	L16	Mittel	SD	Min	Max	σ^2_G	$\sigma^2_{G \times U}$	h^2 [%]	
Stängel	GSLSUM	7,31	1,45	5,43	3,86	0,42	16,39	12,91 **	3,28 **	86	
	ALKSUM	6,45	0,94	4,40	3,69	0,01	14,77	11,90 **	2,97 **	86	
	Alkenyl-GSL	PRO	2,56	0,47	1,64	1,37	0,00	6,04	1,65 **	0,34 **	88
		GBN	1,93	0,11	1,70	1,55	0,00	5,41	2,04 **	0,69 **	83
		ALY	1,05	0,14	0,63	0,51	0,00	2,45	0,23 **	0,04 **	88
		GNA	0,71	0,05	0,37	0,33	0,00	1,30	0,09 **	0,03 **	84
		RAA	0,09	0,00	0,00	0,01	0,00	0,07	0,00 n.s.	0,00 n.s.	6
		GNL	0,13	0,17	0,05	0,04	0,00	0,25	0,00 n.s.	0,00 n.s.	0
	INDSUM	0,79	0,51	0,88	0,46	0,17	3,08	0,16 **	0,05 **	77	
	Indol-GSL	GBC	0,66	0,43	0,65	0,35	0,14	2,32	0,09 **	0,05 **	73
		NEO	0,07	0,03	0,17	0,12	0,00	0,58	0,01 **	0,00 *	64
		4OH	0,03	0,04	0,04	0,02	0,00	0,11	0,01 **	0,00 n.s.	60
		4ME	0,03	0,01	0,03	0,02	0,00	0,10	0,00 n.s.	0,00 n.s.	52
	NAS	0,07	0,00	0,14	0,16	0,00	0,80	0,02 **	0,00 **	83	
	Blatt	GSLSUM	5,03	0,67	3,72	2,87	0,34	12,74	7,44 **	1,32 **	89
ALKSUM		4,51	0,52	3,22	2,79	0,14	12,00	7,09 **	1,19 **	89	
Alkenyl-GSL		PRO	1,01	0,10	0,87	0,81	0,00	3,65	0,58 **	0,13 **	86
		GBN	2,17	0,15	1,48	1,37	0,00	5,98	1,71 **	0,30 **	89
		ALY	0,42	0,02	0,35	0,32	0,00	1,23	0,10 **	0,01 **	92
		GNA	0,69	0,04	0,32	0,34	0,00	1,63	0,10 **	0,02 **	89
		RAA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	- -	- -	-
		GNL	0,22	0,21	0,20	0,06	0,01	0,34	0,00 n.s.	0,00 n.s.	4
INDSUM		0,49	0,15	0,47	0,21	0,12	1,08	0,02 **	0,02 **	55	
Indol-GSL		GBC	0,44	0,13	0,38	0,18	0,08	0,87	0,02 **	0,01 **	58
		NEO	0,04	0,01	0,06	0,05	0,00	0,25	0,00 **	0,00 n.s.	69
		4OH	0,00	0,01	0,01	0,02	0,00	0,09	0,00 n.s.	0,01 *	0
		4ME	0,01	0,00	0,01	0,01	0,00	0,05	0,00 n.s.	0,01 **	18
NAS		0,03	0,00	0,04	0,06	0,00	0,28	0,002 **	0,001 **	53	

Fortsetzung Tabelle 3.5

Merkmal	Eltern		DH – Population							
	Express	L16	Mittel	SD	Min	Max	σ^2_G	σ^2_{G*U}	h^2	
GSLSUM	26,43	59,02	48,59	23,80	14,56	97,04	554,97 **	11,07 **	98	
ALKSUM	22,11	52,96	43,01	23,10	9,60	90,59	526,36 **	8,90 **	98	
PRO	14,54	29,02	25,04	14,04	5,28	54,47	192,96 **	3,69 **	98	
Alkenyl-GSL	GBN	0,99	7,19	4,95	3,87	0,32	19,28	14,72 **	0,26 **	98
	ALY	0,97	6,23	4,06	3,02	0,33	13,32	8,71 **	0,57 **	95
	GNA	4,93	9,02	7,99	4,62	1,49	18,83	20,91 **	0,26 *	98
	RAA	0,57	1,39	0,88	0,54	0,00	2,11	0,28 **	0,00 n.s.	97
	GNL	0,10	0,10	0,10	0,04	0,00	0,26	0,00 n.s.	0,00 n.s.	35
	INDSUM	4,13	4,59	4,46	0,65	2,96	6,25	0,30 **	0,07 *	72
Indol-GSL	GBC	0,19	0,59	0,29	0,14	0,07	0,73	0,02 **	0,00 **	89
	NEO	0,05	0,04	0,08	0,08	0,00	0,46	0,01 **	0,00 n.s.	92
	4OH	3,89	3,95	4,09	0,57	2,70	5,80	0,23 **	0,05 *	70
	4ME	0,00	0,02	0,00	0,01	0,00	0,10	0,00 n.s.	0,00 n.s.	83
	NAS	0,19	1,48	1,12	1,06	0,00	5,98	1,07 **	0,07 **	95
NIRS	NIRXL	45,53	43,32	44,46	1,13	42,39	47,22	0,94 **	0,35 **	73
	NIRXP	22,15	24,00	23,25	1,00	20,06	25,39	0,74 **	0,29 **	74
	NIRGSL	22,62	53,49	41,74	20,69	12,34	87,92	422,97 **	2,42 *	99
	NIR18:1	65,65	64,15	64,54	1,55	60,76	68,27	1,90 **	0,24 *	79
	NIR18:3	11,74	11,53	11,53	0,68	10,06	13,17	0,38 **	0,00 n.s.	85
	NIRERU	-2,43	-0,96	-2,08	1,48	-5,55	2,09	1,42 **	0,25 n.s.	69
Pfl. entw.	PFLL	83,75	68,75	62,30	9,28	37,77	83,85	59,60 **	25,47 **	69
	BOF	123,00	126,50	126,30	1,89	121,49	130,79	3,07 **	0,64 **	86

Richtung Null verschoben ist und wenige Linien über dem Gehalt von Express lagen (5 μmol). Es existierten sowohl für Blatt-, Stängel- als auch für Samen-GSL DH-Linien, die mit > 10 μmol bzw. > 70 μmol deutlich über dem Wert des höheren Elters lagen (Transgression).

Die Blattgehalte lagen für Eltern und DH-Linien stets unter denen des Stängels (Tabelle 3.5). Bei den Gehalten an Indol-GSL im Stängel (Blatt) wird deutlich, dass Express zwar den höheren Absolutgehalt mit 0,79 μmol (0,49 μmol) besitzt, L16 jedoch durch den niedrigen Gesamtgehalt mit 1,45 μmol (0,67 μmol) relativ einen höheren Anteil an Indol-GSL aufweist. In den Samen hingegen besitzen sowohl Express (4,13 μmol) als auch L16 (4,59 μmol) ähnliche Indol-Gehalte. Aufgrund des hohen Anteils an Alkenyl-GSL im Samen von L16 (52,96 μmol) besitzt hier jedoch Express den höheren Anteil an Indol-GSL. Interessanterweise liegt das Mittel der DH-Linien im Stängel für Indol-Gehalt mit 0,88 μmol sogar leicht höher als der höhere Elter Express (0,79 μmol); das Maximum sogar bei 3,08 μmol .

Abbildung 3.23: Histogramme der Gesamt-GSL-Gehalte in den Pflanzenteilen Blatt, Stängel und Samen von 120 DH-Linien der DH-Population ,L16 x Express' und deren Eltern

In den Samen der DH-Linien schwankte die Summe der Alkenyl-GSL (Mittel $\pm$ Standardabweichung) zwischen 9,60 und 90,59 μmol ($43,01 \pm 23,10 \mu\text{mol}$), während die Summe der Indol-GSL zwischen 2,96 und 6,25 μmol ($4,46 \pm 0,65 \mu\text{mol}$) variierte. Das aromatische GSL NAS war in den Samen der DH-Linien zwischen 0,00 und 5,98 μmol enthalten und lag im Mittel bei 1,12 μmol ($\pm 1,06 \mu\text{mol}$).

Routinemäßig wurden per Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) auch Qualitätsparameter der Samen bestimmt. Der Ölgehalt (NIRXL) lag im Mittel der DH-Population bei 44,46 % und damit zwischen Express (45,53 %) und L16 (43,32 %). Die Variation der DH-Linien im Ölgehalt lag zwischen 42,39 und 47,22 %. Für den Proteingehalt (NIRXP) zeigten die DH-Linien eine Variation zwischen 20,06 und 25,39 %. Die per NIRS ermittelten GSL-Gehalte (NIRGSL) lagen im Mittel 6,8 μmol unter den per HPLC ermittelten Werten. Die Korrelation zwischen den beiden Messmethoden HPLC und NIRS betrug $r = 0.98^{**}$ (siehe auch Abbildung 3.25).

Bezüglich der Pflanzenlänge zur GSL-Beprobung (PFLL) war Express mit 84 cm gegenüber L16 mit 69 cm der länger gewachsene Elter. Die DH-Linien wiesen Längen zwischen 38 und 84 cm auf und waren im Mittel mit 62 cm kürzer als der Elter L16. Für den Blühbeginn (BOF) existierte ein Unterschied von etwas über 9 Tagen zwischen erst- und letztblühender DH-Linie.

3.3.2 Korrelationen zwischen Merkmalen und Pflanzenteilen

Die Beziehungen zwischen den GSL-Merkmalen in Blatt und Stängel sind in Abbildung 3.24 dargestellt. Insgesamt gab es nur geringe Unterschiede zwischen Blatt und Stängel. Innerhalb der Gruppen der Alkenyl-GSL und der Indol-GSL bestanden erwartungsgemäß hohe positive Korrelationen zwischen den einzelnen GSL. Der kleinste Korrelationskoeffizient innerhalb der Alkenyl-GSL findet sich zwischen ALY und GNA (0.86) und innerhalb der Indol-GSL zwischen GBC und NEO (0.43). Zwischen Gesamtgehalt und Alkenylgehalt bestand jeweils eine starke positive Beziehung mit $r \geq 0.98$, da die Alkenyle den Hauptanteil der GSL ausmachten. Für die Korrelationen zwischen GSL-Gesamtgehalt und NAS fanden sich Koeffizienten von $r_{BL} = 0,64$ und $r_{ST} = 0,71$. Die Summe der Indol-GSL war zwar signifikant mit dem GSL-Gesamtgehalt korreliert, jedoch war die Korrelation schwach ausgeprägt mit $r_{BL} = 0,25$ bzw. $r_{ST} = 0,20$. Zwischen Pflanzenlänge und Indol-GSL gab es negative Korrelationen im Bereich von $r_{BL} = -0,41$ bis $-0,55$ und von $r_{ST} = -0,49$ bis $-0,64$. Je länger die Pflanzen also zur GSL-Beprobung waren, desto geringer war ihr Gehalt an Indol-GSL.

Abbildung 3.24: Merkmalskorrelationen in Blatt (links) und Stängel (rechts) von 120 Linien der DH-Population 'L16 x Express' (* Korrelation signifikant von Null verschieden bei $p=0,05$)

Im Samen (Abbildung 3.25) existierten ebenfalls hochsignifikante positive Korrelationen zwischen den einzelnen Alkenyl-GSL und dem GSL-Gesamtgehalt: Für GBN ($r = 0,76$) und ALY ($r = 0,67$) lagen die Koeffizienten niedriger als für PRO ($r = 0,97$), GNA ($r = 0,88$) und RAA ($r = 0,90$). Die Indol-GSL als Gruppe hingegen waren nicht signifikant mit dem Gesamtgehalt korreliert ($r = -0,06$), wohl aber GBC negativ ($r = -0,37$). Zwischen NAS und Gesamt-, Alkenyl- und den Einzelglucosinolaten der Alkenyle gab es signifikante positive Korrelationen im Bereich von $r = 0,37$ bei GNA bis $0,92$ bei GBN. Zwischen NAS und den Indol-GSL gab es jedoch keine signifikante lineare Beziehung ($r = -0,14$ bis $0,07$). Die Korrelation zwischen per HPLC und NIRS ermitteltem GSL-Gesamtgehalt lag mit $r = 0,98$ nahe an Eins. Zwischen Ölgehalt (NIRXL) und Proteingehalt (NIRXP) war die Beziehung erwartungsgemäß negativ mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = -0,67$. Weiterhin waren HPLC und NIRS GSL-Gesamtgehalte (GSLSUM und NIRGSL) jeweils negativ mit dem Ölgehalt ($r = -0,44$) korreliert.

Abbildung 3.25: Merkmalskorrelationen im Samen von 120 Linien der DH-Population ‚L16 x Express‘ (* Korrelation signifikant von Null verschieden bei $p=0,05$)

Die Korrelationen zwischen Pflanzenteilen waren generell in der Grünmasse zwischen Blatt und Stängel stärker ausgeprägt als zwischen Grünmasse und Samen (Tabelle 3.6). So lagen die Korrelationskoeffizienten zwischen Blatt und Stängel für den GSL-Gesamtgehalt ($r = 0,95$) und die Alkenyl-GSL ($r = 0,89$ bis $0,95$) höher als diejenigen der Indol-GSL ($r = 0,67$ bis $0,83$) und NAS ($r = 0,76$). Für 4OH war die Korrelation ($r = -0,12$) nicht signifikant von Null verschieden. Zwischen Samen und Stängel (Blatt) lagen die Korrela-

tion des Gesamtgehalts und Alkenyl-GSL bei $r = 0,53$ (0,52) und $r = 0,54$ (0,52). Die Gehalte an ALY waren weder im Blatt, noch im Stängel mit dem Samen korreliert. Im Stängel traf selbiges für GBN zu. Im Blatt war keiner der Gehalte an Indol-GSL mit denen im Samen korreliert. Im Stängel war dies nur bei GBC der Fall ($r = 0,19$). Die signifikanten Korrelationen der Gehalte an NAS lagen zwischen Blatt und Samen mit $r = 0,37$ leicht niedriger als zwischen Stängel und Samen ($r = 0,42$).

Die vier in Tabelle 3.6 fett hervorgehobenen Merkmale sind im Detail als Korrelationsdiagramm in Abbildung 3.26 dargestellt. Für die Gesamt- und Alkenyl-Gehalte zwischen Blatt und Stängel liegen die Punkte der DH-Linien nahe an der Diagonalen. In der Grünmasse erkennt man jedoch, dass keine DH-Linie mit Samengehalten unter 50 μmol hohe Gehalte in Stängel oder Blatt enthielt. Für DH-Linien, die mit Gehalten größer 50 μmol dem Resyntheseelter L16 ähnelten, ist in der Grünmasse eine deutliche Variation über den Gehalten des Elters Express zu erkennen. Ein wichtiges Ergebnis ist somit, dass in dieser DH-Population keine Linien existierten, welche hohe Gesamtgehalte in der Grünmasse mit niedrigen Samengehalten vereinten (oben links in den Diagrammen).

Tabelle 3.6: Korrelationskoeffizienten und p-Werte für den Zusammenhang zwischen den Pflanzenteilen Blatt, Stängel und Samen von 120 DH Linien der DH-Population ‚L16 x Express‘

Merkmal	Blatt / Stängel		Samen / Stängel		Samen / Blatt	
	r_P	p	r_P	p	r_P	p
GSLSUM	0,95	< 0,001	0,53	< 0,001	0,52	< 0,001
ALKSUM	0,95	< 0,001	0,54	< 0,001	0,52	< 0,001
PRO	0,94	< 0,001	0,62	< 0,001	0,60	< 0,001
GBN	0,95	< 0,001	0,14	0,118	0,23	0,013
ALY	0,95	< 0,001	0,09	0,318	0,06	0,51
GNA	0,90	< 0,001	0,52	< 0,001	0,44	< 0,001
INDSUM	0,83	< 0,001	0,17	0,067	0,09	0,356
GBC	0,80	< 0,001	0,19	0,034	0,07	0,439
NEO	0,67	< 0,001	0,11	0,233	0,16	0,079
4OH	-0,12	0,213	0,07	0,420	-0,04	0,667
NAS	0,76	< 0,001	0,42	< 0,001	0,37	< 0,001

Für die Summe der Gehalte an Indol-GSL zwischen Samen und Grünmasse zeigen die Punktwolken eine große Streuung und keine Anordnung entlang der Diagonalen. Im Gegensatz dazu ist zwischen Blatt und Stängel eine lineare Beziehung erkennbar. NAS-Gehalte im Blatt und Stängel konnten bei einem gewissen Anteil der Linien nicht detektiert werden. Dennoch lässt sich der Zusammenhang zwischen Blatt und Stängel erkennen: Linien mit höheren Stängelgehalten an NAS zeigten auch höhere Blattgehalte. Zwischen Grünmasse und Samen ist die Korrelation ($r = 0,42$ bzw. 0,37) weniger stark ausgeprägt, aber dennoch signifikant von Null verschieden.

Abbildung 3.26: Korrelationsdiagramme zwischen Blatt-, Stängel- und Samen-GSL für die vier GSL-Gruppen Gesamt-, Alkenyl-, Indol- und NAS-Gehalt von 120 DH-Linien der DH-Population ‚L16 x Express‘ sowie deren Eltern (r Korrelationskoeffizient nach Pearson, p p-Wert)

3.3.3 Markerkarte

Für die Erstellung der Markerkarte wurden zunächst in Excel aus der vom Service Provider erhaltenen Tabelle mit Markerscores zwischen den Eltern monomorphe Marker herausgefiltert (Schritt 1 in Tabelle 3.7). Von den 52157 Markern waren rund 33 % der Marker polymorph. Marker mit extrem gestörten Spaltungen wurden in Schritt 2 und 3 gefiltert. Weiterhin wurden solche Marker nicht selektiert, die für einen der Eltern als Fehlwert oder Ambiguity Code gewertet waren, also nicht eindeutig den Basen A, C, G oder T zugeordnet waren (Schritte 4 und 5). Als nächstes wurden Marker mit mehr als 10 % fehlenden Datenpunkten (Schritt 6) und auch Linien mit einem Anteil von mehr als 30 % fehlenden Markern entfernt (Schritt 7). Darauffolgend wurden die Werte Matrix aus 13814 Markern und 146 Linien exportiert und in R/qtl eingelesen. Dort wurden in Schritt 8 mit der Funktion findDupMarkers cosegregierende Marker herausgefiltert, damit die Gruppierung in Kopplungsgruppen mit 8GB Arbeitsspeicher funktionierte.

Tabelle 3.7: Schritte zur Erstellung der Markerkarte

Schritt	Beschreibung	Anzahl Linien	Anzahl Marker	relativ
0	Genotyptabelle vom CSP	150	52157	100,0%
1	Monomorphe gefiltert	150	17247	33,1%
2	Allelfrequenz Express $\geq 0,1$	150	16887	32,4%
3	Allelfrequenz L16 $\geq 0,1$	150	15687	30,1%
4	Elter Express ungleich A C T G	150	15222	29,2%
5	Elter L16 ungleich A C T G	150	14054	26,9%
6	Fehlende Datenpunkte pro Marker < 10%	150	13814	26,5%
7	Fehlende Marker pro Linie < 30 %	146	13814	26,5%
8	Cosegregierende Marker gefiltert (R/qtl)	146	8206	15,7%
9	Auffällige Linien mit hoher Anzahl an Crossover (>60) entfernt	136	8206	15,7%
10	Cosegregierende Marker gefiltert (RECORD)	136	4007	7,7%
11	Einzelmarker mit großer Expansion der Kopplungsgruppen entfernt	136	4003	7,7%
12	Gesamtkarte	136	4003	7,7%
	Framework QTL-Mapping	136	788	1,5%

Anschließend wurden mit der Funktion countXO durch Zählen der Crossover eines jeden Individuums insgesamt 10 Linien mit auffällig erhöhter Anzahl an Crossovern identifiziert und diese für die Kartenerstellung entfernt (Schritt 9). Im Folgenden wurde in R/qtl die Gruppierung in Kopplungsgruppen vorgenommen und für die Ermittlung der Reihenfolge der Marker innerhalb der einzelnen Kopplungsgruppen (Ordering) die Matrizes der Markerscores nach RECORD exportiert (Schritt 10). Die relativ geringe Anzahl von 136 Linien führte zu einer verminderten Auflösung der Kartierung, weshalb weitere 4199 Marker als cosegregierende Marker klassifiziert wurden. Die Reihenfolgen der Marker wurden wieder in R übernommen und auf Plausibilität geprüft. Dabei wurden 4 Marker entfernt, die eine große Expansion einzelner Kopplungsgruppen verursachten (Schritt 11). In der Gesamtkarte wurden insgesamt 4003 Marker oder knapp 8 % der Gesamtmarker kartiert (Tabelle 3.8). Für die QTL-Kartierung wurden 788 gleichmäßig über die

Tabelle 3.8: Übersicht über die Markerkarte der DH-Population ‚L16 x Express‘ (Angaben in cM, Mittl. Abstand: mittlerer Abstand zwischen zwei Markern in cM)

Kopplungs- gruppe	Anzahl Marker		Länge	Mittl. Abstand	Anzahl Lücken			Größte Lücke
	Gesamt	Framework			> 5 cM	> 10 cM	> 20 cM	
A01	187	32	83,0	1,9	2			9,2
A02	108	21	95,5	3,1	3	2	2	31,6
A03	389	70	138,8	1,3	2			7,3
A04	303	41	78,9	1,3	1			5,2
A05	139	25	116,0	3,9	7	4	1	30,5
A06	355	62	120,4	1,4	1			5,2
A07	312	45	92,4	1,5	2			6,7
A08	52	11	62,8	5,2	2	2	1	32,9
A09	176	37	112,4	2,6	6	1		13,1
A10	231	29	69,5	1,6	3			8,2
C01	207	38	108,7	2,1	6	1		15,3
C02	176	42	131,6	2,9	10	2		11,2
C03	286	68	196,1	2,3	10	3		16,9
C04	199	45	105,4	1,7	4			8,4
C05	160	48	121,6	2,1	4			9,9
C06	138	31	91,2	2,3	4	1		16,5
C07	209	46	108,0	1,8	3			8,1
C08	199	31	83,1	1,8	3			8,8
C09	177	66	134,8	2,4	3	2	1	20,9
A Genom	2252	373	969,8	1,9	29	9	4	32,9
C Genom	1751	415	1080,5	2,1	47	9	1	20,9
Gesamt	4003	788	2050,3	2,0	76	18	5	32,9

Karte verteilte Marker manuell ausgewählt und die Markerwerte der 10 entfernten Linien wieder hinzugefügt. Die erstellte Markerkarte besaß eine Gesamtlänge von 2050 Centimorgan (cM), wovon 970 cM auf das A Genom und 1081 cM auf das C Genom entfielen (Tabelle 3.8). Die Anzahl kartierter Marker war auf dem A Genom mit 2252 höher als auf dem C Genom mit 1751. Die Längen der einzelnen Kopplungsgruppen (KG) variierten von rund 63 cM bei A09 bis 196 cM bei C03. Betrachtet man den mittleren Abstand zwischen zwei Markern (ohne cosegregierende Marker berechnet) so unterschieden sich C und A Genom kaum (2,1 vs. 1,9 cM). Zwischen den Kopplungsgruppen innerhalb der Genome gab es jedoch große Unterschiede. Die Spannweite des mittleren Abstands zwischen zwei Markern war im C-Genom geringer (1,7 bis 2,9 cM) als im A-Genom (1,3 bis 5,2 cM). Dies macht deutlich, dass Kopplungsgruppen wie A08 und A05 mit mittleren Markerabständen von 5,2 cM und 3,9 cM weniger gut mit Markern abgedeckt waren als beispielsweise A03 und A04 mit je 1,3 cM mittlerem Abstand zwischen zwei Markern. Um einen Hinweis über die Verteilung der Marker und damit die Gleichmäßigkeit der Abdeckung der Kopplungsgruppen zu bekommen, ist zusätzlich jeweils die Anzahl der Lücken größer 5, 10 und 20 cM sowie die größte Lücke aufgeführt. Neben 76 Lücken kleiner 5 cM insbesondere auf den KG C02, C03 und A05, gab es insgesamt 5 (18) Lücken größer als 20 (10) cM, davon 4 (9) auf dem A-Genom. Auf dem A Genom waren drei dieser Gruppen (A02, A05 und A08) auch gleichzeitig diejenigen mit den größten mittleren Markerabständen. Ein interessantes Ergebnis ist, dass trotz der

hohen Gesamtmarkeranzahl des Assays diese nicht gleichmäßig über die Kopplungsgruppen verteilt waren und so Bereiche mit sehr geringer Markerdichte existierten (vgl. auch Markerverteilung in Abbildung 3.27). Bei der Kopplungsgruppe A08 wird dies besonders deutlich: Von deren Gesamtlänge mit rund 63 cM ist ein Bereich von 33 cM und ein weiterer von 15 cM durch keinen Marker abgedeckt.

3.3.4 Quantitative Trait Loci

Für die 20 betrachteten Merkmale wurden insgesamt 145 QTL gefunden, von denen 115 QTL zu den 12 Glucosinolatmerkmalen gehörten (Tabelle 3.9 und Anhang 7.5).

Tabelle 3.9: Quantitative Trait Loci (QTL) von 20 Merkmalen in drei Pflanzenteilen Blatt, Stängel und Samen in der DH-Population ‚L16 x Express‘ (KG Kopplungsgruppe. Additiveffekt: Effekt der Substitution eines Allels von L16 durch Express, angegeben jeweils in Einheit des Merkmals, bei Glucosinolaten in $\mu\text{mol/g}$ TM. R^2 Anteil erklärter phänotypischer Varianz. LOD-GW LOD Grenzwert bei $p=0,05$. PFL Pflanzenlänge. BOF Blühbeginn. NIRXL NIRS-Ölgehalt. NIRXP NIRS-Proteingehalt. NIRGSL NIRS-Glucosinolatgehalt. NIR18:1 NIRS-Ölsäureanteil. NIR18:3 NIRS-Linolensäureanteil. NIRERU NIRS-Erucasäureanteil)

QTL	Merkmal	Pflanzen- teil	KG	Position [cM]	Konfidenz-in- tervall [cM]	Additiv- effekt	R^2 [%]	LOD	LOD- GW
GSLSUM-BL-1	GSLSUM	Blatt	A03	101,8	100,7 - 104,3	1,73	0,35	15,18	3,26
GSLSUM-BL-2	GSLSUM	Blatt	A05	57,8	46,0 - 72,8	-0,87	0,07	3,73	3,26
GSLSUM-BL-3	GSLSUM	Blatt	A06	62,9	58,4 - 66,0	1,11	0,13	6,73	3,26
GSLSUM-ST-1	GSLSUM	Stängel	A03	100,8	100,3 - 102,4	2,49	0,41	18,22	3,29
GSLSUM-ST-2	GSLSUM	Stängel	C09	26,3	25,4 - 32,0	-1,51	0,07	5,03	3,29
GSLSUM-SA-1	GSLSUM	Samen	C02	120,5	119,9 - 120,7	-20,25	0,67	35,73	3,21
GSLSUM-SA-2	GSLSUM	Samen	C09	1,8	0,8 - 4,8	15,31	0,17	15,18	3,21
GSLSUM-SA-3	GSLSUM	Samen	C09	30,4	27,0 - 31,4	-15,19	0,18	15,35	3,21
ALKSUM-BL-1	ALKSUM	Blatt	A03	100,8	100,0 - 102,2	1,75	0,37	16,59	3,29
ALKSUM-BL-2	ALKSUM	Blatt	A06	41,3	33,7 - 43,6	0,91	0,10	5,57	3,29
ALKSUM-BL-3	ALKSUM	Blatt	C07	48,9	46,8 - 55,7	-0,83	0,08	4,51	3,29
ALKSUM-ST-1	ALKSUM	Stängel	A03	100,8	100,5 - 101,8	2,31	0,38	21,62	3,14
ALKSUM-ST-2	ALKSUM	Stängel	C02	125,7	124,7 - 129,9	-0,95	0,06	4,70	3,14
ALKSUM-ST-3	ALKSUM	Stängel	C09	4,8	1,5 - 7,9	2,26	0,16	11,15	3,14
ALKSUM-ST-4	ALKSUM	Stängel	C09	27,3	26,1 - 29,9	-2,07	0,16	10,68	3,14
ALKSUM-SA-1	ALKSUM	Samen	C02	120,5	120,3 - 120,7	-19,21	0,65	34,20	3,12
ALKSUM-SA-2	ALKSUM	Samen	C09	2,8	1,4 - 4,1	18,31	0,25	15,82	3,12
ALKSUM-SA-3	ALKSUM	Samen	C09	30,4	27,3 - 31,4	-13,61	0,14	11,99	3,12
INDSUM-BL-1	INDSUM	Blatt	A02	53,9	48,0 - 65,6	0,10	0,21	9,99	3,15
INDSUM-BL-2	INDSUM	Blatt	A03	67,6	54,0 - 77,5	-0,05	0,06	3,31	3,15
INDSUM-BL-3	INDSUM	Blatt	A08	38,5	35,2 - 40,5	-0,07	0,11	4,73	3,15
INDSUM-BL-4	INDSUM	Blatt	C07	50,5	47,9 - 52,5	0,10	0,21	10,36	3,15
INDSUM-ST-1	INDSUM	Stängel	A02	52,9	51,1 - 54,5	0,19	0,17	7,34	3,17
INDSUM-ST-2	INDSUM	Stängel	A08	38,5	16,6 - 43,1	-0,15	0,10	4,36	3,17
INDSUM-ST-3	INDSUM	Stängel	C07	55,7	52,7 - 61,3	0,22	0,20	8,51	3,17
INDSUM-SA-1	INDSUM	Samen	A03	124,8	118,3 - 126,2	-0,23	0,12	6,70	3,12
INDSUM-SA-2	INDSUM	Samen	A04	26,8	23,4 - 31,7	-0,21	0,10	5,88	3,12
INDSUM-SA-3	INDSUM	Samen	C05	44,9	42,0 - 50,9	-0,28	0,17	9,19	3,12

Fortsetzung Tabelle 3.9

QTL	Merkmal	Pflanzen- teil	KG	Position [cM]	Konfidenz-in- tervall [cM]	Additiv- effekt	R ² [%]	LOD	LOD- GW
PRO-BL-1	PRO	Blatt	A03	100,8	99,8 - 104,4	0,39	0,22	11,46	3,14
PRO-BL-2	PRO	Blatt	C06	9,0	0,0 - 19,8	-0,21	0,06	3,51	3,14
PRO-BL-3	PRO	Blatt	C09	0,0	0,0 - 0,8	0,56	0,18	9,39	3,14
PRO-BL-4	PRO	Blatt	C09	35,0	28,7 - 39,1	-0,70	0,29	7,92	3,14
PRO-ST-1	PRO	Stängel	A03	100,8	100,3 - 102,4	0,79	0,32	18,57	3,36
PRO-ST-2	PRO	Stängel	C02	125,7	125,1 - 129,9	-0,40	0,07	5,39	3,36
PRO-ST-3	PRO	Stängel	C09	4,8	1,6 - 7,7	0,90	0,18	11,69	3,36
PRO-ST-4	PRO	Stängel	C09	28,3	26,2 - 29,7	-0,97	0,27	11,97	3,36
PRO-SA-1	PRO	Samen	A03	80,1	76,6 - 81,3	4,36	0,09	5,61	3,27
PRO-SA-2	PRO	Samen	A03	109,3	108,1 - 111,0	5,45	0,13	10,03	3,27
PRO-SA-3	PRO	Samen	C02	120,5	119,6 - 121,0	-10,70	0,54	20,69	3,27
PRO-SA-4	PRO	Samen	C09	4,8	3,6 - 6,1	7,91	0,13	8,96	3,27
PRO-SA-5	PRO	Samen	C09	28,3	19,2 - 38,5	-3,86	0,07	3,82	3,27
ALY-BL-1	ALY	Blatt	A03	100,8	100,0 - 102,3	0,18	0,31	16,34	3,11
ALY-BL-2	ALY	Blatt	C09	1,8	0,8 - 4,9	0,19	0,14	7,83	3,11
ALY-BL-3	ALY	Blatt	C09	36,0	33,1 - 39,6	-0,28	0,27	13,29	3,11
ALY-ST-1	ALY	Stängel	A03	100,8	100,3 - 103,7	0,30	0,33	18,21	3,19
ALY-ST-2	ALY	Stängel	C02	127,2	123,6 - 129,9	-0,15	0,08	5,78	3,19
ALY-ST-3	ALY	Stängel	C09	4,8	1,6 - 8,5	0,32	0,17	10,58	3,19
ALY-ST-4	ALY	Stängel	C09	27,3	26,3 - 29,7	-0,32	0,21	11,06	3,19
ALY-SA-1	ALY	Samen	A03	2,0	0,0 - 8,7	-0,77	0,06	3,52	3,11
ALY-SA-2	ALY	Samen	A03	88,7	88,2 - 90,9	-1,06	0,12	5,56	3,11
ALY-SA-3	ALY	Samen	A03	100,8	97,8 - 101,8	-1,33	0,19	9,94	3,11
ALY-SA-4	ALY	Samen	C02	21,1	16,2 - 33,1	-0,73	0,05	3,18	3,11
ALY-SA-5	ALY	Samen	C02	120,5	113,8 - 123,7	-1,47	0,23	11,29	3,11
GNA-BL-1	GNA	Blatt	A03	100,8	99,8 - 101,8	0,17	0,25	11,77	3,02
GNA-BL-2	GNA	Blatt	A06	41,3	34,4 - 45,0	0,13	0,14	7,41	3,02
GNA-BL-3	GNA	Blatt	C03	47,7	42,5 - 55,2	-0,08	0,06	3,37	3,02
GNA-BL-4	GNA	Blatt	C07	52,7	42,1 - 56,5	-0,11	0,09	4,87	3,02
GNA-ST-1	GNA	Stängel	A03	100,8	100,0 - 101,8	0,21	0,40	18,17	3,07
GNA-ST-2	GNA	Stängel	A06	61,4	56,1 - 65,5	0,10	0,08	5,03	3,07
GNA-ST-3	GNA	Stängel	C07	22,3	20,4 - 25,2	-0,11	0,09	5,60	3,07
GNA-SA-1	GNA	Samen	A03	109,3	108,3 - 111,5	1,87	0,14	13,75	3,33
GNA-SA-2	GNA	Samen	C02	120,5	119,8 - 120,8	-3,45	0,52	32,83	3,33
GNA-SA-3	GNA	Samen	C04	24,2	21,7 - 37,4	0,92	0,04	4,24	3,33
GNA-SA-4	GNA	Samen	C09	4,8	3,7 - 12,0	1,95	0,08	7,78	3,33
GNA-SA-5	GNA	Samen	C09	27,3	25,9 - 31,4	-1,35	0,04	4,60	3,33
GBN-BL-1	GBN	Blatt	A03	100,8	100,2 - 101,8	0,88	0,38	17,57	3,09
GBN-BL-2	GBN	Blatt	A06	41,3	34,0 - 43,6	0,46	0,11	6,08	3,09
GBN-BL-3	GBN	Blatt	C07	48,9	46,8 - 55,6	-0,41	0,08	4,76	3,09
GBN-ST-1	GBN	Stängel	A03	100,8	100,4 - 101,8	0,99	0,38	19,22	3,25
GBN-ST-2	GBN	Stängel	C06	9,9	0,0 - 20,7	-0,32	0,04	3,31	3,25
GBN-ST-3	GBN	Stängel	C09	1,8	0,8 - 4,8	0,87	0,13	7,77	3,25
GBN-ST-4	GBN	Stängel	C09	36,0	33,1 - 39,1	-1,19	0,24	7,68	3,25

Fortsetzung Tabelle 3.9

QTL	Merkmal	Pflanzen- teil	KG	Position [cM]	Konfidenz-in- tervall [cM]	Additiv- effekt	R ² [%]	LOD	LOD- GW
GBN-SA-1	GBN	Samen	A03	100,8	98,2 - 102,4	-1,57	0,16	9,55	3,28
GBN-SA-2	GBN	Samen	C02	120,5	119,4 - 121,1	-2,25	0,31	16,35	3,28
GBN-SA-3	GBN	Samen	C09	0,8	0,0 - 4,3	2,53	0,17	10,24	3,28
GBN-SA-4	GBN	Samen	C09	34,0	32,5 - 38,5	-3,23	0,31	16,72	3,28
GBC-BL-1	GBC	Blatt	A02	52,9	50,8 - 55,1	0,07	0,15	6,55	3,36
GBC-BL-2	GBC	Blatt	C07	51,5	50,5 - 52,7	0,09	0,24	9,57	3,36
GBC-ST-1	GBC	Stängel	A02	52,9	51,0 - 54,5	0,12	0,12	5,59	3,02
GBC-ST-2	GBC	Stängel	C07	56,5	55,9 - 59,9	0,25	0,22	9,63	3,02
GBC-SA-1	GBC	Samen	A01	0,0	0,0 - 7,4	-0,04	0,09	5,27	3,19
GBC-SA-2	GBC	Samen	A03	88,7	86,0 - 90,3	-0,08	0,35	14,41	3,19
GBC-SA-3	GBC	Samen	A10	1,7	0,0 - 8,0	-0,06	0,18	8,14	3,19
GBC-SA-4	GBC	Samen	C02	112,9	111,7 - 119,0	0,04	0,07	3,37	3,19
GBC-SA-5	GBC	Samen	C02	127,2	126,5 - 129,9	0,05	0,10	5,01	3,19
NAS-BL-1	NAS	Blatt	C02	36,8	34,0 - 38,2	-0,02	0,13	4,66	3,07
NAS-BL-2	NAS	Blatt	C09	37,0	31,7 - 49,4	-0,03	0,16	4,98	3,07
NAS-ST-1	NAS	Stängel	A03	6,2	0,0 - 11,3	0,05	0,10	4,34	3,10
NAS-ST-2	NAS	Stängel	A03	97,6	91,3 - 99,2	0,05	0,08	3,51	3,10
NAS-ST-3	NAS	Stängel	C02	45,4	41,4 - 51,5	-0,04	0,07	3,01	3,10
NAS-ST-4	NAS	Stängel	C07	23,0	22,5 - 27,4	-0,04	0,07	3,11	3,10
NAS-SA-1	NAS	Samen	A03	100,8	98,7 - 102,4	-0,31	0,07	3,97	3,11
NAS-SA-2	NAS	Samen	C02	129,9	123,1 - 130,9	-0,49	0,20	9,57	3,11
NAS-SA-3	NAS	Samen	C09	4,8	2,1 - 7,9	0,78	0,23	10,32	3,11
NAS-SA-4	NAS	Samen	C09	27,3	26,3 - 29,7	-0,85	0,31	12,07	3,11
NEO-BL-1	NEO	Blatt	A02	37,7	36,7 - 42,5	0,02	0,16	8,07	3,09
NEO-BL-2	NEO	Blatt	A02	54,9	52,9 - 75,2	0,02	0,10	4,82	3,09
NEO-BL-3	NEO	Blatt	C03	160,2	157,0 - 165,7	-0,02	0,26	9,70	3,09
NEO-ST-1	NEO	Stängel	A01	3,5	0,0 - 11,5	0,04	0,11	4,89	3,33
NEO-ST-2	NEO	Stängel	A02	36,7	15,9 - 38,2	0,04	0,08	3,57	3,33
NEO-ST-3	NEO	Stängel	A08	37,5	21,8 - 41,8	-0,03	0,08	3,86	3,33
NEO-ST-4	NEO	Stängel	C03	160,7	156,7 - 166,3	-0,03	0,08	3,76	3,33
NEO-ST-5	NEO	Stängel	C07	37,7	33,0 - 39,9	0,03	0,08	3,80	3,33
NEO-SA-1	NEO	Samen	A03	99,2	88,5 - 102,4	-0,03	0,09	3,22	3,16
NEO-SA-2	NEO	Samen	A09	37,8	33,0 - 53,3	0,03	0,10	3,48	3,16
NEO-SA-3	NEO	Samen	C05	49,9	38,2 - 53,7	0,03	0,09	3,76	3,16
NEO-SA-4	NEO	Samen	C05	73,6	66,8 - 81,0	0,03	0,13	5,60	3,16
RAA-SA-1	RAA	Samen	A03	109,3	107,6 - 111,0	0,21	0,15	12,03	3,33
RAA-SA-2	RAA	Samen	C02	120,5	119,6 - 121,0	-0,38	0,49	27,41	3,33
4OH-SA-1	4OH	Samen	A03	121,0	118,1 - 125,8	-0,22	0,14	5,57	3,29
4OH-SA-2	4OH	Samen	A04	26,8	23,3 - 31,7	-0,19	0,11	4,14	3,29
4OH-SA-3	4OH	Samen	A10	28,8	25,9 - 38,6	-0,16	0,07	3,04	3,29
4OH-SA-4	4OH	Samen	C03	12,1	11,8 - 25,0	-0,18	0,10	4,05	3,29
4OH-SA-5	4OH	Samen	C05	44,9	42,1 - 54,1	-0,26	0,19	9,60	3,29
4OH-SA-6	4OH	Samen	C06	84,5	69,5 - 86,1	-0,15	0,07	3,07	3,29
NIRXL-SA-1	NIRXL	Samen	C02	127,2	122,7 - 129,9	0,40	0,12	5,19	3,16

Fortsetzung Tabelle 3.9

QTL	Merkmal	Pflanzen- teil	KG	Position [cM]	Konfidenz-in- tervall [cM]	Additiv- effekt	R ² [%]	LOD	LOD- GW
NIRXL-SA-2	NIRXL	Samen	C03	193,2	192,7 - 195,2	0,58	0,14	6,02	3,16
NIRXL-SA-3	NIRXL	Samen	C09	118,6	113,9 - 122,6	0,36	0,09	4,02	3,16
NIRXP-SA-1	NIRXP	Samen	A03	61,4	55,5 - 66,6	-0,33	0,10	3,85	3,04
NIRXP-SA-2	NIRXP	Samen	A05	2,0	0,0 - 10,0	-0,61	0,21	6,64	3,04
NIRXP-SA-3	NIRXP	Samen	C04	22,7	20,0 - 26,4	0,28	0,07	3,17	3,04
NIRXP-SA-4	NIRXP	Samen	C06	89,8	87,7 - 90,8	-0,28	0,08	3,27	3,04
NIRXP-SA-5	NIRXP	Samen	C07	67,2	66,4 - 70,3	0,33	0,10	4,42	3,04
NIRGSL-SA-1	NIRGSL	Samen	A03	109,3	108,0 - 111,3	6,78	0,10	7,16	3,32
NIRGSL-SA-2	NIRGSL	Samen	A04	18,6	11,1 - 26,4	4,59	0,05	3,82	3,32
NIRGSL-SA-3	NIRGSL	Samen	C02	120,5	119,7 - 120,8	-15,82	0,55	25,21	3,32
NIRGSL-SA-4	NIRGSL	Samen	C09	4,8	1,7 - 6,5	11,07	0,11	11,07	3,32
NIR181-SA-1	NIR181	Samen	A03	80,1	75,6 - 86,5	-0,87	0,21	6,84	3,20
NIR181-SA-2	NIR181	Samen	A03	109,3	108,5 - 111,0	0,67	0,12	4,18	3,20
NIR181-SA-3	NIR181	Samen	A10	27,3	22,4 - 36,9	-0,56	0,13	5,47	3,20
NIR181-SA-4	NIR181	Samen	A10	48,4	45,8 - 53,1	-0,46	0,09	3,38	3,20
NIR183-SA-1	NIR183	Samen	A09	75,4	74,0 - 77,0	0,25	0,10	5,61	3,25
NIR183-SA-2	NIR183	Samen	A10	27,3	26,4 - 29,4	0,34	0,25	11,97	3,25
NIR183-SA-3	NIR183	Samen	C01	56,4	55,9 - 63,7	-0,20	0,08	4,47	3,25
NIR183-SA-4	NIR183	Samen	C01	68,4	64,9 - 71,8	-0,23	0,11	5,82	3,25
NIR183-SA-5	NIR183	Samen	C02	87,1	83,5 - 95,6	0,20	0,08	4,45	3,25
NIRERU-SA-1	NIRERU	Samen	C01	51,4	39,2 - 56,4	0,50	0,11	3,82	2,97
NIRERU-SA-2	NIRERU	Samen	C05	73,6	63,9 - 75,9	-0,49	0,10	4,13	2,97
PFLL-1	PFLL	-	A02	52,9	51,4 - 54,7	-4,06	0,18	6,71	3,26
PFLL-2	PFLL	-	A02	68,1	55,1 - 81,4	-4,40	0,22	4,94	3,26
PFLL-3	PFLL	-	A03	114,4	110,8 - 115,4	2,87	0,09	3,62	3,26
BOF-1	BOF	-	A02	52,7	43,3 - 55,1	0,75	0,15	6,73	3,29
BOF-2	BOF	-	A02	65,1	55,1 - 79,4	0,83	0,18	6,11	3,29
BOF-3	BOF	-	A03	114,4	111,5 - 115,6	-0,78	0,16	7,76	3,29
BOF-4	BOF	-	C04	101,0	97,7 - 103,9	-0,60	0,09	5,52	3,29

Von diesen 115 QTL wurden 31 QTL im Pflanzenteil Blatt, 35 im Stängel und 49 QTL im Samen kartiert. Auf den Kopplungsgruppen A03, C09, C02 und C07 lagen mit jeweils 28, 26, 16 und 10 QTL ein Großteil der QTL mit Bezug zu GSL. Auf der Kopplungsgruppe C01 fand sich hingegen kein QTL. Auch auf den Gruppen A05, A09 und C04 wurde nur je ein QTL kartiert. Die QTL mit den größten Anteilen erklärter phänotypischer Varianz wurden jeweils im Samen für die GSL-Gruppen GSLSUM (67 %), ALKSUM (65 %) und Einzelglucosinolate PRO (54 %), GNA (52 %) und RAA (49 %) auf der Kopplungsgruppe C02 bei 120,5 cM kartiert. Im Stängel erklärte der größte QTL 41 % der Variation des GSL-Gesamtgehaltes (GSLSUM-ST-1), im Blatt waren es 38 % des Gehalts an GBN (GBN-BL-1).

Die Darstellung in Abbildung 3.27 visualisiert kreisförmig die erstellte Markerkarte der Population ‚L16 x Express‘ mit 19 Kopplungsgruppen (KG) und zugleich die darin kartierten GSL-QTL. Die oberen Ringe beinhalten KG, Markerverteilung und Abweichung von 1:1 Spaltung. Die darauffolgenden Ringe stellen GSL-Merkmale dar. Jeder Punkt innerhalb eines Kreisstücks symbolisiert einen QTL. Die Färbung der Punkte gibt Aufschluss über den Pflanzenteil des kartierten QTL. Die Größe der Punkte ist proportional zum Anteil erklärter phänotypischer Varianz (R^2).

Zunächst ist erkennbar, dass sich Ansammlungen der QTL für die Alkenyl-GSL (bläuliche Ringe), Indol-GSL (rötliche Ringe) und NAS (violetter Ring) teils auf unterschiedlichen Kopplungsgruppen finden, teils aber auch überlappen (vgl. auch Markerkarte in Anhang 7.5). Für die Gruppe der Alkenyl-GSL, deren Einzel-GSL und den Gesamtgehalt fallen die KG A03, C02 und C09 mit Ansammlungen von QTL ins Auge. Auf der KG C02 wurden hauptsächlich QTL für Samen-GSL (rot) gefunden. Im Vergleich dazu überwogen auf der

Abbildung 3.27: Circleplot der kartierten QTL für alle Glucosinolatmerkmale in der Population ‚L16 x Express‘. Jeder Punkt symbolisiert einen QTL. Färbung der Punkte anhand des Pflanzenteils. Größe der Punkte proportional zum Anteil erklärter Varianz (R^2).

KG A03 QTL für GSL in Blatt und Stängel (blau und grün). Dort waren für alle Alkenyl-GSL bis auf RAA die QTL in Blatt und Stängel co-lokalisiert. Für die GSL PRO, GBN, GNA, ALY und RAA im Samen wurden an ähnlicher Position QTL kartiert, jedoch mit kleineren Anteilen erklärter Varianz. Auf der KG C09 war die Co-Lokalisation der QTL zwischen den Pflanzenteilen für die einzelnen GSL sehr unterschiedlich: Für die QTL von GSLSUM, ALKSUM und GBN fanden sich Überlappungen der Positionen zwischen Samen und Stängel, für PRO zwischen Samen, Stängel und Blatt. Für ALY gab es überlappende QTL zwischen Stängel und Blatt, während für GNA nur QTL im Samen kartiert wurden. Abseits von den drei genannten KG mit Häufungen an QTL wurden für die Alkenyl-GSL weitere einzelne, kleinere QTL auf den KG A05, A06, C03, C04, C06 und C07 kartiert.

Für die Indol-GSL in Blatt und Stängel ließen sich auf den KG A02 bei ca. 55 cM und C07 bei ca. 50 cM bei zwei Regionen mit co-lokalisierenden QTL ausmachen. Für das GSL NEO existierte ein weiterer Grünmasse-QTL auf C03 bei ca. 160 cM. Interessanterweise fanden sich für die Indol-GSL keine Positionsüberlappungen der QTL zwischen Samen und Grünmasse. Denn QTL im Samen (Anzahl) wurden jeweils auf A01 (1), A03 (4), A04 (2), A09 (1), A10 (2), C02 (2), C05 (4) und C06 (1) kartiert. Auffallend war ein QTL für GBC mit 35 % erklärter Varianz auf C03 bei 88 cM. Für das samenspezifische GSL 4OH wurden insgesamt 6 QTL detektiert. Derjenige mit dem größten Anteil erklärter Varianz von 19 % lag auf KG C05 bei 45 cM.

Für das aromatische GSL NAS konnten insgesamt zehn QTL kartiert werden, davon zwei im Blatt und je vier in Stängel und Samen. Zwei größere QTL im Samen wurden auf C09 bei 5 und 27 cM lokalisiert. Auf selbiger KG bei 37 cM wurde ein QTL im Blatt mit 16 % erklärter Varianz gefunden. Die QTL für NAS im Stängel erklärten jeweils unter 10 % der phänotypischen Varianz und lagen auf den KG A03, C02 und C07.

4 Diskussion

4.1 Quantitative Variation von Glucosinolatgehalt und -muster

Aus der Literatur sind zahlreiche abiotische Einflussfaktoren auf die GSL-Gehalte von Brassica-Arten bekannt (siehe Kapitel 1.2.6). Neben abiotischen Einflussfaktoren auf die konstitutiven Gehalte an GSL können auch Veränderungen der GSL-Gehalte durch Herbivorenfraß, Insektenbefall, mechanische Verwundung oder künstliche Behandlung mit wuchsstoffähnlichen Substanzen wie Salicyl- oder Jasmonsäurederivaten induziert werden (Textor & Gershenzon 2009). Folglich variieren die GSL-Gehalte und -zusammensetzungen auf unterschiedlichen Ebenen, insbesondere

- zwischen Genotypen,
- zwischen Standorten und zwischen Jahren,
- zwischen Entwicklungsstadien im Vegetationsverlauf,
- zwischen unterschiedlich gestressten Einzelpflanzen,
- zwischen und innerhalb von Pflanzenteilen.

GSL-Gehalte und -muster stellen somit immer eine einzelpflanzenspezifische Momentaufnahme des jeweiligen Pflanzenzustandes dar, welche durch die Interaktionen aller genetischen, biotischen und abiotischen Faktoren verursacht worden sind (Rosa *et al.* 1997). Daraus ergibt sich die Fragestellung wie sich die räumlich-zeitliche Variation der GSL-Gehalte im Hinblick auf die potentielle Funktion der GSL erklären lässt. Zunächst werden jedoch einzelne Aspekte der in Kapitel 3.1 untersuchten Faktoren und Versuche diskutiert.

(1) Wie groß ist genetische Variation für einzelne Glucosinolate, Gruppen von Glucosinolaten und für die Gesamtgehalte in der Grünmasse und im Samen?

Die Varianzanalysen über Umwelten zeigten insgesamt sehr große Anteile der genotypischen Varianzkomponenten in Stängeln, Blatt und Samen. Eine große genetische Variation ist mit Hinblick auf die Auswahl der Genotypen aus Resynthesen, alten und neuen Sorten zu erwarten gewesen. Problematisch an dieser sehr variablen Zusammensetzung des Genotypensortiments ist, dass es zu einem GSL-Probenahmetermin, bei dem alle Genotypen gleichzeitig beprobt wurden, deutliche Unterschiede in der Pflanzenentwicklung zwischen Genotypen gab. Da sich die GSL-Gehalte im Verlauf der Ontogenese verändern und insbesondere während des Längenwachstums abnehmen (Bennert 1992), sind die Grünmassegehalte zwischen Genotypen nicht direkt vergleichbar (Smith & Griffith 1988). Stephani (1985) und Porter *et al.* (1991) weisen darauf hin, dass eine Vergleichbarkeit der Grünmassegehalte zwischen Genotypen durch eine klar definierte Probenahme erreicht werden kann. In den Versuchen dieser Arbeit wurden daher Pflanzen stets von der Sprossspitze aus beprobt und Mischproben aus mindestens 5 Einzelpflanzen gebildet, um Fehler durch entwicklungsbedingte Unterschiede der Genotypen zu minimieren. Dennoch kann ein derartiger Fehler nicht ausgeschlossen werden. Dieser

würde sich durch eine zusätzliche, umweltbedingte Varianz in den genotypischen Varianzkomponenten widerspiegeln, sodass eine Überschätzung letzterer angenommen werden müsste. Insbesondere am ersten GSL-Probenahmetermin während des Schossbeginns, bei dem es große Entwicklungsunterschiede zwischen Genotypen gab, fallen im Verhältnis zu den Varianzkomponenten der Umwelt und Genotyp-Umwelt Interaktion sehr hohe genotypische Varianzkomponenten auf. Zum zweiten GSL-Probenahmetermin mit beginnender Blüte und damit am Ende des Längenwachstums befanden sich die Genotypen in homogeneren Entwicklungsstadien, was sich im Verhältnis zu den anderen Varianzkomponenten in niedrigeren und weniger verzerrten genotypischen Varianzkomponenten manifestiert. Um eine entwicklungsbedingte Verzerrung zu umgehen, müssten die Genotypen im gleichen Entwicklungsstadium zu verschiedenen Terminen geerntet werden. In dem Fall wäre die Summe der Umweltbedingungen, die auf die Genotypen wirkt, nicht einheitlich. Eine Beprobung zu mehreren Terminen erscheint aus züchterischer Sicht mit Hinblick auf hohe Prüfumfänge wenig praktikabel. Zudem ist für die Untersuchung des Aspekts der Wirtspflanzenwahl durch Rüsselschädlinge die Momentaufnahme der GSL-Gehalte und –Zusammensetzungen zum Zeitpunkt des Schädlingszuflugs im Frühjahr relevant.

Im Hinblick auf die Güte der Versuche fanden sich in der Serienverrechnung der GSL-Daten insgesamt kleine Versuchsfehler und hohe Heritabilitäten, insbesondere auch für kleinere GSL-Fractionen wie Neoglucobrassicin oder Gluconasturtiin. Dies deutet auf eine reproduzierbare Probenahme und Analytik hin.

(2) Wie groß ist der Umwelteinfluss auf Glucosinolatgehalte und –zusammensetzungen und gibt es signifikante Interaktionen zwischen Genotypen und Umwelten?

Im Vergleich zu den genotypischen Varianzkomponenten waren die Varianzkomponenten der Umwelten vergleichsweise klein. Dies spricht für eine überwiegend genetische Steuerung der GSL-Gehalte in diesem Material. Die oben angesprochene Überschätzung der genetischen Variation und damit einhergehende Unterschätzung der Umweltvarianz kann aufgrund der Probenahme für die Grünmassegehalte nicht ausgeschlossen werden. Die Samengehalte, welche zur Samenreife keine entwicklungsbedingten Verfälschungen enthalten dürften, zeigten vergleichbare Relationen zwischen den vier Varianzkomponenten wie in der Grünmasse, was insgesamt für eine hohe genetische Determinierung der GSL-Gehalte spricht.

Zwischen den Gruppen von GSL und auch einzelnen GSL gab es allerdings Unterschiede. Für Indol-GSL im Vergleich zu Alkenyl-GSL und Gluconasturtiin wurden größere relative Anteile der Varianzkomponenten der Umwelt gegenüber den relativen Summen der Varianzkomponenten der Genotypen und der Genotyp-Umwelt Interaktion gefunden, was als Hinweis auf eine größere Beeinflussung der Indol-GSL Gehalte durch Umwelteinflüsse im Vergleich zu den Alkenyl-GSL interpretiert werden kann. Auch Schilling (1991)

führt niedrigere Heritabilitäten für Indol-GSL auf gesteigerte Genotyp-Umwelt Interaktionen zurück.

Für alle GSL-Merkmale bestanden signifikante Interaktionen der Genotypen mit den Umwelten. Dies zeigt, dass die GSL-Gehalte der Genotypen in Abhängigkeit der Umwelten unterschiedlich ausgeprägt waren. Da in dem Faktor Umwelt sowohl die Effekte aus Standorten und Jahren enthalten waren und die Zahl der Umwelten für Grünmassemerkmale mit neun recht groß war, sind diese Interaktionen nicht unerwartet, wie auch Milford & Evans (1991) bestätigen. Die Variation zwischen Standorten und Jahren (Kapitel 3.1.4) verdeutlicht das Vorkommen von Interaktionen. Zwischen den Jahren 2012 und 2013 gab es keinen deutlichen Jahreseffekt, während die Gehalte in 2011 nur halb so hoch waren wie 2012 und 2013. Die Ursachen dafür bleiben unklar, wobei die Vegetationsperiode 2010/11 durch einen strengen Winter mit Auswinterung zweier Orte und einem spät einsetzenden Vegetationsbeginn gekennzeichnet war. Bezüglich der Standortvariation gab es eine große Variation von ca. 8 μmol in Peine 2013 und 16 μmol in Weende 2012. Interessant an den Jahren 2012 und 2013 ist, dass die Rangierung der Orte im Gesamtgehalt gleich blieb. Rosa *et al.* (1997) erwähnen einen Einfluss der Bodengüte auf die Gesamtgehalte. Und auch Milford & Evans (1991) berichten von Standorten mit wiederholt niedrigen Gesamtgehalten, was die konsistente Reihenfolge der Standorte in 2012 und 2013 bezüglich ihrer Gesamtgehalte erklären könnte. Inwiefern die Interaktionen einzelner Genotypen mit der Umwelt an einem Standort zwischen den beiden Jahren gleichartig waren, wird bei dieser Annahme allerdings nicht berücksichtigt. Weiterhin wird in Studien von abiotischen Faktoren wie beispielsweise Temperatur, Photoperiode und Einstrahlungsintensität (Charron *et al.* 2005, Charron & Sams 2004) oder auch Wasserversorgung, Temperatursumme nach Blüte oder Nährstoffversorgung (Milford & Evans 1991) der Pflanze berichtet, die einen Einfluss auf die Gesamtgehalte haben können. Zieht man zudem biotische Einflussfaktoren hinzu, die eine Induktion der GSL-Synthese bewirken können verkompliziert sich das Bild weiter (Textor & Gershenzon 2009). Es muss daher angenommen werden, dass die Orts- und Jahreseffekte der GSL-Gehalte durch komplexe Pflanze-Umwelt Interaktionen zustande kommen.

(3) Sind Veränderungen der Glucosinolatgehalte und –zusammensetzungen in der Grünmasse vom Schossen zur Blüte hin zu beobachten?

Als deutlichster Einflussfaktor auf die GSL-Gesamtgehalte hat sich in dieser Arbeit der Probenahmetermin herausgestellt (Abbildung 3.2). Die Probenahmetermine zu Schossbeginn (T1) und zu Blühbeginn (T2) müssen dazu in den Verlauf der GSL-Gehalte im Laufe der Ontogenese eingeordnet werden. Der Vergleich mit Werten aus anderen Studien ist problematisch, da neben unterschiedlichen Genotypen auch die Entwicklungsstadien und Pflanzenfraktionen für die Probenahme nicht immer klar zugeordnet werden können.

Die hier festgestellte mittlere Abnahme der GSL-Gehalte von rund 18 μmol zu Schossbeginn auf 4 μmol zu Blühbeginn steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Studien (Jürges 1982, Stephani 1985, Clossais-Besnard & Larher 1991, Porter *et al.* 1991, Bennert 1992, Fieldsend & Milford 1994a,b). Allen Studien finden unabhängig von den untersuchten Genotypen ähnliche Verläufe der Gesamtgehalte in der Grünmasse während des Vegetationsverlaufs. Dieser ist durch eine starke Abnahme der Gesamtgehalte ($\mu\text{mol/g TM}$) in den ersten Tagen nach der Keimung gekennzeichnet. Mit beginnender Photosynthese sinken die Gehalte weiter ab, die Gesamtmengen ($\mu\text{mol/Pflanze}$) steigen jedoch an. Dies deutet auf eine höhere Rate der Trockenmassebildung gegenüber der GSL-Synthese hin, sodass die Gehalte durch diesen Verdünnungseffekt sinken (Porter *et al.* 1991, Rosa 1999). Hin zum Rosettenstadium als Überwinterungsform stagnieren oder erhöhen sich sowohl die Gesamtgehalte als auch Gesamtmengen leicht. Während des Schossens (hohe Biomassezunahme) bis zum Blühbeginn nehmen die Gesamtgehalte weiter stark ab, während die GSL-Gesamtmengen pro Pflanze steigen (Bennert 1992). Ab der Schotenbildung hin zur Reife werden weiter GSL synthetisiert, sodass die Gesamtmenge pro Pflanze, aber auch die Gehalte bzw. Konzentrationen in den Schoten steigen. Es bleibt anzumerken, dass dieser allgemeine, auf die Gesamtpflanze bezogene Verlauf der GSL-Gehalte weiter differenziert werden muss, da Unterschiede sowohl zwischen verschiedenen Pflanzenteilen, als auch innerhalb dieser bestehen (Porter *et al.* 1991).

Jürges (1982) findet beispielsweise bei einer hoch- und niedrig-GSL haltigen Sorte eine Abnahme der Alkenylgehalte in der gesamten Grünmasse von deren Maximum zu Vegetationsbeginn (10 Wochen vor Blüte) von 39 bzw. 7 μmol auf 21 bzw. 2 μmol zu Blühbeginn und eine weitere Abnahme zu Beginn der Schotenbildung auf 15 % der Ausgangsgehalte. Im Verlauf der Samenausbildung steigen dort die Gehalte wieder auf ihre Ausgangswerte. Dieser Anstieg der Gesamtgehalte in der Grünmasse kann in der Untersuchung auf die Steigerung der Gehalte in generativen Geweben zurückgeführt werden. Auch Clossais-Besnard & Larher (1991) finden eine Abnahme der GSL-Gehalte in der Grünmasse während des vegetativen Wachstums. Mit Einsetzen der Blüte ist diese Abnahme besonders stark. Ab der Schotenbildung steigen auch dort die Gesamtgehalte wieder an. Der von 4 bis 16 μmol angegebene Bereich der Gesamtgehalte ist vergleichbar mit den Ergebnissen dieser Arbeit. Bei Bennert (1992) ist der Wertebereich zu Schossbeginn in Abhängigkeit von Jahr und Sortentyp deutlich niedriger. Eine Abnahme wird aber dennoch festgestellt.

Neben der Veränderung der GSL-Gesamtgehalte veränderte sich auch die GSL-Zusammensetzung während der Ontogenese (Tabelle 3.2). Die prozentuale Veränderung der Zusammensetzung von T1 zu T2 ist vom Genotyp abhängig, im Mittel aber relativ gering. Tendenziell scheint die relative Veränderung in Genotypen mit geringen absoluten Abnahmen von T1 zu T2 größer zu sein (Abbildung 3.3). Möglicherweise führen aufgrund der niedrigen Gehalte höhere Fehler in der Analytik bzw. Probenahme zu vermeintlich

großen prozentualen Änderungen. Es existierten allerdings auch Genotypen wie beispielsweise ‚Abukuma natane‘, die eine geringe absolute Abnahme und keine nennenswerte prozentuale Änderung aufwiesen. Insgesamt war im Mittel der Genotypen der Anteil von GBN um 8 %, von PRO um 2 % und von GBC um 2,5 % vermindert, während der Anteil von GNL um 3 % und von NAS und ALY um je 2 % erhöht war. Bei Fieldsend & Milford (1994b) werden minimal ansteigende Anteile PRO und leicht abnehmende Anteile von NAS, GBC und GBN während des Schossens in der 00-Sorte ‚Ariana‘ angegeben. Bennert (1992) stellt vom Schossen zur Blüte einen abnehmenden Anteil GBN, aber ansteigenden Anteil PRO bei der Sorte ‚Jet Neuf‘ fest. Auch dort sind die Änderungen mit < 10 % als eher gering einzustufen. Bei Stephani (1985) lassen sich keine deutlichen Änderungen der Alkenylanteile von ‚Jet Neuf‘ zwischen Längenwachstum und Blühbeginn feststellen. Zusammenfassend scheint in der Phase des Schossens keine drastische Umstellung der GSL-Zusammensetzung stattzufinden, was für die Hypothese eines Verdünnungseffektes der GSL-Gehalte in Phasen mit starkem Wachstum spricht.

- (4) Gibt es in der Grünmasse Unterschiede in den GSL-Gehalten und -Zusammensetzungen zwischen den Pflanzenteilen Blatt und Stängel?

Im Mittel der beiden Probenahmeterminen lagen die Blattgehalte um ca. 3 μmol niedriger als die des Stängels, mit leicht erhöhten Anteilen an Alkenylen im Blatt (Kapitel 3.1.5). Zu Blühbeginn berichten Cleemput & Becker (2008) von Gehalten von 2,8 μmol im Stängel und 1,5 μmol im Blatt. Weiter finden Cleemput & Becker (2012) Blattgehalte von 1 μmol und Stängelgehalte von 2 μmol zur Probenahme Anfang Mai, welche damit zeitnah am zweiten GSL-Probenahmetermin dieser Studie lag. Zur Schnittrife von Futterraps ermittelt Jürges (1982) höhere Gehalte im Stängel als im Blatt und differenziert zwischen weiteren Organen. Demnach hatte der obere, jüngere Teil der Sprossachse höhere Gehalte als der untere. Tragblätter sowie Blätter der Seitensprosse wiesen höhere Gehalte als die Blätter des Hauptsprosses auf. Die Unterschiede zwischen Organen waren für die Indolgehalte geringer als für die Alkenylgehalte. Zehnfach höhere Gehalte im Stängel als im Blatt schildern Rothe *et al.* (2004) in ihrer Studie. Im Herbst weisen Bradshaw *et al.* (1983 und 1984) in Kohl und resynthetisiertem Raps höhere Gehalte in Sprossachsen nach. Auch Bennert (1992) stellt höhere Gehalte in Stängeln gegenüber Blättern fest. Dort wird im Rosettenstadium zwischen unterschiedlich alten Blättern eine Abnahme mit zunehmendem Alter festgestellt, was auch in den Studien von Jürges (1982), Porter *et al.* (1991) und Li *et al.* (1999a) bestätigt wird. In Übereinstimmung werden in *Arabidopsis thaliana* höhere Konzentrationen in jüngeren als in älteren Organen und starke Abnahmen in seneszenten Blättern gefunden (Brown *et al.* 2003). Den Autoren zur Folge können für die Abnahmen der Gehalte entweder Abbauprozesse im intakten Gewebe oder eine Translokation in andere Organe ursächlich sein.

Die Korrelationen der Einzel-GSL und GSL-Gruppen (3.1.7) zwischen Blatt und Stängel waren für Gesamtgehalt, Alkenylgehalt und NAS am Termin 1 sehr hoch, am Termin 2 etwas niedriger. Die Beziehung der Indol-GSL zwischen Blatt und Stängel lag mit 0,68 am Termin

1 bzw. 0,61 an Termin 2 leicht niedriger. Dies zeigt, dass die Indol-GSL zwischen den Pflanzenteilen eine erhöhte Variabilität aufwiesen und damit eher einer gewebespezifischen Regulation unterliegen als die Alkenyl-GSL. Da das physiologische Alter bestimmter Fraktionen eines Pflanzenteils (z.B. obere vs. untere Sprossachse) einen großen Einflussfaktor auf die GSL-Gehalte zu haben scheint, muss beim Vergleich der Zusammenhänge zwischen Pflanzenteilen auch immer beachtet werden, ob gleichaltrige oder unterschiedlich alte Fraktionen verglichen werden. Hier wurden die Proben von Blättern und Stängeln zum gleichen Zeitpunkt und aus dem gleichen Bereich entnommen, sodass durch die Mischprobe ein ähnliches physiologisches Alter der Pflanzenteile angenommen werden kann und die hohen Korrelationen darin begründet sind. In anderen Untersuchungen werden sowohl hohe Korrelationen mit 0,86 (Cleemput & Becker 2008) und mittlere mit 0,65 (Cleemput & Becker 2012) angeführt.

Es kann festgehalten werden, dass sich die Pflanzenteile Blatt und Stängel in den Gesamtgehalten zwar signifikant unterschieden, die hohen Korrelationen aber auf eine starke Ähnlichkeit der Pflanzenteile bezüglich ihrer GSL-Zusammensetzung hinweisen.

(5) Gibt es Unterschiede in den GSL-Gehalten und -Zusammensetzungen zwischen Grünmasse und Samen? Wie ist die Beziehung zwischen Samen und Grünmasse?

Die Samen der hier untersuchten Genotypen besaßen mit im Mittel 58 μmol fast sechsfach mehr GSL als das Mittel der Grünmasse mit 11 μmol . Diese Mittelwerte sind jedoch aufgrund der Abhängigkeit der Grünmassegehalte vom Entwicklungsstadium stark durch die zwei Probenahmetermine beeinflusst. Es sind aber keine Studien bekannt in denen höhere Maximalgehalte in der Grünmasse als im Samen gefunden wurden. Auch bei Typen mit 00-Qualität und sehr niedrigen Samengehalten wie hier GOE-1991 (Abbildung 3.6) war der Grünmassegesamtgehalt stets niedriger als der des Samens. Es scheint als stelle der Samen als Speicher- und Überdauerungsorgan immer das Maximum der Gesamtgehalte dar. Es stellt sich somit die Frage, wie sich hohe Samengehalte erklären lassen. Damit verknüpft sind die Fragen, wo die Synthese der GSL des Samens stattfindet und inwieweit Transportprozesse von GSL aus anderen Pflanzenteilen involviert sind. Dazu ist es hilfreich zunächst die Korrelationen zwischen Grünmasse und Samenmaterial zu betrachten.

Zwischen Samen und Stängel, respektive Samen und Blatt konnten in Kapitel 3.1.7 für die Gesamt- und Alkenylgehalte für beide Termine der Probenahme mittlere Korrelationen im Bereich zwischen 0,53 und 0,68 ermittelt werden. Für das aromatische GSL NAS lagen diese zwischen 0,37 und 0,53. Für die Indol-GSL gab es jedoch keine signifikanten Beziehungen zwischen Samen und vegetativem Gewebe. Für die Alkenyl-GSL bedeutet dies, dass die Gehalte zwischen vegetativer Phase und Samenreife nicht gänzlich unabhängig sind. Gäbe es keinen Zusammenhang (wie bei den Indol-GSL) würden alle vier Kombinationen von Genotypen zwischen den zwei Pflanzenteilen vorkommen (Abbildung 3.6). Bei einem sehr strengen Zusammenhang (wie zwischen Blatt und Stängel)

würden sich nur die Kombinationen ‚hoch Samen/hoch Grünmasse‘ und ‚niedrig Samen/niedrig Grünmasse‘ finden. Das Ergebnis, dass für die Alkenyl-GSL die Genotyp-Kombination aus ‚hoch Samen‘ und ‚niedrig Grünmasse‘ existiert, die umgekehrte Kombination aus ‚niedrig Samen‘ und ‚hoch Grünmasse‘ jedoch nicht (zumindest nicht in diesem Material), deutet auf eine Verbindung zwischen GSL der Grünmasse und GSL der Samen hin. Es könnte als Hinweis auf einen aktiven Transport von der Grünmasse als Syntheseort und Source in die Samen als Sink interpretiert werden. Dies würde erklären weshalb die GSL-Gehalte der Grünmasse stets unterhalb derer von Samen liegen. Aus wissenschaftlicher Sicht wäre das Vorhandensein der Kombination aus ‚niedrig Samen‘ und ‚hoch Grünmasse‘ zur Untersuchung der Pflanze-Schädling Beziehungen und Wirkungen von GSL auf Schädlinge sehr interessant.

In der Literatur finden sich sehr unterschiedliche Korrelationen zwischen Samen und Grünmaterial, was neben der Materialauswahl auch auf unterschiedliche Probenahmezeitpunkte zurückzuführen ist. So findet Jürges (1982) zu Blühbeginn bei 18 Rapsgenotypen eine Korrelation der Alkenylgehalte von 0,76 und zur Schnittreife nach 8 Wochen bei 20 Futterrapssorten sogar eine Korrelation der Alkenylgehalte von 0,86. Hohe Korrelationen finden auch Schilling & Friedt (1991) mit 0,85 bzw. Stephani (1985) von 0,72 bis 0,85. In Übereinstimmung mit dieser Arbeit finden weder Herrmann (1992) noch Schilling (1991) eine Korrelation der Indolgehalte mit denen anderer Pflanzenteile. In Material mit 00-Qualität existiert bei Demes (1989) keine signifikante Korrelation ($r = 0,20$). Allerdings wurden dort Pflanzen im Rosettenstadium verwendet. Über ebenfalls niedrige Korrelationskoeffizienten von 0,34 zwischen Blatt- und Samen-GSL berichten Cleemput & Becker (2008). Leicht höhere Koeffizienten von 0,47 (0,39) finden Cleemput & Becker (2012) zwischen GSL im Samen- und Blatt (Stängel). Schilling & Friedt (1991) weisen darauf hin, dass die Korrelation für den GSL-Gesamtgehalt im Bereich von Samengehalten unter 20 μmol deutlich enger ist.

Neben der Beziehung zwischen Grünmasse und Samen ist auch die mittlere Zusammensetzung beider Pflanzenteile interessant. Überproportionale Anteile von PRO, GNA und 4OH im Samen wurden bei Buchner (1988), Clossais-Besnard & Larher (1991) und Bennert (1992) festgestellt. Betrachtet man die GSL-Zusammensetzung der Samen (Abbildung 3.1), so können die höheren Anteile von 4OH, PRO und GNA im Samen und verminderte Anteile an GBC, GBN und ALY im Vergleich zur Grünmasse bestätigt werden. Es wird angenommen, dass der Embryo nicht zur *de-novo* Synthese von GSL fähig ist (Bergmann 1970, Nour-Eldin & Halkier 2009). Da der GSL-Gehalt von Kreuzungen maternal determiniert wird, wird als Ort der Synthese der Samen-GSL die Schotenwand angenommen (De March *et al.* 1989, Lein 1972a, Buchner 1988, Bilsborrow *et al.* 1993). Zusätzlich wird aber auch ein Transport aus anderen Pflanzenteilen in den Sink Schote als wahrscheinlich erachtet (Clossais-Besnard & Larher 1991, Bennert 1992, Bilsborrow *et al.* 1993). Bennert (1992) zeigt weiterhin, dass die Schotenwände bis 30 Tage nach Bestäubung Alkenyl-GSL akkumulieren und bis zur Reife im Gegensatz zu den Samen jedoch kaum GSL mehr aufweisen, was ebenfalls auf Transportprozesse hindeutet. Von

Herrmann (1992) wird in Fütterungsversuchen eine Hydroxylierung von GBC bzw. dessen Vorstufen zu 4OH im Embryo nachgewiesen, jedoch kein Umbau von Alkenylen. Eine Erklärungsmöglichkeit für die Unterschiede der GSL-Zusammensetzung zwischen Samen und Grünmasse besteht in GSL-Transportern mit einer Spezifität für bestimmte Alkenyl-GSL.

(6) Wie lässt sich die zeitliche und räumliche Glucosinolatverteilung innerhalb der Pflanze erklären?

Aus physiologischer Sicht werden Mengen von Inhaltsstoffen in der pflanzlichen Zelle durch die Summe der Prozesse Neusynthese, Abbau und Transport bestimmt (Chen & Andreasson 2001). Für die Reduktion der GSL-Gehalte in seneszenten Organen, die kaum eine GSL-Neusynthese aufweisen, können entweder ein Abbau oder eine Reallokation verantwortlich sein. Über einen Abbau der GSL innerhalb der intakten Pflanze, womöglich auch durch Myrosinase-ähnliche Enzyme, ist wenig bekannt (Brown *et al.* 2003).

Mit der Entdeckung von zwei GSL spezifischen Transportern (GTR1 und GTR2) in *Arabidopsis* konnte der seit langem angenommene Langstreckentransport von aliphatischen Glucosinolaten nachgewiesen werden (Nour-Eldin *et al.* 2012). Die Doppel-Knockout-Mutante *gtr1gtr2* ist im Samen frei von GSL und zeigt eine deutliche Überakkumulation von aliphatischen GSL in Blättern und Schotenwänden. Die Ergebnisse implizieren, dass keine Neusynthese von GSL im Embryo stattfindet und GTR1 und GTR2 für den Transport der GSL in den Embryo verantwortlich sind (Nour-Eldin *et al.* 2012, Nour-Eldin & Halkier 2013). Indol-GSL werden nicht durch die beiden GTR-Transporter verlagert. Der Langstreckentransport von aliphatischen GSL im Phloem und Xylem hat damit einen entscheidenden Einfluss auf die Verteilung zwischen Organen. Es liegen Source-Sink-Beziehungen vor, die sich im Laufe der Pflanzenentwicklung ändern und damit eine Erklärung für Veränderungen der GSL-Gehalte liefern (Andersen *et al.* 2013, Andersen & Halkier 2014, Madsen *et al.* 2014).

Demnach synthetisieren in vegetativen Stadien sowohl Wurzel als auch Blätter GSL, welche bidirektional zwischen den Organen transportiert werden. Die Wurzeln sind dabei ein primärer Sink für langkettige aliphatische GSL; in den Blättern werden kurz- und langkettige aliphatische GSL akkumuliert (Andersen *et al.* 2013). Inwieweit schwefelreiche S-Zellen nahe den Gefäßbahnen eine (temporäre) Senke für GSL darstellen, ist nicht abschließend geklärt (Nour-Eldin & Halkier 2009, Koroleva *et al.* 2010, Sarsby *et al.* 2012).

Wenn die Pflanze mit dem Beginn des Schossens von der vegetativen in die generative Phase übergeht, ändern sich die primären Sinks für GSL hin zu den Blüten und später zu den Schoten und Samen (Andersen & Halkier 2014, Watanabe *et al.* 2013). Bezüglich der Herkunft der Alkenyl-GSL im Samen kann davon ausgegangen werden, dass ein Teil in der Schotenwand synthetisiert wird und ein Teil per Langstreckentransport über Phloem und Xylem aus anderen vegetativen Pflanzenteilen stammt (Chen & Andreasson 2001,

Nour-Eldin & Halkier 2009, Petersen *et al.* 2002, Lein 1972a). Die in dieser Arbeit gefundene Korrelation von 0,62 zwischen Samen und Grünmassegehalten stützt diese Hypothese. Dieser Argumentation folgend würde im Umkehrschluss eine kaum vorhandene Korrelation der Indol-GSL von 0,14 hingegen bedeuten, dass diese keinem bzw. nur einem minimalem Transport aus vegetativem Gewebe in den Samen unterliegen.

Für die samenspezifische GSL-Zusammensetzung im Vergleich zu der Grünmassezusammensetzung kann entweder ein selektiver GSL-Transport in den Embryo verantwortlich sein oder aber der Embryo ist in der Lage Modifikationen von bestimmten GSL oder GSL-Vorstufen vorzunehmen. Die Hinweise aus der Literatur sprechen für die zweite Möglichkeit: Die Ergebnisse von Hermann (1992) zeigen, dass eine Hydroxylierung von Indol-GSL im Rapsembryo stattfindet. Von Kliebenstein *et al.* (2007) wird in *Arabidopsis* ein Kandidatengen für die samenspezifische Akkumulation von Benzoyloxy-GSL gefunden. Auch Nour-Eldin & Halkier (2009) kommen aufgrund von Genexpressionsdaten in *Arabidopsis* zu dem Schluss, dass Gene für die GSL-Neusynthese im Embryo nicht funktional sind, wohl aber diejenigen für sekundäre Modifikationen.

Die erwähnte Verschiebung von Source-Sink-Beziehungen könnte ein physiologischer Grund für die Befunde aus vielen Studien sein, dass vegetative Pflanzenteile mit geringem physiologischem Alter höhere konstitutive Gehalte an Sekundärmetaboliten enthalten als senescente und dass generative Teile häufig höhere Gehalte aufweisen als vegetative (Brown *et al.* 2003, van Dam *et al.* 1996, Ohnmeiss & Baldwin 2000, McCall & Fordyce 2010, Strauss *et al.* 2004, Porter *et al.* 1991, Petersen *et al.* 2002).

Eine Erklärung für diese häufig beobachtete Verteilung von GSL innerhalb von Pflanzen versucht die „Optimal Defence Theory“ (ODT) aufgrund der unterstellten Funktion von GSL in der Abwehr der Pflanze zu geben. Sie ist eine von mehreren Hypothesen aus dem Feld der „Theorie der Pflanzenabwehr“, deren Ziel es ist die phänotypische, genetische und geographische Variation von pflanzlichen Abwehrmechanismen zu erklären und vorherzusagen (Stamp 2003).

Die ODT nach McKey (1974) zieht drei Hauptfaktoren in Betracht: 1) Das Risiko bzw. Wahrscheinlichkeit mit der eine Pflanze oder bestimmte Pflanzenteile angegriffen werden, 2) die Wichtigkeit eines Pflanzenteils für die Fitness bzw. Reproduktion der Pflanze und 3) die Kosten eines Abwehrmechanismus im Sinne von Nährstoffen und Energie, die nicht für das Pflanzenwachstum zur Verfügung stehen. Demnach ist die Vorhersage der Hypothese, dass Pflanzenorgane mit niedrigem Befallsrisiko und geringer Wichtigkeit für die Vervollendung der Pflanzenentwicklung auch niedrige Gehalte an konstitutiven Abwehrstoffen enthalten, deren Synthese jedoch gut induziert werden kann. Umgekehrt sollten „wertvolle“ Organe, mit hohem Risiko geschädigt zu werden, ein hohes Niveau an konstitutiven Abwehrstoffen aufweisen (Zangerl & Bazzaz 1992).

Experimentell konnten Lambdon *et al.* (2003) zum Beispiel bestätigen, dass zum einen ältere Blätter von Tauben und Schnecken häufiger befressen wurden als jüngere und

dass zum anderen das Verhältnis von GSL zu Stickstoff in jüngeren Blättern im Maximum war. Es sei allerdings angemerkt, dass die Rolle der GSL in der Schädlingsabwehr eine vieldiskutierte und offene Frage ist, da hohe Gehalte an konstitutiven Inhaltsstoffen nicht nur eine Schutzfunktion gegenüber Wirtsgeneralisten ausüben können, sondern auch angepasste Wirtsspezialisten anziehen können (Ahuja *et al.* 2010).

Wenn man davon ausgeht, dass die Synthese von Abwehrsubstanzen für die Pflanze mit Kosten in Form von Energie und Nährstoffen verbunden ist, erscheint eine Umverteilung zwischen Organen im Zeitverlauf aus Sicht der Pflanze effizient, da Kosten für Neusynthese vermieden und durch den Transport eine optimale Verteilung in der Pflanze sichergestellt werden kann. Unterstützt wird die „Kostenannahme“ der ODT von Bekaert *et al.* (2012), die in einem Modell bei Arabidopsis errechnen, dass für das Vorhalten der Glucosinolatabwehr eine um 15 % erhöhte Photosyntheseleistung benötigt wird. Auch experimentell konnte gezeigt werden, dass die GSL-Synthese Kosten verursacht, da verschiedene GSL-Knock-Out Mutanten höhere standardisierte Wachstumsraten aufwiesen als Wildtypen (Züst *et al.* 2011).

Zusammengefasst lassen der Nachweis eines GSL-Transportmechanismus und die Verschiebung von Source-Sink-Beziehungen im Zeitverlauf die in dieser Arbeit gefundenen Ergebnisse zur Variation der GSL-Gehalte innerhalb der Rapspflanze und während der Pflanzenentwicklung plausibel erscheinen. In Verbindung mit der dargestellten Literatur sind folgenden Hypothesen als Erklärung der Ergebnisse denkbar:

- (1) Zum ersten GSL-Probenahmetermin im Längenwachstum stellen der obere Teil des Hauptsprosses und die ihn umgebenden Blätter (die beprobt wurden) einen primären Sink dar. Es finden sich hohe Gehalte, weil die Sproßspitze der Pflanzenteil ist, der später für die Reproduktion benötigt wird und daher einen hohen Wert für die Fitness der Pflanze innehat.
- (2) Zum zweiten Probenahmetermin bei Blühbeginn werden niedrigere Gehalte in der Grünmasse gefunden als zum ersten Termin, weil Sproß und Blätter ein höheres physiologisches Alter aufweisen und einen niedrigeren Stellenwert für die Fitness der Pflanze besitzen. Sie stellen nun eine Quelle für den primären Senke, die Knospen bzw. später die Blüten dar.
- (3) Diese ist das Organ, welches nun maximalen Schutz durch GSL gegenüber Fraßfeinden benötigt. Dementsprechend lassen sich hohe Gehalte der Knospen bzw. der Blüte teils durch die Reallokation von GSL aus vegetativen Geweben per Langstreckentransport und teils durch Neusynthese erklären.
- (4) Nach der Bestäubung bilden zunächst die jungen Schoten und später Embryonen die wichtigste Senke für GSL.
- (5) Im Zuge der zunehmenden Seneszenz der Pflanze werden GSL aus älteren Geweben in die Samen (hoher Fitnesswert) verlagert. Da in abgeworfenen Blättern kaum nennenswerte Gehalte an GSL gefunden werden, sind diese

bereits vor dem Blattabwurf umgelagert worden, um einen Verlust mit Hinblick auf investierte Nährstoffe und Energie zu minimieren.

- (6) Mit dem Absterben der Pflanze und der Samenreife besitzen die Samen als Überdauerungsorgane die höchsten GSL-Gehalte. Die Samen-GSL stammen zum Teil aus den vegetativen Pflanzenteilen und sind in die Schote transportiert worden. Der andere Teil ist in den Schotenwänden synthetisiert worden.
- (7) Die GSL-Zusammensetzung im Samen wird durch sekundäre Modifikationen von GSL im Embryo erreicht. Der Embryo ist nicht zur Neusynthese von GSL fähig.

Die Identifizierung erster GSL-Transporter ist ein Puzzleteil im Verständnis der Interaktionen zwischen Pflanzen und ihrer Umwelt. Obwohl das GSL-Myrosinase System ein in *Arabidopsis* gut untersuchtes Modellsystem ist, dessen Gene und Transkriptionsfaktoren der Biosynthese weitgehend bekannt sind (Grubb & Abel 2006, Kliebenstein 2009, Schweizer *et al.* 2013, Frerigmann & Gigolashvili 2014), zeigt das Beispiel der innerpflanzlichen und temporalen GSL-Variation, dass die Regulation des GSL-Stoffwechsels auf höheren Ebenen durch ein komplexes, dynamisches Netzwerk in der Pflanze gesteuert wird (Kliebenstein 2014a, Yan & Chen 2007). In diesem ist der Sekundärstoffwechsel der GSL durch Querverbindungen mit dem Primärstoffwechsel von Stickstoff und Schwefel (Sonderby *et al.* 2010a, Yatusевич *et al.* 2010), mit durch abiotischen oder biotischen Stress ausgelösten Signalkaskaden (Steinbrenner *et al.* 2012, del Carmen Martínez-Ballesta *et al.* 2013) und endogenen Prozessen der Pflanzenentwicklung, wie der Seneszenz, verknüpft (Watanabe *et al.* 2013). Erste Erkenntnisse über das Zusammenspiel solcher regulatorischer Netzwerke zeigen, dass ein umfassendes Verständnis über die Reaktion der Pflanze auf Umwelteinflüsse oder Schädlingsbefall trotz wichtiger wissenschaftlicher Fortschritte noch in weiter Ferne liegt (Kliebenstein 2014a).

4.2 Zusammenhang zwischen Befall mit Rapsstängelschädlingen und Glucosinolatgehalten und -mustern

Wirtspflanzenresistenzen gegenüber Schadinsekten können auf zwei Mechanismen beruhen: Antixenosis oder Antibiosis (Schoonhoven *et al.* 2005). Antixenosis oder auch Nicht-Präferenz bezeichnet dabei die Eigenschaften resistenter Genotypen, für Schadinsekten kein attraktiver Wirt zu sein, indem eine negative Reaktion beim Schadorganismus hervorgerufen wird und sie damit nicht als Niederlassungsort, Nahrungsquelle oder Eiablageort präferiert werden. Antibiose hingegen beschreibt den negativen Einfluss von Pflanzeigenschaften auf die Physiologie von Insekten oder ihren Nachkommen, die sich in verminderter Fruchtbarkeit, verzögertem Wachstum oder kürzerer Lebensdauer äußert. Resistenzen können allgemein durch morphologische Eigenschaften oder Pflanzeninhaltsstoffe vermittelt werden (Schoonhoven *et al.* 2005). Von den sekundären Pflanzeninhaltsstoffen ist bekannt, dass sie einen Einfluss auf die Wirtspflanzenattraktivität und -qualität haben können (Mithen 1992, Bennet & Wallgrove 1994, Giamoustaris & Mithen 1995, Hopkins *et al.* 2009, Bruce 2014).

Da Glucosinolate (GSL) ein Charakteristikum der Kreuzblütler sind und die Funktion des GSL-Myrosinase System als konstitutiver Abwehrmechanismus gegenüber Wirtsgenera- listen gesehen wird (Bones & Rossiter 1996), liegt es nahe zu vermuten, dass GSL oder ihre Abbauprodukte einen Einflussfaktor auf das Verhalten spezialisierter Insekten bei der Wirtspflanzenwahl, bei der Eiablage oder beim Fraß haben können. Diese Vermu- tung wird durch zahlreiche Untersuchungen gestützt, welche eine Fülle an Literatur ge- neriert haben und beispielsweise von Hopkins *et al.* (2009) oder Björkman *et al.* (2011) zusammengefasst wurden.

Das Verhalten von spezialisierten Insekten bei der Wirtspflanzenwahl kann in drei Hauptschritte unterteilt werden: 1) Suche, 2) Kontaktevaluation und 3) Akzeptanz (Schoonhoven *et al.* 2005). Es stellt sich die Frage, in welcher dieser Phasen GSL eine Rolle für Insekten spielen können. Während das Insekt in der Phase der Suche nach ge- eigneten Wirtspflanzen über einen gewissen Abstand zu dieser hauptsächlich durch vi- suelle und olfaktorische Reize beeinflusst wird (Bruce *et al.* 2005), spielen in der Phase der Wirtsevaluation und –akzeptanz auf der Pflanze sensorische, gustatorische und ol- faktorische Reize eine Hauptrolle (Schoonhoven *et al.* 2005).

In der Phase der Wirtspflanzensuche können GSL also nur über volatile Abbauprodukte insbesondere Isothiocyanate einen olfaktorischen Reiz für das Insekt darstellen (Halkier & Gershenzon 2006, Blight & Smart 1999). Dass vielmehr die Abbauprodukte der GSL anstatt der Ausgangs-GSL die aktiven biologischen Verbindungen sind, ist sehr wahr- scheinlich (Agrawal & Kurashige 2003, Renwick 2002, Renwick *et al.* 2006, Bartlet *et al.* 1993, Agerbirk *et al.* 2009). Da GSL in der Pflanze aber im intakten Gewebe in der Va- kuole vorliegen und nicht ohne Myrosinase zu volatilen Stoffen abgebaut werden kön- nen (Kissen *et al.* 2009), müsste die Pflanze entweder beschädigt werden oder die GSL durch einen unbekannten Abbauprozess im intakten Gewebe umgesetzt werden, damit volatile GSL-Abbauprodukte durch die Pflanze abgegeben werden können. In diesem Fall können die Abbauprodukte der GSL entweder das Schadinsekt als „Attractant“ in Richtung der Pflanze anziehen oder als „Repellent“ von der Pflanze abschrecken (Schoonhoven *et al.* 2005, Hopkins *et al.* 2009).

Befindet sich das Insekt auf der Pflanze können in der Phase der Kontaktevaluation so- wohl die intakten GSL als auch deren Abbauprodukte gustatorische oder olfaktorische Reize darstellen. Beispielsweise kann durch einen Probeanstich des Gewebes oder einen Reifungsfraß eine Umsetzung der GSL durch Myrosinase erfolgen. Demnach können GSL oder deren Hydrolyseprodukte als „Stimulans“ Fraß oder Eiablage fördern oder als „De- terrent“ hemmen (Schoonhoven *et al.* 2005, Hopkins *et al.* 2009). Ob intakte GSL auf der Blattoberfläche des Raps vorkommen ist nicht abschließend geklärt (Städler & Reifen- rath 2009, Badenes-Perez *et al.* 2011).

- (1) Kann zwischen Genotypen eine Differenzierung im Befall mit Stängelschädlingen festgestellt werden?

Als ersten Schritt galt es zu klären, ob eine genetisch bedingte Variation für die Anfälligkeit gegenüber den Stängelrüsslern innerhalb des vorhandenen Materialsatzes besteht. Die hier untersuchten Genotypen wurden dazu über die Wirtspflanzen- und Eiablagepräferenz der Schädlinge anhand der Merkmale „Larven pro Pflanze“ und „Anteil Stängelfraß“ phänotypisiert.

In den Freilandversuchen hat sich gezeigt, dass der Befallsdruck durch Rapsstängelrüssler (RSR) und Kohltriebrüssler (KTR) im Mittel auf einem niedrigen Niveau unter 3 Larven pro Pflanze lag (Kapitel 3.2.1). Für den RSR wurden nur am Standort Weende in den Jahren 2012 und 2013 signifikante genotypische Unterschiede für die Merkmale RSR-Larven pro Pflanze (RSR-LPP) und Stem-Injury-Coefficient (STIC) festgestellt. Die Übereinstimmung dieser zwei Merkmale zwischen den Jahren 2012 und 2013 am Standort Weende war gering (RSR-Larven 0,15 und STIC 0,37), was auf hohe Genotyp-Jahr Interaktionen für die beiden Befallsmerkmale schließen lässt. Für die Anzahl KTR-Larven pro Pflanze (KTR-LPP) gab es in keiner Umwelt eine signifikante Differenzierung der Genotypen. Während der durchschnittliche Befall in einigen Umwelten gleichbleibend niedrig war, wie zum Beispiel in Einbeck, wies der Standort Weende einen höheren mittleren Befall auf. Dies zeigt, dass der je nach Jahr und Standort schwankende Befall in einem Großteil der Umwelten nicht ausreichend war, um eine Differenzierung zwischen den Genotypen zu verursachen. Andererseits ist es möglich, dass der Befallsdruck zu hoch ist und alle Genotypen gleichmäßig stark befallen werden. Für den KTR-Befall könnte das der Fall in der Umwelt ‚Peine 2013‘ gewesen sein, in dem es ein hohes Befallsniveau vorlag, aber dennoch keine statistische signifikante Differenzierung möglich war. In dem Boxplot (Abbildung 3.10) ist zu erkennen, dass die genotypische Spannweite der mittleren Anzahl Larven pro Pflanze in dieser Umwelt von 6 bis 21 Larven sehr groß war und es eine deutliche Differenzierung der Genotypen gab, diese jedoch nicht statistisch signifikant war. Es ist wahrscheinlich, dass ein hoher Versuchsfehler bei nur zwei Wiederholungen die Ursache für die fehlende Signifikanz ist.

Insgesamt bleibt über die Versuchsanstellung im Freiland festzuhalten, dass sich die Bonitur des Rüsslerbefalls schwierig gestaltete. Auch im Hinblick auf die zeitaufwändige Bonitur des Larvenbefalls sollten für zukünftige Versuchsfragestellungen die Versuchstandorte sorgfältig ausgewählt werden. Bevorzugt werden sollten wenige Orte mit vorab bekanntem, hohem Befallsdruck, welche dann auch mit einer höheren Anzahl an Wiederholungen angelegt werden können. Für kleinere Prüfumfänge können auch Versuche im Halbfreiland eine Alternative sein, bei denen die Schaderregerdichte kontrolliert werden kann (vgl. Kapitel 2 bei Schäfer-Kösterke 2015).

Ein weiteres Problem, welches in Kapitel 4.1 bereits angesprochen wurde, ist das Vorhandensein von Unterschieden in der Pflanzenentwicklung zwischen Genotypen zu einem bestimmten Zeitpunkt. Die gleichzeitige Variation in vielen verschiedenen Merkmalen kann die Wirtspflanzenwahl oder Eiablagepräferenz der Stängelrüssler beeinflussen. So berichtet Büchi (1996), dass es eine Präferenz der RSR-Weibchen für die

Eiablage in Abhängigkeit von der Stängellänge gibt und Pflanzen kleiner als 22 cm bevorzugt belegt werden. Eine negative Korrelation zwischen der Anzahl abgelegter Eier pro Pflanze und der Länge des Haupttriebes konnte von Schäfer-Kösterke (2015) bestätigt werden. So ist es möglich, dass Pflanzen über 22 cm oder allgemein frühe Genotypen sich dem Befall der Schädlinge entziehen und nicht mehr mit Eiern belegt werden. Dieser „Frühzeitigkeitseffekt“ kann aber züchterisch nicht genutzt werden, weil er keine genetische Resistenz darstellt (Schoonhoven *et al.* 2005).

(2) Bestehen lineare Zusammenhänge zwischen Gehalten an einzelnen Glucosinolaten oder Gruppen von Glucosinolaten und den erfassten Befallsmerkmalen?

In Kapitel 3.2.2 wurde versucht mit Korrelationen zwischen Merkmalen, die den Befall abbilden und Gehalten von einzelnen GSL oder Gruppen von GSL zu einem bestimmten Zeitpunkt ein Zusammenhang herzustellen. Untersuchungen zur Beziehung zwischen GSL und RSR-Befall sind bis dato nicht bekannt. Für den KTR existiert eine Studie in der auch der GSL-Gehalt als Faktor in Betracht gezogen wird (Eickermann 2008, Eickermann *et al.* 2011).

In dem hier untersuchten Material wurden weder signifikante Korrelationen zwischen der Anzahl RSR-Larven pro Pflanze (RSR-LPP) noch zwischen dem Stem-Injury-Coefficient (STIC) und Gehalten an einzelnen GSL oder Gruppen von GSL gefunden. Ferner ließen sich keine eindeutigen Tendenzen der Korrelationskoeffizienten hin zu positiven oder negativen Beziehungen ableiten. Für die Anzahl KTR-Larven pro Pflanze (KTR-LPP) bestand keine signifikante genotypische Variation, sodass keine aussagefähigen Korrelationen zu erwarten waren. Die bei Eickermann *et al.* (2011) festgestellten positiven Korrelationen des STIC von KTR-Larven mit den Blattgehalten an NAS, GBC und 4ME und die negative Korrelation zwischen 4OH konnten nicht bestätigt werden. Positive Korrelationen bedeuten für den Larvenfraß im Stängel eine Fraßstimulierung, für negative Korrelationen eine Fraßhemmung.

Die Ergebnisse der Korrelationsanalysen lassen folgende Schlussfolgerungen zu:

- 1) Es besteht kein eindeutiger linearer Zusammenhang zwischen GSL-Gehalten und der Wirtspflanzenattraktivität oder Eiablagepräferenz der beiden Stängelrüssler und andere morphologische oder chemische Faktoren sind ausschlaggebend für das Verhalten der Insekten.
- 2) Die Art und Weise der Versuchsanstellung war nicht in der Lage einen möglicherweise bestehenden Zusammenhang aufzudecken.

Bezüglich der Versuchsanstellung ist zunächst kritisch anzumerken, dass nur zwei Umwelten ausgewertet wurden, in denen es abgesicherte Unterschiede für die Befallsmerkmale RSR-LPP und STIC zwischen den Genotypen gab. Die Übereinstimmung der Genotypenrangierung zwischen den beiden Jahren war für beide Merkmale niedrig, sodass hohe Genotyp-Jahr Wechselwirkungen bestanden. Die niedrige Anzahl der Genotypen mit 23 in 2012 bzw. 26 in 2013 lässt generelle Aussagen nicht zu, sodass die

Ergebnisse nur für die untersuchten Genotypen gelten und in anderen Materialsätzen andere Zusammenhänge gelten können.

Weiter stellt sich die Frage, ob das Merkmal ‚Anzahl Larven pro Pflanze‘ die Wirtspflanzenattraktivität bzw. Eiablagepräferenz der Schädlinge korrekt abbildet. Denn die Zeitspanne zwischen Auswahl der Wirtspflanze und Akzeptanz zur Eiablage durch die Schädlinge (ab März) und der durchgeführten Larvenbonitur in den Stängeln (Mai) ist vergleichsweise groß. Die Ei- und Larvenmortalität oder auch die Parasitierung der Larven durch Nützlinge könnten zu einer Diskrepanz zwischen Anzahl abgelegter Eier und Anzahl Larven im Stängel zu einem späteren Zeitpunkt geführt haben und damit die durch ‚Anzahl Larven pro Pflanze‘ beabsichtigte Erfassung der Eiablagepräferenz des Schädlings verzerrt haben. Die Larvenmortalität kann Aufschluss darüber geben, ob Genotypen bereits durch Reaktionen wie die beim Stängelrüssler beobachtete Gallbildung einen unterschiedlichen antibiotischen Effekt auf den Schädlingsbefall zeigen. In diesem Zusammenhang findet Schäfer-Kösterke (2015) zwar Unterschiede in dem Verhältnis aus Larven zu abgelegten Eiern zwischen acht Genotypen, die sich aber nicht statistisch absichern ließen. Bezüglich der Parasitierung findet Eickermann (2008) Parasitierungsraten für RSR zwischen 11 % und 15 %, sowie für KTR zwischen 17 % und 28 %. Weiter stellt der Autor in mehreren Jahren signifikante genotypische Unterschiede der Parasitierungsraten für beide Schädlinge fest. Dies würde bedeuten, dass genetisch bedingte Unterschiede in der Anfälligkeit von Genotypen (‚Larven pro Pflanze‘) durch den Faktor Parasitierung verfälscht sind. Auf Genotypen, die bereits zur Eiablage nur mit einer niedrigen Anzahl an Eiern belegt worden sind, dürfte der Einfluss jedoch gering sein, sodass diese weiterhin identifiziert werden können.

Das Beispiel der Larvenmortalität zeigt auch, dass nicht eindeutig differenziert werden kann, welcher Resistenzmechanismus für Unterschiede in der ‚Anzahl Larven pro Pflanze‘ verantwortlich ist. Das Merkmal ‚abgelegte Eier pro Pflanze‘ stellt eine Präferenz dar und ist damit dem Resistenzmechanismus Antixenosis zuzuschreiben, während eine von der Pflanze ausgehende Reaktion auf die Larvenentwicklung, wie Larvenmortalität dem Resistenzmechanismus der Antibiosis entspricht. Da in dem erfassten Merkmal ‚Anzahl Larven pro Pflanze‘ beiden Prozesse miterfasst werden, ist eine Differenzierung schwierig.

Das Beispiel der Larvenparasitierung veranschaulicht, dass die ‚Anzahl Larven pro Pflanze‘ neben der Interaktion Schädling-Pflanze auch durch Insekten-Insekten Interaktionen beeinflusst worden sein kann. Eine solche Interaktion beschreiben auch Dechert & Ulber (2004), die feststellen, dass KTR-Weibchen solche Pflanzen zur Oviposition bevorzugen, die bereits mit Eiern oder Larven des RSR belegt sind. Dies würde für genotypische Unterschiede der KTR-LPP bedeuten, dass diese durch die Wirtspräferenz der RSR-Weibchen verzerrt sind.

Ähnlich wie der beschriebene „Priming“ Effekt auf KTR-Weibchen durch die vorherige Belegung mit RSR ist es denkbar, dass eine Pflanzenschädigung durch Generalisten oder ein vorheriger Befall anderer spezialisierter Schädlinge die Wirtspflanzenpräferenz von RSR-Weibchen beeinflussen könnte. Denn auch die Pflanze kann beispielsweise durch Oviposition oder Fraß mit der Aktivierung von Signalkaskaden zur Induktion von Abwehrmechanismen auf einen Befall reagieren (Hilker & Meiners 2006, Verhage *et al.* 2010, Textor & Gershenzon 2009). Zum Beispiel kann in der Pflanze eine Induktion der GSL-Synthese oder anderer Substanzen erfolgen (Koritsas *et al.* 1991, Mewis *et al.* 2005, Kim & Jander 2007). Diese induzierten Verbindungen können entweder einen direkten Schutz gegen Schaderreger bieten oder aber indirekt durch Anlockung von Prädatoren oder Parasitoiden zur Abwehr der Pflanze beitragen (Kos *et al.* 2012, Jönsson *et al.* 2005, Howe & Jander 2008, Gols & Harvey 2009). Das Bild der Interaktionen verkompliziert sich weiter, wenn man in die Möglichkeit Betracht zieht, dass auch Pflanzen einer Art bestimmte Signalverbindungen empfangen und entsenden können. Sogenannte „Green leafy volatiles“ sind in der Lage bei benachbarten, nicht befallenen Pflanzen der gleichen Art die Synthese von Jasmonsäure und bestimmten Terpenen zu induzieren und sie so auf einen bevorstehenden Befall vorzubereiten (Engelberth *et al.* 2004). Diese Beispiele verdeutlichen, dass nicht nur die genotypischen Unterschiede für einen Befall wichtig sind, sondern auch die komplexen Interaktionen zwischen Schädlingen, Pflanzen und Nützlingen.

Ein weiterer Grund für eine nicht aufgedeckte Korrelation zwischen GSL und RSR-Befall könnte mit dem Zeitpunkt der GSL-Bestimmung zusammenhängen. Die Pflanzenproben wurden mit dem Einsetzen des RSR-Zufluges entnommen und dadurch versucht sicherzustellen, dass ein enger zeitlicher Bezug zwischen GSL-Bestimmung und dem Zeitpunkt der Wirtspflanzenwahl bzw. -akzeptanz durch die Schädlinge besteht. Es ist denkbar, dass der Zeitpunkt der GSL-Probenahme nicht für die Wirtswahl der Schädlinge repräsentativ war. Dagegen sprechen jedoch die Ergebnisse der Eizahlbestimmung im Zeitverlauf aus dem gleichen Versuch, welche belegen, dass 2013 am Standort Weende bereits ab dem 22. April Eier in den Stängeln zu finden waren (vgl. Kapitel 3 bei Schäfer-Kösterke 2015). Die Pflanzenproben zur GSL-Analyse wurden an dem Standort am 17. April entnommen (Tabelle 2.3), sodass eine enge zeitliche Koinzidenz gegeben war.

Einen anderer wichtiger Punkt mit Hinblick auf das Bezugssystem der GSL-Gehalte wird bei Milford *et al.* (1989) diskutiert. Die Autoren hinterfragen, ob es für Fragestellungen deren Fokus auf der Untersuchung der Beziehung zwischen Insekten- oder Pilzbefall mit GSL liegt, ideal ist die GSL-Gehalte wie üblich in $\mu\text{mol pro g TM}$ auszudrücken. Sie argumentieren, dass Konzentrationen bezogen auf eine Einheit Gewebewasser anstatt auf TM die physiologischen Gegebenheiten in der Zelle, welche für Schadorganismen relevant sind, besser abbilden. Vor dem Hintergrund von heterogenen Verteilungen der GSL-Gehalte innerhalb von Pflanzenorganen (Shroff *et al.* 2008, Madsen *et al.* 2014) verdeutlicht dieser Punkt, dass die aus einer vergleichsweise großen Masse an Pflanzenmaterial (um eine repräsentative Probe zu erhalten) ermittelten GSL-Gehalte, möglicherweise

nicht die Gehalte in dem Bereich der Pflanze widerspiegeln, in dem die Stängelschädlinge aktiv sind. Kurzum müssen die Gehalte aus einer Mischprobe nicht die physiologisch für den Schädling relevanten Gehalte abbilden, sodass auch keine Korrelation zwischen den Merkmalen erwartet werden kann. Beispielweise sind für die Eiablage von KTR-Weibchen und ersten Larvenstadien hauptsächlich die Blattstiele der exakte Ort der Aktivität (Günthart 1949). In *Arabidopsis* wurde gezeigt, dass Petiolen und Mittelrippen von Blättern höhere GSL-Gehalte aufweisen als der Blattrand (Madsen *et al.* 2014) und das Muster der GSL-Verteilung entgegengesetzt dem Fraßmuster von Baumwollulenlarven war (Shroff *et al.* 2008). Auch die GSL-reichen S-Zellen in *Arabidopsis* haben eine bestimmte Verteilung und sind außerhalb der Phloems angeordnet (Koroleva *et al.* 2000, 2010).

Von mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass Isothiocyanate die biologisch aktiven Verbindungen sind, die das Schädlingsverhalten beeinflussen (Evans & Allen-Williams 1998, Renwick *et al.* 2006, Moyes & Raybould 2001). Dieses Ergebnis impliziert, dass nicht nur die Gehalte und Zusammensetzungen an intakten GSL, sondern auch die Verteilung und Aktivität aller am GSL-Myrosinase System beteiligten Faktoren einen Einfluss auf die GSL-Abbauprodukte als Endergebnis haben. Zu diesen Faktoren zählen neben den verschiedenen Isoenzymen der Myrosinase auch Specifier Proteine (Wittstock & Burow 2007). Die Expression der Myrosinasen im Raps unterliegt einer Variation zwischen Pflanzenteilen und Entwicklungsstadien (Falk *et al.* 1992). Li *et al.* (2000) bestätigen ihrer Studie, dass zwischen DH-Linen von *B. juncea* Unterschiede in der Myrosinaseaktivität bestehen. Weiter können sie zeigen, dass die mit der unterschiedlichen Myrosinaseaktivität verbundenen Freisetzungsraten von GSL-Abbauprodukten einen Einfluss auf das Verhalten von Kohlmotten als Wirtsspezialisten haben. In einem Freilandversuch mit Erdflöhen zeigte sich ein um 10 % verminderter Fraß zwischen Rübsengenotypen mit hoher und niedriger Myrosinaseaktivität (Siemens & Mitchell-Olds 1996).

Ein weiterer Ansatz zur Untersuchung der Bedeutung der Myrosinase stellt der sogenannte ‚MINELESS‘ Raps dar, bei dem ein transgen eingebrachtes Konstrukt mit einer Ribonuclease das kontrollierte Absterben der Myrosinzellen zur Folge hat (Borgen *et al.* 2010). In MINELESS Pflanzen ist die Myrosinaseaktivität stark vermindert und GSL-Hydrolyseprodukte sind in deutlich reduzierten Mengen vorhanden, aber nicht komplett verschwunden (Borgen *et al.* 2010, Ahuja *et al.* 2011). In einem Experiment mit Kohlblattläusen als Wirtsspezialisten und Pfirsichblattläusen als Generalisten konnte gezeigt werden, dass die Reduktion der Myrosinaseaktivität in den MINELESS Pflanzen gegenüber der Kontrolle und der damit verbundenen Reduktion an Isothiocyanaten die Anfälligkeit gegenüber den Schädlingen veränderte. Kohlblattläuse bevorzugten weiterhin die Kontrolle, weil höhere Gehalte an Isothiocyanaten auf sie attrahierend wirkten. Pfirsichblattläuse hingegen änderten ihre Präferenz und zogen MINELESS Pflanzen vor, da diese niedrigere Gehalte an Isothiocyanaten enthielten, welche einen Repellent darstel-

len (Borgen *et al.* 2012). Eine weitere Auswirkung der Reduktion von GSL-Abbauprodukten in den MINELESS Pflanzen könnte eine verminderte Attraktion von Blattlausparasitoiden sein, da diese Isothiocyanate als Botenstoff wahrnehmen können (Pope *et al.* 2008).

Die genannten Beispiele illustrieren die Wichtigkeit der GSL-Abbauprodukte in der Wirtsfindung und –akzeptanz. Möglicherweise ist die Variation der GSL-Gehalte weniger wichtig und der Einfluss der Myrosinaseaktivität bzw. weiterer Faktoren des GSL-Abbaus auf die Pflanze-Schädling Interaktion könnte ein Ansatzpunkt weiterführender Arbeiten sein.

(3) Zeichnen sich stärker oder weniger stark befallene Genotypen durch bestimmte Glucosinolatmuster aus?

Beim Versuch Beziehungen zwischen GSL und Insektenbefall herzustellen, wie hier am Beispiel der Stängelrüssler, ist im Voraus unklar, ob die quantitativen Gesamtgehalte, die Gehalte einzelner GSL-Gruppen oder einzelner GSL oder aber die relative Zusammensetzung, also ein GSL-Muster von Kombinationen mehrerer GSL oder das Gesamtmuster aller GSL ausschlaggebend sind. Die Fülle an Literatur zeigt, dass die GSL-Pflanze Beziehungen je nach Insektenart und Pflanzenart unterschiedlich sind und aufgrund ihrer Komplexität nicht generalisierbar sind (Björkman *et al.* 2011, Hopkins *et al.* 2009). Schließt man neben den Ausgangs-GSL auch die Variation der GSL-Abbauprodukte mit ein (Agerbirk & Olsen 2012, Bones & Rossiter 2006), die ein „Gemisch von Abbauprodukten“ bilden, kommt eine weitere Ebene hinzu auf der GSL wirken können.

Um zu überprüfen, inwieweit die qualitative oder quantitative Zusammensetzung der Genotypen für den RSR-Befall wichtig ist, wurden Gruppen von hoch und niedrig befallenen Genotypen gebildet und deren GSL-Profile und Gehalte verglichen (Kapitel 3.2.3). Für den RSR-Befall zeigte die Gruppe der höher befallenen Genotypen gegenüber der Gruppe der weniger befallenen Genotypen einen höheren GSL-Gesamtgehalt an Termin 1, der durch höhere Alkenyl-Gehalte bedingt war (Abbildung 3.16). Wenn ein höherer Befall tatsächlich mit höheren Alkenyl- oder Gesamtgehalten einherginge, müsste sich das auch in der entsprechenden Korrelation zeigen, was nicht der Fall war. Zudem hatte der am höchsten befallene Genotyp Mendel geringere Gesamtgehalte als das Mittel und lag auf dem Niveau der Niedrigbefallsgruppe. Am zweiten GSL-Probenahmetermin gab es für den STIC zwischen hoch und niedrig befressener Gruppe nur geringfügige Unterschiede in Gesamtgehalten. Auch bezüglich der GSL-Zusammensetzungen zeigten sich für den RSR-Befall und Anteil Minierfraß zwischen Hoch- und Niedriggruppe nur minimale Unterschiede. Es sei angemerkt, dass für die Darstellungen der RSR-Befall über die zwei ausgewerteten Jahre gemittelt wurde, aber die Rangierung der Genotypen zwischen den Jahren nicht gut übereinstimmte ($r = 0,15$). Dadurch war die Auswahl der Genotypen für die Bildung der Befallsgruppen (Niedrig/Mittel/Hoch) problematisch und ist

für die Ergebnisse als kritisch anzusehen: Um klare Unterschiede in der RSR-Larvenanzahl zwischen der Hoch- und Niedriggruppe zu erhalten, wurden innerhalb der beiden Gruppen nur jeweils vier Genotypen selektiert. Die mit diesen Genotypen gemittelten GSL-Profile können also durch die nicht repräsentative Auswahl auch Zufallseffekte darstellen.

Zusätzlich zu den Vergleichen der GSL-Profile wurden Hauptkomponentenanalysen der GSL-Zusammensetzungen als multivariate Methode durchgeführt, um zu überprüfen, ob sich Gruppierungen zwischen hoch und niedrig befallenen Genotypen mit bestimmten GSL zeigten (Kapitel 3.2.4). Weder für den Befall mit RSR noch für den STIC konnten Gruppen von Genotypen festgestellt werden, die niedrig oder hoch befallen waren und mit einzelnen GSL zusammenhingen.

Die in beiden Jahren niedrig befallene Resynthese S30 zeigte keine Besonderheiten in ihrem GSL-Profil, auch nicht in der Verrechnung über alle vorhandenen Umwelten (Kapitel 3.1.8). Wie eingangs erwähnt besteht das grundsätzliche Problem, ob einzelne GSL, Kombinationen einzelner GSL oder die Zusammensetzung aller GSL für eine Reizauslösung beim Insekt wichtig sind. Damit stellt sich die Frage wie wahrscheinlich es ist, dass spezifische GSL die alleinigen, exklusiven Wirtsreize für Insekten darstellen (Hopkins *et al.* 2009). Für die Akzeptanz bzw. Oviposition auf einer Wirtspflanze erscheint es möglich, dass einzelne GSL spezifisch einen Reiz stimulieren können, um den potentiellen Wirt als tatsächliche taugliche Wirtspflanze zu erkennen. Dass allerdings in der Phase der Wirtspflanzenlokalisation die An- oder Abwesenheit einzelner, artspezifischer volatiler Verbindungen eine Attraktion zu Pflanzen bewirken, dürfte laut Bruce *et al.* (2005) für die meisten Insekten-Pflanze Interaktionen eher eine Ausnahme sein. Dennoch sind bei Kreuzblütlern Beispiele wie Kohlschotenrüssler (Blight *et al.* 1995), Kohlmotte (Han *et al.* 2001, Renwick *et al.* 2006) oder Kohlblattlaus (Nottingham *et al.* 1991) bekannt, bei denen insbesondere Isothiocyanate als Kairomone fungieren. Diese Wirtsreize müssen aber nicht zwangsläufig exklusiv sein: Für den Meerrettichblattfloh sind sowohl Flavonoidglucoside als auch GSL Schlüsselreize und stimulieren in Kombination synergistisch den Fraß (Nielsen 1979). Bei der kleinen Kohlfliege wurde eine nicht-GSL Verbindung gefunden, die selbst in sehr niedrigen Konzentrationen noch die Oviposition besser stimulierte als das GSL Glucobrassicin (Roessingh *et al.* 1997, Marazzi *et al.* 2004). Van Loon *et al.* (2002) finden Flavonoide und GSL als Fraßstimulantien, zudem wird eine Kombination der getesteten Substanzen präferiert. Auch Wachse können einen Einfluss auf die Eiablage der Kohlmotte haben (Spencer 1996).

Die Beispiele demonstrieren erstens, dass GSL oder Abbauprodukte keine ausschließlichen Wirtsreize darstellen und zweitens, dass Kombinationen von Verbindungen aufgrund ihrer synergistischen Wirkungen dem Insekt helfen Wirtspflanzen von Nichtwirtspflanzen besser unterscheiden zu können (van Loon *et al.* 2002). Es wurde daher postuliert, dass verschiedene Klassen von Sekundärmetaboliten als „Fingerabdrücke“ einer Pflanze wahrgenommen und für die Wirtserkennung benutzt werden (Städler

et al. 2002, van Loon *et al.* 2002, Badenes-Perez 2011 und 2014). Analog dazu können volatile Verbindungen während der Wirtslokalisierung als „Duftgemisch“ angesehen werden (Bruce *et al.* 2005). Dabei können nicht nur positive Reize wahrgenommen werden, sondern auch Nichtwirtspflanzen aktiv vermieden werden. Bei der schwarzen Bohnenlaus wurden an der Antenne Rezeptoren für Isothiocyanate gefunden, welche die Insekten von isothiocyanathaltigen Nichtwirtspflanzen abstoßen (Nottingham *et al.* 1991).

Zusammengefasst wird aus den Ergebnissen dieses Kapitels deutlich, dass in dem untersuchten Material keine eindeutige Beziehung zwischen GSL-Gehalten oder Profilen und der Wirtspflanzenpräferenz des Rapsstängelrüsslers bestand. Da die Variabilität und Aktivität der GSL-Abbauprodukte weitaus größer ist als die der intakten GSL (Agerbirk & Olsen 2012, Agerbirk *et al.* 2009), ist eine Beziehung zwischen den GSL-Abbauprodukten und der Schädlingspräferenz der Rapsstängelrüssler nicht auszuschließen. Bei weiteren Untersuchungen sollten also auch genotypische Unterschiede in der Myrosinaseaktivität beachtet werden. Auch wurden nur die linearen Beziehungen zwischen GSL und Schädlingsbefall ausgewertet, die Interaktionen zwischen einzelnen GSL oder Kombinationen wurden von GSL jedoch nicht berücksichtigt. Aus den Versuchen ist deutlich geworden, dass hier nur die Unterschiede der Genotypen in ihren GSL-Zusammensetzungen und -Gehalten betrachtet worden sind, die Genotypen sich aber in vielen weiteren Merkmalen unterschieden haben, die einen Einfluss auf den Stängelrüsslerbefall gehabt haben können.

Die verminderte Anfälligkeit der Resynthese S30 konnte durch Versuchsanstellungen unter Labor- und Halbfreilandbedingungen bestätigt werden (vgl. Dissertation Schäfer-Kösterke 2015). Dennoch fiel sie nicht durch ihre GSL-Zusammensetzung oder GSL-Gesamtgehalt auf, sodass zukünftige Untersuchungen zeigen müssen, ob die verminderte Anfälligkeit von S30 validiert werden kann und wenn ja, welche Resistenzmechanismen verantwortlich sind. Die Bandbreite möglicher Faktoren ist allerdings groß und reicht von morphologischen Merkmalen wie der Blattoberflächenstruktur bis hin zur riesigen Variation von Sekundärmetaboliten (Schoonhoven *et al.* 2005). Ein positives Beispiel für eine durch Sekundärmetaboliten vermittelte Resistenz stellt die Identifizierung eines Flavonoids dar, welches für eine Teilresistenz gegenüber dem Kohlschotenrüssler *Ceutorhynchus obstrictus* verantwortlich ist (Lee *et al.* 2014).

4.3 Kartierung von Genomregionen für den Glucosinolatstoffwechsel

Nach der Einführung der Glucosinolatarmut aus der Sommerrapssorte ‚Bronowski‘ wurde die Vererbung der GSL-Gehalte im Rapssamen früh untersucht (Kondra & Stefansson 1970). Während sich viele Studien mit der Lokalisierung von QTL für die GSL-Gesamtgehalte im Samen beschäftigt haben (Uzunova *et al.* 1995, Howell *et al.* 2003, Quijada *et al.* 2006, Hasan *et al.* 2008, Li *et al.* 2014, Lu *et al.* 2014), findet sich nur jeweils eine Untersuchung in Raps (Feng *et al.* 2012), Rübsen (Lou *et al.* 2008) und Kohl (Sotelo *et al.* 2014), die QTL für GSL in vegetativen Pflanzenteilen untersuchen. Weiterhin werden häufig nur vom Methionin abgeleitete GSL untersucht und indolische oder aromatische GSL vernachlässigt. Hier wurden drei Pflanzenteile für jeweils neun einzelne GSL, die Gruppen Indol- und Alkenyl-GSL sowie den GSL-Gesamtgehalt untersucht. Anhand der Verteilung der QTL in Abbildung 3.27 und der Karte in Anhang 7.5 sollen folgende Annahmen diskutiert werden:

- (1) Die Akkumulation von aliphatischen und indolischen GSL wird durch getrennte QTL gesteuert.

Auf den Kopplungsgruppen (KG) A03 bei 100 cM, C02 bei 120 cM und C09 bei 5 und 25 cM finden sich für nahezu alle aliphatischen GSL-Merkmale QTL an ähnlichen Positionen. Diese Kartierung von mehreren QTL an ähnlichen Positionen auf einer KG wird im Folgenden als „Co-Lokalisation“ bezeichnet. Es sei aber kritisch angemerkt, dass co-lokalisierende QTL nicht gleichbedeutend mit einem kausalen Locus für die co-lokalisierenden QTL sind. Aufgrund der niedrigen Auflösung der QTL-Kartierung können auch unterschiedliche, aber nah nebeneinander liegende Loci für QTL an sehr ähnlichen Positionen verantwortlich sein, sodass diese dann als co-lokalisiert bezeichnet wurden, aber eigentlich verschiedene Loci hinter den ähnlich positionierten QTL stehen.

Im Gegensatz zu den „QTL-Hotspots“ der aliphatischen GSL auf KG A03, C02 und C09 liegen die QTL Ansammlungen der Indol-GSL hingegen auf den KG A02 (55 cM) und C07 (53 cM) in Blatt und Stängel und auf KG C05 (45 cM) im Samen. Diese getrennte Lokalisierung der QTL von aliphatischen GSL von denen der indolischen GSL ist grundsätzlich zu erwarten, da zwar die Syntheseschritte zur GSL-Bildung gleich sind, aber für aliphatische und indolische GSL von unterschiedlichen Enzymen katalysiert werden. Beispielsweise sind für die Aldoximbildung der Indol-GSL die Enzyme CYP79B2 und B3 zuständig, für die aliphatischen GSL sind dies jedoch CYP79F1 und CPY79F2 (Sonderby *et al.* 2010a).

In den genannten Bereichen gibt es jedoch auch einige QTL, die zwischen den GSL-Gruppen indolischen GSL und aliphatischen GSL co-lokalisieren. Beispielsweise finden sich auf KG C07 bei ca. 53 cM QTL im Blatt für die GSL GBN, GNA und PRO, deren Position mit QTL von indolischen GSL überlappt. Auch auf A03 (10 cM) finden sich QTL für GBC und NAS im Samen, die mit den aliphatischen QTL im Samen co-lokalisieren. Eine mögliche Erklärung für die Co-Lokalisation von QTL zwischen den eigentlich getrennten Syntheswegen der GSL-Gruppen könnte sein, dass die QTL mit denjenigen Enzymen assoziiert

sind, die in der Formung der GSL-Grundstruktur identische Syntheseschritte für beide Gruppen katalysieren (z.B. SUR1, GGP1/3 und UGT74B1 in Abbildung 1.3, Sonderby *et al.* 2010a). Dies könnte auch auf der KG C09 bei 5 cM und 30 cM zutreffen, bei denen aliphatischen QTL mit den drei QTL von NAS co-lokalisieren.

- (2) GSL-Gehalte in Blatt und Stängel unterliegen einer identischen genetischen Regulation.

Für einen Großteil der gefundenen QTL co-lokalisieren diese in Blatt und Stängel, insbesondere bei den QTL mit höheren Anteilen erklärter phänotypischer Varianz. Beispielsweise kartieren die QTL aliphatischer GSL auf KG A03 im Blatt mit denjenigen im Stängel an sehr ähnlicher Position. Oder aber auch die QTL indolischer GSL auf KG A02 und C07 in Blatt und Stängel. Es existieren aber einige Ausnahmen bei denen QTL entweder nur im Blatt oder nur im Stängel gefunden wurden. Dabei handelt es aber hauptsächlich um QTL mit geringen Anteilen erklärter Varianz, was bedeuten könnten, dass die „fehlenden“ QTL des anderen Pflanzenteils möglicherweise vorhanden sind, aber nicht detektiert wurden, weil sie unter dem LOD-Grenzwert lagen. Dagegen wiederum spricht, dass es auf der KG C09 größere QTL gibt, die nur im Stängel gefunden wurden und nicht im Blatt (beispielsweise bei GBN und ALKSUM auf KG C09). Interessant ist, dass diese QTL im Stängel dann wiederum nah an QTL im Samen lokalisiert wurden. Die Erklärungsmöglichkeit für diese QTL-Kombinationen in mehreren Pflanzenteilen, aber auch in nur einem Pflanzenteil wäre dann eine organ- bzw. gewebespezifische Expression der zugrundeliegenden Gene.

Für die Hypothese einer identischen Regulation in Blatt und Stängel sprechen auch die phänotypischen Korrelationen zwischen Blatt und Stängel. Sie verdeutlichen, dass enge Zusammenhänge zwischen den zwei Pflanzenteilen für aliphatische GSL (0,95), indolische GSL (0,83) und NAS (0,76) bestehen. Vor dem Hintergrund, dass die Pflanzenentwicklung und Lokalisierung der Pflanzenteile einen großen Einfluß auf GSL-Gehalte hat (Porter *et al.* 1991), muss hier aber angemerkt werden, dass die Blätter und Stängel zum selben Zeitpunkt und von einem sehr ähnlichen Bereich an der Pflanze (oberer Teil des Hauptsprosses) entnommen wurden. Die mittleren Gehalte in Blättern waren zwar niedriger als die der Stängel, dennoch waren sich beide Teile bezüglich ihres physiologischen Alters und Ortes an der Pflanze sehr ähnlich. Deshalb ist eine teilweise Co-Lokalisation der QTL in Blatt und Stängel, die auf der gleichzeitigen Expression der zu Grunde liegenden Gene beruht, plausibel, obwohl es sich botanisch um verschiedene Pflanzenteile handelt.

- (3) Die Akkumulation der GSL-Gehalte im Samen wird teils von den gleichen Genomregionen wie in Blatt und Stängel, teils aber auch durch für Samen spezifische Genomregionen gesteuert.

Im Gegensatz zum Vergleich zwischen Blatt und Stängel vergleicht man bei Samen und Grünmasse (Blatt und Stängel zusammengefasst) nicht nur verschiedene Pflanzenorgane, sondern auch verschiedene Zeitpunkte, hier Grünmasse vor Blüte und Samen zur Samenreife. Unterschiedliche QTL zwischen Pflanzenteilen können also auch auf eine unterschiedliche Expression zwischen Zeitpunkten zurückzuführen sein.

Die QTL der Indol-GSL in der Grünmasse wurden für keines der vier einzelnen Indol-GSL an derselben Position wie die QTL im Samen kartiert. Dies bedeutet, dass in Samen und Grünmasse verschiedene genetische Faktoren für die Variation der Indol-GSL verantwortlich sind. Auch sind Korrelationen zwischen Samen und Blatt (0,09) bzw. Stängel (0,17) nicht vorhanden. Also gehen hohe Indol-Gehalte im Samen nicht mit hohen Indol-Gehalten in der Grünmasse einher und umgekehrt.

Für alle aliphatischen GSL und auch NAS wurden QTL spezifisch im Samen auf der KG C02 (120 cM) gefunden. Auf KG A03 (100 cM) aber sind die QTL der einzelnen aliphatischen GSL in Blatt, Stängel und Samen co-lokalisiert. Dies verdeutlicht, dass ein Teil der Variation der GSL-Gehalte im Samen von den gleichen genetischen Faktoren reguliert wird wie in der Grünmasse und ein Teil der Variation von samenspezifischen Genprodukten bedingt wird. Damit stellt sich die Frage, welche Genprodukte der Biosynthese für die samenspezifischen QTL in Frage kommen.

Eine Möglichkeit sind Transkriptionsfaktoren, die speziell im Samen exprimiert sind und damit alle Gene der aliphatischen GSL-Synthese gleichzeitig beeinflussen können. Oder aber es handelt sich um Gene für GSL-Transporter wie GTR2 oder GTR1 (Nour-Eldin *et al.* 2012), welche durch unspezifischen Import in den Samen bzw. Schote die Gehalte aller GSL erhöhen. Damit könnten auch die kleineren QTL für NAS und GBC auf KG C02 (120 cM) erklärt werden.

Zunächst soll jedoch ein Vergleich der Ergebnisse zu den Samen-QTL mit anderen Arbeiten erfolgen: Erste QTL-Kartierungen fanden für die GSL Gesamtgehalte im Samen je zwei Major-QTL und Minor-QTL (Uzunova *et al.* 1995) bzw. zwei Major-QTL und drei Minor-QTL (Toroser *et al.* 1995), die in der Summe 62 % bzw. 71 % der phänotypischen Varianz erklären. Zwei der QTL von Toroser *et al.* (1995) lassen sich den KG A09 und C02 von Uzunova *et al.* (1995) zuordnen. Howell *et al.* (2003) bestätigen in einer weiteren Kartierungspopulation vier der zuvor gefunden QTL auf den KG A09, C02, C07 und C09, welche 86 % der phänotypischen Variation erklären. Die QTL auf KG A09 und C02 konnten nochmals bestätigt werden und erklärten mit einem weiteren QTL auf KG A02 65 % der Variation (Quijada *et al.* 2006). Basunanda *et al.* (2010) finden zwei der QTL auf KG C07 (22 %) und auf KG C09 (61 %) wieder. Auch Hasan *et al.* (2008) bestätigen die vier zuvor gefundenen QTL auf den KG C09, C02, C07 und A09.

Betrachtet man das Histogramm der DH-Linien für die GSL-Gesamtgehalte im Samen (Abbildung 3.23), so lässt die zweigipflige Verteilung die Beteiligung eines Genes vermuten. Es wurden insgesamt drei QTL für den GSL-Gesamtgehalt im Samen gefunden, die

einige Besonderheiten aufweisen. GSLSUM-SA-1 auf KG C02 bei 120,5 cM mit 67 % erklärter phänotypischer Varianz und einem großen Additiveffekt von $-20,3 \mu\text{mol}$ ist höchstwahrscheinlich der QTL auf KG C02 aus den früheren Arbeiten. GSLSUM-SA-2 und GSLSUM-SA-3 kartieren beide am Beginn von KG C09 bei 2 bzw. 30 cM. Sie besitzen entgegengesetzte Additiveffekte fast gleicher Höhe ($+15,3$ bzw. $-15,2 \mu\text{mol}$) und erklären 17 % bzw. 18 % der phänotypischen Varianz. Betrachtet man die Markerkarte, so fällt auf, dass zwischen 5 und 26 cM keine Marker kartiert sind und die Marker vor dieser Lücke nicht die erwartete 1:1 Spaltung zeigen (Abbildung 3.27). Die Kopplung der QTL ist auch die Erklärung für die vergleichsweise niedrigen Anteile erklärter Varianz durch die beiden QTL, obwohl ihre Additiveffekte groß sind. Da die Effekte dieser beiden QTL sich nahezu aufheben und sie gekoppelt vererbt werden, erklärt der QTL GSLSUM-SA-1 den Hauptteil der phänotypischen Varianz. Die entgegengesetzten Effekte der beiden QTL auf C09 zeigen, dass je ein Allel von jedem Eltern stammt und Express an dem Locus des QTL auf KG C09 bei 2 cM noch ein hoch-GSL Allel trägt. Dafür spricht auch der recht hohe GSL-Gehalt von Express im Samen mit $26,4 \mu\text{mol}$. Die Möglichkeit dass 00-Sorten hoch-GSL Allele tragen können, wird im Rahmen der Introgression von neuen niedrig-GSL Allelen diskutiert (Toroser *et al.* 1995, Howell *et al.* 2003, Hasan *et al.* 2008).

Es ist aber nicht auszuschließen, dass einer der beiden QTL am Anfang von KG C09 ein Artefakt darstellt und auf KG C02 nur ein QTL vorhanden ist, der dann auch einen höheren Anteil der Varianz erklären würde. Der Grund für ein Artefakt könnte mit der Lücke auf KG C09 zwischen 5 und 26 cM ohne kartierte Marker zusammenhängen. Daher wurde versucht weitere Marker in der Lücke zu kartieren, was aufgrund von fehlenden polymorphen Markern jedoch nicht gelang. Gegen die Annahme eines Artefakt-QTL spricht aber, dass sich die beobachtete Transgression der DH-Linien mit insgesamt zwei beteiligten Genen (je eins auf KG C02 und C09) nicht erklären ließe.

Hasan *et al.* (2008) schlagen für den QTL auf KG C09 als Kandidatengen CYP83B1, für den QTL auf KG A09 CYP79A2, für den QTL auf KG C02 ATR1/MYB34 und für den QTL auf KG C07 MAM1/MAM3 vor. Diese Kandidatengene können hier alle nicht beteiligt sein, denn CYP83B1 ist in der Synthese der Indol-GSL involviert und es wurden auf KG C09 keine QTL für Indol-GSL gefunden. CYP79A2 ist in der Synthese aromatischer GSL involviert und es wurden keine QTL für NAS auf KG A09 gefunden. MYB34 ist ein Transkriptionsfaktor der Indol-GSL Synthese und müsste alle Indol-GSL beeinflussen; hier wurden auf KG C02 aber nur 2 kleine QTL für GBC gefunden. Die vorgeschlagenen Kandidatengene MAM1/3 auf KG C07 (Kettenverlängerung) treffen hier auch weniger wahrscheinlich zu, da nur drei kleinere aliphatische QTL im Blatt auf KG 07 kartiert worden sind. Wenn MAM1/3 involviert wäre, müssten bei allen aliphatischen GSL auch QTL an gleicher Position kartiert werden.

Von den aus der Literatur bekannten QTL können sowohl in der hier untersuchten Population der QTL auf KG C02 bei 120 cM und der QTL auf KG C09 bei 30 cM bestätigt

werden. Bei Delourme *et al.* (2013) liegt der QTL in einer Konsenskarte aus vier DH-Populationen auf KG C02 zwischen 110 und 126 cM und der QTL auf KG C09 zwischen 20 und 22 cM. Die Position des letztgenannten QTL liegt in einer der vier Kartierungspopulationen (,Tapidor x Ningyou7') bei 29 cM und ist damit vergleichbar mit der des QTL auf KG C09 bei 30 cM aus dieser Arbeit.

Von Harper *et al.* (2012) wird ein transkriptomischer Ansatz zur Kartierung der GSL QTL im Samen verfolgt. Die Autoren können nachweisen, dass die zuvor gefundenen QTL auf den KG A09, C02 und C09 für den orthologen Transkriptionsfaktor HAG1 (MYB28 / At5g61420) aus *Arabidopsis* codieren. Weiter können sie zeigen, dass zwei Deletionen auf KG A09 (13 kb) und KG C02 (580 kb) die Transkriptionsfaktoren BnaA.HAG1c bzw. BnaC.HAG1a enthielten. Da niedrig-GSL Genotypen diese Deletionen aufweisen, sind die stark reduzierten GSL-Gehalte durch die Deletionen verursacht (Harper *et al.* 2012). MYB28 ist ein positiver Regulator der aliphatischen GSL-Synthese und zeigt Promoteraktivität in generativen Organen (Gigolashvili *et al.* 2007). Für die Reduzierung des GSL-Gesamtgehaltes auf ca. ein Zehntel in 00-Sorten wurden in unterschiedlichem Material zwischen zwei und fünf additiv wirkende, rezessive vererbte Gene verantwortlich gemacht (Kondra & Steffanson 1970, Lein 1972b, Rücker & Röbbelen 1994, Magrath *et al.* 1993). Die zwei Deletionen der Transkriptionsfaktoren können damit zum Teil erklären warum in ,Bronowski' lediglich die aliphatischen GSL auf ein Zehntel reduziert sind, die Indol-GSL Synthese hingegen nicht betroffen ist.

Da der hier gefundene QTL GSLSUM-SA-1 auf KG C02 auch bei 120 cM kartiert wurde, stellt BnaC.HAG1a ein potentielles Kandidatengen dar. Weitere Hinweise dafür finden sich in der Studie von Li *et al.* (2014), die eine genomweite Assoziationsstudie (GWAS) mit 472 Genotypen für verschiedene Merkmale der Samenqualität durchführen. Sie finden die vier bekannten Assoziationen für Samen-GSL auf den KG A09, C02, C07 und C09 und eine weitere auf C04. Für alle vier bekannten Loci werden wie bei Harper *et al.* (2012) Orthologe des *Arabidopsis* Transkriptionsfaktors HAG1 als Kandidatengene benannt. Durch das gleiche Markersystem konnten Marker zwischen dieser Arbeit und der Untersuchung von Li *et al.* (2014) verglichen werden. Für die Assoziation der Samen-GSL auf A09 wird das Kandidatengen BnaA.HAG1c vorgeschlagen. Die Überprüfung des Markers Bn-A01-p9004629 in der hier untersuchten Population ,L16 x Express' zeigte, dass die Allele der DH-Eltern monomorph waren und damit auf A09 auch kein Samen-QTL auf KG A09 erwartet werden kann.

Für die KG C02 wird von Li *et al.* (2014) das Kandidatengen BnaC.HAG1a vorgeschlagen, bei dem die Base Guanin das hoch-GSL Allel und die Base Adenosin das niedrig-GSL Allel codiert. Für den entsprechenden SNP Marker Bn-scaff_26086_1-p11779 besitzt in der Population dieser Arbeit der Elter L16 Guanin als Base und Express Adenosin. Dies bedeutet, dass L16 das hoch-GSL Allel trägt und bestätigt die obige Annahme von BnaC.HAG1a als Kandidatengen für den QTL auf KG C02 im Samen bei 120 cM. Der SNP Bn-scaff_17526_1-p1140588 auf der KG C09, welcher in der Studie von Li *et al.* (2014)

mit dem Kandidatengen BnaC.HAG1c assoziiert ist, fehlt in der Population ‚L16 x Express‘ für alle DH-Linien sowie beide Eltern, was ein Hinweis auf eine Deletion sein könnte.

Die Assoziationsstudie von Lu *et al.* (2014) identifiziert am Beginn der KG C09 im Bereich zwischen 2 und 5 Megabasen BnaC.HAG3b als Kandidatengen für den GSL-Gesamtgehalt im Samen. BnaC.HAG3b könnte damit ein potentieller Kandidatengen für einen der QTL GSLSUM-SA-2 bzw. GSLSUM-SA-3 sein. Die Marker waren leider nicht direkt vergleichbar, sodass eine weitere Überprüfung anhand der physikalischen Position des Markers aus der Studie auf dem Rapsreferenzgenom notwendig ist. Der Transkriptionsfaktor MYB29 für den BnaC.HAG3b codiert, ist wie HAG1 ein positiver Regulator der Synthese aliphatischer GSL, welcher in vegetativen und generativen Pflanzenteilen exprimiert wird (Gigolashvili *et al.* 2008). Da die kartierten QTL auf der KG C09 aliphatische GSL und NAS, aber nicht die Indol-GSL betreffen, erscheint ein Einfluss von MYB29 auf mehrere Gene der Synthese aliphatischer GSL plausibel.

Neben Untersuchungen für QTL im Samen gibt es wenige Studien zu vegetativen Pflanzenteilen. In Blättern von Rübsen wurden QTL für INDSUM, ALKSUM, GBN und GNA (zusammengefasst als Ali-QTL3.2) auf KG A03 zwischen 90 und 110 cM kartiert, welche denjenigen QTL dieser Arbeit für aliphatische GSL auf der KG A03 zwischen 85 und 100 cM entsprechen könnten (Lou *et al.* 2008). Weitere QTL finden sich für GNA und ALKSUM auf KG A06 bei 60 cM (Ali-QTL6.1) und auf KG A08 für INDSUM zwischen 56 und 65 cM (Ind-QTL8.1), welche mit GSLSUM-BL-3 auf KG A06 bei 63 cM und INDSUM-BL-4 auf KG A08 bei 51 cM entsprechen könnten. Die Übereinstimmungen der QTL zwischen dieser Arbeit und der von Sotelo *et al.* (2014), die Blätter, Samen und Knospen von *Brassica oleracea* untersuchen, sind sehr gering. Ein QTL im Samen für NEO zwischen 82 und 86 cM auf KG C05 liegt in der Nähe von NEO-SA-4, der in ‚L16 x Express‘ bei 74 cM auf KG C05 kartiert wurde.

In der Untersuchung von Feng *et al.* (2012) werden Rapssamen und -blätter gleichzeitig untersucht. Sie finden zwar mit 193 QTL im Samen und 59 QTL im Blatt eine große Anzahl an QTL, die aber aus verschiedenen Experimenten stammen. Nach Zusammenfassung verbleiben 17 QTL im Blatt, deren größter QTL q.msG-C8b mit 8,1 % nur einen sehr geringen Anteil der phänotypischen Varianz erklären konnte. Von den bekannten vier Samen-QTL wurden in der Untersuchung von Feng *et al.* (2012) die Samen-QTL auf A09 und C02 gefunden, wobei der QTL q.mcG-C2c auf KG C02 bei 94 cM mit dem hier kartierten QTL GSLSUM-SA-1 auf KG C02 bei 120 cM in der Population ‚L16 x Express‘ übereinstimmen könnte. Nach dem Abgleich aller QTL mit den Ergebnissen dieser Arbeit ergab sich lediglich eine Übereinstimmung beim QTL q.msG-A4a auf KG A04 bei 26 cM, der im Konfidenzintervall zwischen 23 und 32 cM des QTL 4OH-SA-2 liegt.

Zusammengefasst lässt sich sagen, dass die Vergleichbarkeit von QTL aus verschiedenen Studien problematisch ist. Daher sollten als nächster Schritt Kandidatengene identifiziert werden, um die QTL zu validieren. Mit der Veröffentlichung der Genomsequenzen

des amphidiploiden Raps (Chalhoub *et al.* 2014) und dessen beiden Ausgangsarten *Brassica rapa* (Wang *et al.* 2011) und *Brassica oleracea* (Liu *et al.* 2014) wurden auch die aus *Arabidopsis* bekannten Gene für die GSL-Synthese und Myrosinasen in den drei Genomen identifiziert, was Möglichkeiten für die Identifizierung der Kandidatengene eröffnet. Beispielsweise könnte man mit den Primersequenzen der flankierenden SNP eines QTL und gleichzeitig mit den Sequenzen der bekannten Gene der GSL-Synthese aus den anderen Arten deren physikalische Positionen auf dem Referenzgenom lokalisieren und nach Übereinstimmungen suchen. Allerdings ist dabei die Auflösung der QTL-Kartierung ein kritischer Punkt, welche hier eher durch die niedrige Anzahl an DH-Linien limitiert sein dürfte, als durch die Anzahl der SNP Marker. Insbesondere wenn Loci eng gekoppelt sind, wie beim QTL GSL-AOP bei dem drei Gene für funktionelle Enzyme in einem Bereich von unter 300 kb co-segregieren (Kliebenstein *et al.* 2001), ist die Positionierung der QTL wahrscheinlich sehr ungenau.

Verkompliziert wird die Suche nach Kandidatengenen durch die hohe Anzahl an Genkopien im allopolyploiden Raps. Bis heute wurden in *B. oleracea* 101 Gene und in *B. rapa* 105 Gene gefunden die mit der Biosynthese oder Transkriptionssteuerung der GSL zusammenhängen (Liu *et al.* 2014). Im GSL-Abbau (Myrosinasen, Specifier Proteine etc.) sind in beiden Arten 22 Gene bekannt. Von den 101 bzw. 105 Biosynthesegenen lassen sich im Rapsgenom 97 syntenische Orthologe finden und von den 22 Abbaugenen 15 Orthologe. Weiterhin existieren 3 Orthologe für den GSL-Transporter GTR1 und 2 Orthologe für GTR2 zwischen den Elternarten (Chalhoub *et al.* 2014). In *B. napus* liegt demnach die Anzahl der im GSL-Metabolismus involvierten Gene bei > 200.

Diese hohe Anzahl an Genen verdeutlicht die Komplexität des GSL-Metabolismus und die Schwierigkeit gezielt die GSL-Gehalte oder GSL-Zusammensetzungen im Sinne eines ‚Metabolic Engineering‘ von Pflanzen zu verändern (Kliebenstein 2014b). Wenn die Funktionen der Gene, der Transkriptionsmechanismen des GSL-Stoffwechsels und dessen Verknüpfungen zu anderen Stoffwechselwegen allerdings sehr genau bekannt sind und negative Nebeneffekte ausgeschlossen werden können, besteht ein großes Potential in der gezielten Eliminierung unerwünschter oder der Anreicherung gewünschter GSL in bestimmten Pflanzenorganen von Nutzpflanzen (Chen & Andreasson 2001). Durch die Entdeckung von spezifischen GSL-Transportern ist der GSL Transport in der Pflanze ein sehr aktuelles Thema (Nour-Eldin & Halkier 2013). Eine denkbare Anwendung der gezielten Veränderung des GSL-Transports sind beispielsweise Rapsorten, die im Samen vollständig GSL-frei sind, bei denen die GSL im Rest der Pflanze aber weiter funktionell bleiben (Nour-Eldin *et al.* 2012). Inwiefern sich aber solche Pflanzen tatsächlich „konstruieren“ lassen und welche physiologischen Auswirkungen auf die Pflanze ein Eingriff in den Metabolismus mit sich bringt, ist nicht vorhersehbar und wird die zukünftige Forschung zeigen.

5 Zusammenfassung

Raps (*Brassica napus* L.) ist heute die drittwichtigste Ölf Frucht weltweit. Einer der Hauptgründe für die große Anbaubedeutung liegt in der Züchtung von Sorten mit niedrigem Gehalt an Glucosinolaten (GSL) im Samen, welche die Koppelnutzung des Öls und des Rapskuchens in der Tierfütterung möglich machte. GSL sind schwefelhaltige, sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe und ein Charakteristikum der Familie der Kreuzblütler, zu der Raps zählt. Die Funktion der GSL in der Pflanze wird zusammen mit dem sie abbauenden Enzym Myrosinase als konstitutiver Abwehrmechanismus gegenüber unspezifischen Fraßfeinden gesehen, dem sogenannten Glucosinolat-Myrosinase System. Raps wird aber auch von Schädlingen befallen, die speziell nur Kreuzblütler als Wirtspflanzen akzeptieren. Bei einigen spezialisierten Schädlingsarten der Kreuzblütler konnte gezeigt werden, dass GSL oder ihre Abbauprodukte einen Einfluss auf das Verhalten bei der Wirtspflanzenwahl, bei der Eiablage oder beim Fraß haben können. Es besteht also die Möglichkeit, dass über GSL in der Grünmasse eine quantitative Resistenz gegenüber Schadinsekten vermittelt wird und die genetische Variation von GSL im Raps-genpool eine natürliche Resistenzquelle darstellt. Jedoch ist die Vererbung der GSL in Blatt und Stängel im Gegensatz zu den GSL im Samen wenig untersucht.

Die Zielsetzung dieser Arbeit bestand daher einerseits in der Evaluierung von GSL-Gehalten und -mustern als potentielle Resistenzfaktoren gegenüber den spezialisierten Raps-schädlingen „Großer Rapsstängelrüssler“ (*Ceutorhynchus napi*) und „Gefleckter Kohltriebrüssler“ (*Ceutorhynchus pallidactylus*) und andererseits in einer genetischen Analyse der GSL-Gehalte in Blatt und Stängel. Dazu wurden dreijährige Feldversuche an vier Standorten durchgeführt, in denen 28 genetisch sehr unterschiedliche Genotypen, darunter 15 Rapsresynthesen und 13 ältere und neuere Zuchtsorten hinsichtlich der Variation von GSL-Gehalten und –Zusammensetzungen in Grünmasse und Samen und deren Anfälligkeit gegenüber den beiden Rapsstängelschädlingen evaluiert wurden. Die Daten des Schädlingsbefalls wurden in der Abteilung Agrarentomologie erhoben und entstammen der parallel durchgeführten Dissertation von Schäfer-Kösterke (2015). Um die Selektionsmöglichkeiten auf unterschiedliche GSL-Gehalte in Samen und Grünmasse zu eruieren, wurde die Vererbung von GSL in einem weiteren Experiment mit Hilfe einer DH-Population untersucht. Die Hauptfrage dieser QTL-Kartierung war, inwieweit am GSL-Stoffwechsel beteiligte Genomregionen sich zwischen Stängeln, Blättern und Samen unterscheiden.

In der Auswertung der Versuchsserie zur Variation der GSL konnte für die elf identifizierte GSL eine große genetische Variation mit hohen Heritabilitäten festgestellt werden. Als großer Einflussfaktor auf die GSL-Gehalte der Genotypen erwies sich das Entwicklungsstadium der Pflanzen: Die über 28 Genotypen gemittelten GSL-Gesamtgehalte in der Grünmasse nahmen vom ersten Probenahmetermin von 18 µmol im Schossen zum zweiten auf 4 µmol bei Blühbeginn ab. Weiterhin hatten Samen im Mittel der Genotypen um 47 µmol höhere GSL-Gehalte als die Grünmasse, und Stängel um ca. 3 µmol

höhere Gehalte als Blätter. Auch die mittlere GSL-Zusammensetzung der Genotypen unterschied sich deutlich zwischen Samen und Grünmasse, jedoch nicht zwischen den zwei Probenahmetermenen. Zusätzlich hatten Standort und Jahr einen Einfluss, wobei in den Jahren 2012 und 2013 die Standorteffekte größer als die der Jahre waren. Zwischen den Pflanzenteilen Blatt und Stängel bestand eine hohe Korrelation von 0,96 für den GSL-Gesamtgehalt. Zwischen Samen und Grünmasse war die Beziehung für die GSL-Gesamtgehalte mit 0,60 weniger deutlich und für die Gruppe der indolischen GSL mit 0,14 nicht mehr vorhanden. Die komplexe zeitliche und räumliche Verteilung der GSL innerhalb der Pflanze wird im Zusammenhang mit der Bedeutung von Transportprozessen diskutiert.

Bei der Untersuchung der Beziehung zwischen dem Befall durch Stängelschädlinge und GSL stellte sich heraus, dass der natürliche Schädlingsdruck im Freiland mit durchschnittlich 2,6 Rapsstängelrüsslerlarven pro Pflanze und 2,8 Kohltriebrüsslerlarven pro Pflanze sehr niedrig war. Daher konnte eine Differenzierung der Genotypen im Rapsstängelrüsslerbefall nur an einem Standort in den Jahren 2012 und 2013 statistisch abgesichert werden. Für den Kohltriebrüsslerbefall gab es an keinem Standort statistisch absicherbare, genotypische Unterschiede. In den beiden ausgewerteten Umwelten zeigten sich keine signifikanten Beziehungen zwischen GSL-Gesamtgehalt, Alkenyl-GSL, Indol-GSL oder den elf einzelnen GSL und dem Befall mit Rapsstängelrüsslerlarven pro Pflanze. Hauptkomponentenanalysen und Vergleiche zwischen unterschiedlich stark befallenen Gruppen von Genotypen ließen ebenfalls nicht auf lineare Zusammenhänge zwischen GSL-Gehalten oder -Zusammensetzungen und der Wirtspflanzenpräferenz des Rapsstängelrüsslers oder auch des Stängelfraßes der Larven schließen. Allerdings fiel die Resynthese S30 in beiden ausgewerteten Umwelten durch eine niedrige Anzahl an Rapsstängelrüsslerlarven und einen niedrigen Anteil Minierfraß auf. GSL-Zusammensetzung und GSL-Gesamtgehalt von S30 zeigten jedoch keine Besonderheiten.

Für die Kartierung von am GSL-Stoffwechsel beteiligten Quantitative Trait Loci (QTL) wurden GSL in Blatt, Stängel und Samen von 120 DH-Linien der DH-Population ‚L16 x Express‘ untersucht. Die beiden Populationseletern L16 und Express unterscheiden sich nicht nur durch unterschiedliche GSL-Gesamtgehalte im Samen (L16 59,0 μmol vs. Express 26,4 μmol) und in der Grünmasse (L16 1,1 μmol vs. Express 6,2 μmol), sondern auch in der relativen Zusammensetzung von Alkenyl- und Indol-GSL (L16 31 % Indol-GSL vs. Express 10 % Indol-GSL). Die über zwei Orte gemittelten GSL-Gehalte der Population waren zum Knospenstadium in der Grünmasse mit 5,4 μmol in Stängeln und 3,7 μmol in Blättern sehr niedrig, zur Reife in den Samen mit 48,6 μmol jedoch hoch. Die Heritabilitäten der Merkmale mit signifikanter genotypischer Variation lagen im Stängel zwischen 0,64 und 0,86, im Blatt zwischen 0,55 und 0,89 und im Samen zwischen 0,70 und 0,98. Die Korrelationen der GSL-Gesamtgehalte zwischen Blatt und Stängel lag bei 0,95, diejenige zwischen Stängel (Blatt) und Samen bei 0,52 (0,53). Die erstellte Kopplungskarte enthielt 4003 SNP-Marker, deren 19 Kopplungsgruppen 2050 centiMorgan abdeckten. Der mittlere Abstand zwischen zwei Markern lag bei 2 cM. Es wurden insgesamt 115 QTL gefunden von denen 49 QTL für die GSL-Gehalte im Samen, 35 QTL für die Gehalte im

Stängel und 31 QTL für die Gehalte im Blatt verantwortlich waren. Für aliphatische GSL zeigten sich drei Hauptregionen auf den Kopplungsgruppen A03, C02 und C09. Während auf A03 und C09 QTL aus allen Pflanzenteilen lokalisiert wurden, regulierten die QTL auf C02 spezifisch die Gehalte im Samen. Für Indol GSL-Gehalte von Blatt und Stängel existierten zwei Hauptregionen auf den Kopplungsgruppen A02 und C07, welche von denen im Samen (auf A03, C02 und C05) getrennt lokalisiert waren. Die Ergebnisse zeigen, dass 1) die Akkumulation von aliphatischen und indolischen GSL durch getrennte Genomregionen gesteuert wurde, 2) GSL-Gehalte in Blatt und Stängel durch identische Genomregionen kontrolliert wurden und 3) die GSL-Akkumulation im Samen teils von den gleichen Regionen des Genoms wie in Blatt und Stängel, teils aber auch durch für Samen spezifische Genomregionen reguliert wurde.

6 Literaturverzeichnis

- Agerbirk, N., De Vos, M., Kim, J. H., & Jander, G. (2009). Indole glucosinolate breakdown and its biological effects. *Phytochemistry Reviews*, 8(1), 101-120.
- Agerbirk, N., & Olsen, C. E. (2012). Glucosinolate structures in evolution. *Phytochemistry*, 77, 16-45.
- Agrawal, A. A., & Kurashige, N. S. (2003). A role for isothiocyanates in plant resistance against the specialist herbivore *Pieris rapae*. *Journal of Chemical Ecology*, 29(6), 1403-1415.
- Ahuja, I., Rohloff, J., & Bones, A. M. (2010). Defence mechanisms of Brassicaceae: implications for plant-insect interactions and potential for integrated pest management. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30(2), 311-348.
- Ahuja, I., Borgen, B. H., Hansen, M., Honne, B. I., Müller, C., Rohloff, J., ... & Bones, A. M. (2011). Oilseed rape seeds with ablated defence cells of the glucosinolate-myrosinase system. Production and characteristics of double haploid MINELESS plants of *Brassica napus* L. *Journal of Experimental Botany*.
- Alford, D. V., Nilsson, C., & Ulber, B. (2003). Insect pests of oilseed rape crops. *Biocontrol of oilseed rape pests*, 9-41.
- Andersen, T. G., Nour-Eldin, H. H., Fuller, V. L., Olsen, C. E., Burow, M., & Halkier, B. A. (2013). Integration of biosynthesis and long-distance transport establish organ-specific glucosinolate profiles in vegetative *Arabidopsis*. *The Plant Cell Online*, 25(8), 3133-3145.
- Andersen, T., & Halkier, B. (2014). Upon bolting the GTR1 and GTR2 transporters mediate transport of glucosinolates to the inflorescence rather than roots. *Plant Signaling & Behavior*, 9(1).
- Andréasson, E., Jørgensen, L. B., Höglund, A. S., Rask, L., & Meijer, J. (2001). Different myrosinase and idioblast distribution in *Arabidopsis* and *Brassica napus*. *Plant Physiology*, 127(4), 1750-1763.
- Badenes-Pérez, F. R., Reichelt, M., Gershenzon, J., & Heckel, D. G. (2011). Phylloplane location of glucosinolates in *Barbarea* spp.(Brassicaceae) and misleading assessment of host suitability by a specialist herbivore. *New Phytologist*, 189(2), 549-556.
- Badenes-Perez, F. R., Gershenzon, J., & Heckel, D. G. (2014). Insect Attraction versus Plant Defense: Young Leaves High in Glucosinolates Stimulate Oviposition by a Specialist Herbivore despite Poor Larval Survival due to High Saponin Content. *PloS One*, 9(4).
- Bak, S., Tax, F. E., Feldmann, K. A., Galbraith, D. W., & Feyereisen, R. (2001). CYP83B1, a cytochrome P450 at the metabolic branch point in auxin and indole glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis*. *The Plant Cell Online*, 13(1), 101-111.
- Barth, C., & Jander, G. (2006). *Arabidopsis* myrosinases TGG1 and TGG2 have redundant function in glucosinolate breakdown and insect defense. *The Plant Journal*, 46(4), 549-562.

- Bartlet, E., Blight, M. M., Hick, A. J., & Williams, I. H. (1993). The responses of the cabbage seed weevil (*Ceutorhynchus assimilis*) to the odour of oilseed rape (*Brassica napus*) and to some volatile isothiocyanates. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 68(3), 295-302.
- Bartlet, E., Parsons, D., Williams, I. H., & Clark, S. J. (1994). The influence of glucosinolates and sugars on feeding by the cabbage stem flea beetle, *Psylliodes chrysocephala*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 73(1), 77-83.
- Bartlet, E., Blight, M. M., Lane, P., & Williams, I. H. (1997). The responses of the cabbage seed weevil *Ceutorhynchus assimilis* to volatile compounds from oilseed rape in a linear track olfactometer. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 85(3), 257-262.
- Bartlet, E., Kiddle, G., Williams, I., & Wallsgrave, R. (1999). Wound-induced increases in the glucosinolate content of oilseed rape and their effect on subsequent herbivory by a crucifer specialist. In *Proceedings of the 10th International Symposium on Insect-Plant Relationships*. Springer Netherlands. 163-167.
- Basunanda, P., Radoev, M., Ecker, W., Friedt, W., Becker, H. C., & Snowden, R. J. (2010). Comparative mapping of quantitative trait loci involved in heterosis for seedling and yield traits in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 120(2), 271-281.
- Baur, R., Birch, A. N. E., Hopkins, R. J., Griffiths, D. W., Simmonds, M. S. J., & Städler, E. (1996). Oviposition and chemosensory stimulation of the root flies *Delia radicum* and *D. floralis* in response to plants and leaf surface extracts from resistant and susceptible Brassica genotypes. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 78(1), 61-75.
- Bednarek, P., Piślewska-Bednarek, M., Svatoš, A., Schneider, B., Doubek, J., Mansurova, M., ... & Schulze-Lefert, P. (2009). A glucosinolate metabolism pathway in living plant cells mediates broad-spectrum antifungal defense. *Science*, 323(5910), 101-106.
- Bekaert, M., Edger, P. P., Hudson, C. M., Pires, J. C., & Conant, G. C. (2012). Metabolic and evolutionary costs of herbivory defense: systems biology of glucosinolate synthesis. *New Phytologist*, 196(2), 596-605.
- Bennett, R. N., & Wallsgrave, R. M. (1994). Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytologist*, 127(4), 617-633.
- Bennert, H. (1992). *Variation des Glucosinolatgehaltes und-musters bei Raps (Brassica napus L.) in Abhängigkeit von Genotyp und Pflanzenentwicklung*. Dissertation: Freie Universität Berlin.
- Bergmann, F. (1970). Glucosinolat-Biosynthese im Verlauf der Ontogenese von *Sinapis alba* L. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 62, 362-375.
- Bilsborrow, P. E., Evans, E. J., Murray, F., & Zhao, F. J. (1993). Glucosinolate changes in developing pods of single and double low varieties of autumn-sown oilseed rape (*B. napus*). *Annals of Applied Biology*, 122(1), 135-143.
- Björkman, M., Klinge, I., Birch, A. N., Bones, A. M., Bruce, T. J., Johansen, T. J., ... & Stewart, D. (2011). Phytochemicals of Brassicaceae in plant protection and human health—Influences of climate, environment and agronomic practice. *Phytochemistry*, 72(7), 538-556.

- Blight, M. M., Pickett, J. A., Wadhams, L. J., & Woodcock, C. M. (1995). Antennal perception of oilseed rape, *Brassica napus* (Brassicaceae), volatiles by the cabbage seed weevil *Ceutorhynchus assimilis* (Coleoptera, Curculionidae). *Journal of Chemical Ecology*, 21(11), 1649-1664.
- Blight, M. M., & Smart, L. E. (1999). Influence of visual cues and isothiocyanate lures on capture of the pollen beetle, *Meligethes aeneus* in field traps. *Journal of chemical ecology*, 25(7), 1501-1516.
- Bodnaryk, R. P., & Rymerson, R. T. (1994). Effect of wounding and jasmonates on the physico-chemical properties and flea beetle defence responses of canola seedlings, *Brassica napus* L. *Canadian Journal of Plant Science*, 74(4), 899-907.
- Bones, A. M., & Rossiter, J. T. (1996). The myrosinase-glucosinolate system, its organisation and biochemistry. *Physiologia Plantarum*, 97(1), 194-208.
- Bones, A. M., & Rossiter, J. T. (2006). The enzymic and chemically induced decomposition of glucosinolates. *Phytochemistry*, 67(11), 1053-1067.
- Borgen, B. H., Thangstad, O. P., Ahuja, I., Rossiter, J. T., & Bones, A. M. (2010). Removing the mustard oil bomb from seeds: transgenic ablation of myrosin cells in oilseed rape (*Brassica napus*) produces MINELESS seeds. *Journal of Experimental Botany*.
- Borgen, B. H., Ahuja, I., Thangstad, O. P., Honne, B. I., Rohloff, J., Rossiter, J. T., & Bones, A. M. (2012). 'Myrosin cells' are not a prerequisite for aphid feeding on oilseed rape (*Brassica napus*) but affect host plant preferences. *Plant Biology*, 14(6), 894-904.
- Bradshaw, J. E., Heaney, R. K., Fenwick, G. R., & McNaughton, I. H. (1983). The glucosinolate content of the leaf and stem of fodder kale (*Brassica oleracea* L.), rape (*Brassica napus* L.) and radicle (*Raphanobrassica*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34(6), 571-575.
- Bradshaw, J. E., Heaney, R. K., Macfarlane Smith, W. H., Gowers, S., Gemmell, D. J., & Roger Fenwick, G. (1984). The glucosinolate content of some fodder brassicas. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 35(9), 977-981.
- Broman, K. W., Wu, H., Sen, S., & Churchill, G. A. (2003). R/qtl: QTL mapping in experimental crosses. *Bioinformatics*, 19(7), 889-890.
- Brown, P. D., Tokuhisa, J. G., Reichelt, M., & Gershenzon, J. (2003). Variation of glucosinolate accumulation among different organs and developmental stages of *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry*, 62(3), 471-481.
- Bruce, T. J., Wadhams, L. J., & Woodcock, C. M. (2005). Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science*, 10(6), 269-274.
- Bruce, T. J. A. (2014). Glucosinolates in oilseed rape: secondary metabolites that influence interactions with herbivores and their natural enemies. *Annals of Applied Biology*, 164(3), 348-353.
- Brudenell, A. J. P., Griffiths, H., Rossiter, J. T., & Baker, D. A. (1999). The phloem mobility of glucosinolates. *Journal of Experimental Botany*, 50(335), 745-756.

- Buchner, R. (1988). *Analyse und Biologie der Glucosinolate in Raps (Brassica napus L.)*. Dissertation: Georg-August-Universität Göttingen.
- Büchi, R. (1996). Eiablage des Rapsstengelrüßlers *Ceutorhynchus napi* Gyll., in Abhängigkeit der Stengellänge bei verschiedenen Rapssorten. *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 69(6), 136-139.
- Chalhoub, B., Denoeud, F., Liu, S., Parkin, I. A., Tang, H., Wang, X., ... & Sidebottom, C. H. (2014). Early allopolyploid evolution in the post-Neolithic *Brassica napus* oilseed genome. *Science*, 345(6199), 950-953.
- Chen, S., & Halkier, B. A. (1999). Functional Expression and Characterization of the Myrosinase MYR1 from *Brassica napus* in *Saccharomyces cerevisiae*. *Protein Expression and Purification*, 17(3), 414-420.
- Chen, S., Petersen, B. L., Olsen, C. E., Schulz, A., & Halkier, B. A. (2001). Long-distance phloem transport of glucosinolates in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 127(1), 194-201.
- Chen, S., & Andreasson, E. (2001). Update on glucosinolate metabolism and transport. *Plant Physiology and Biochemistry*, 39(9), 743-758.
- Charron, C. S., & Sams, C. E. (2004). Glucosinolate content and myrosinase activity in rapid-cycling *Brassica oleracea* grown in a controlled environment. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(3), 321-330.
- Charron, C. S., Saxton, A. M. and Sams, C. E. (2005), Relationship of climate and genotype to seasonal variation in the glucosinolate–myrosinase system. I. Glucosinolate content in ten cultivars of *Brassica oleracea* grown in fall and spring seasons. *J. Sci. Food Agric.*, 85: 671–681.
- Clay, N. K., Adio, A. M., Denoux, C., Jander, G., & Ausubel, F. M. (2009). Glucosinolate metabolites required for an *Arabidopsis* innate immune response. *Science*, 323(5910), 95-101.
- Cleemput, S., & Becker, H. C. (2008). Glucosinolate content and composition in the seeds, stems and leaves of *Brassica napus*. In *Modern variety breeding for present and future needs. Proceedings of the 18th EUCARPIA general congress, Valencia, Spain, 9-12 September, 2008*. 570-574.
- Cleemput, S., & Becker, H. C. (2012). Genetic variation in leaf and stem glucosinolates in resynthesized lines of winter rapeseed (*Brassica napus* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59(4), 539-546.
- Clossais-Besnard, N., & Larher, F. (1991). Physiological role of glucosinolates in *Brassica napus*. Concentration and distribution pattern of glucosinolates among plant organs during a complete life cycle. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 56(1), 25-38.
- Daxenbichler, M. E., Spencer, G. F., Carlson, D. G., Rose, G. B., Brinker, A. M., & Powell, R. G. (1991). Glucosinolate composition of seeds from 297 species of wild plants. *Phytochemistry*, 30(8), 2623-2638.

- De March, G. D., McGregor, D. I., & Seguin-Shwartz, G. (1989). Glucosinolate content of maturing pods and seeds of high and low glucosinolate summer rape. *Canadian Journal of Plant Science*, 69(3), 929-932.
- Dechert, G., & Ulber, B. (2004). Interactions between the stem-mining weevils *Ceutorhynchus napi* Gyll. and *Ceutorhynchus pallidactylus* (Marsh.)(Coleoptera: Curculionidae) in oilseed rape. *Agricultural and Forest Entomology*, 6(3), 193-198.
- Del Carmen Martínez-Ballesta, M., Moreno, D. A., & Carvajal, M. (2013). The physiological importance of glucosinolates on plant response to abiotic stress in Brassica. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(6), 11607-11625.
- Delourme, R., Falentin, C., Fomeju, B. F., Boillot, M., Lassalle, G., André, I. & Pauquet, J. (2013). High-density SNP-based genetic map development and linkage disequilibrium assessment in *Brassica napus* L. *BMC Genomics*, 14(1), 120.
- Demes, H. (1989). *Untersuchungen über Glucosinolat-, Nitrat-und Protein-Gehalt in der Raps-Grünmasse in Abhängigkeit von Genotyp, Umwelt und Entwicklungsstadium*. Dissertation: Justus-Liebig-Universität Giessen.
- Deubert, K. H. (1952). Über das durch die Eiablage von *Ceuthorrhynchus napi* Gyll. verursachte histologische Schadbild an Winterraps. *Wiss. Ztschr. Martin Luther Univ. Halle*, 2, 203-205.
- Dosse, G. (1951). Der Große Kohltriefbrüßler *Ceuthorrhynchus napi* (Gyll.). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 32(4), 489-566.
- Doughty, K. J., Kiddle, G. A., Pye, B. J., Wallsgrove, R. M., & Pickett, J. A. (1995). Selective induction of glucosinolates in oilseed rape leaves by methyl jasmonate. *Phytochemistry*, 38(2), 347-350.
- Eickermann, M. (2008). *Effect of Brassica genotype on the infestation by cabbage stem weevil Ceutorhynchus pallidactylus (Mrsh.)(Col.: Curculionidae) and the parasitism of stem weevil larvae*. Dissertation: Georg-August-Universität Göttingen.
- Eickermann, M., Ulber, B., & Vidal, S. (2011). Resynthesized lines and cultivars of *Brassica napus* L. provide sources of resistance to the cabbage stem weevil (*Ceutorhynchus pallidactylus* (Mrsh.)). *Bulletin of Entomological Research*, 101(03), 287-294.
- Eickermann, M., Beyer, M., Goergen, K., Hoffmann, L., & Junk, J. (2014). Shifted migration of the rape stem weevil *Ceutorhynchus napi* (Coleoptera: Curculionidae) linked to climate change. *European Journal of Entomology*, 111(2):243–250.
- Engelberth, J., Alborn, H. T., Schmelz, E. A., & Tumlinson, J. H. (2004). Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(6), 1781-1785.
- EU-Kommission. (1990). Verordnung (EWG) Nr. 1864/90 der Kommission vom 29. Juni 1990 zur Änderung der Verordnung (EWG) Nr. 1470/68 über die Entnahme und Verkleinerung von Proben und über die Analyseverfahren der Ölsaaten. *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften Nr. L170*, 27-34.

- Evans, K. A., & Allen-Williams, L. J. (1998). Response of cabbage seed weevil (*Ceutorhynchus assimilis*) to baits of extracted and synthetic host-plant odor. *Journal of Chemical Ecology*, 24(12), 2101-2114.
- Fahey, J. W., Zalcmann, A. T., & Talalay, P. (2001). The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56(1), 5-51.
- Falconer, D. S., & Mackay, T. F. C. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics*. Benjamin Cummings; 4th edition, 480 p.
- Falk, A., Xue, J., Lenman, M., & Rask, L. (1992). Sequence of a cDNA clone encoding the enzyme myrosinase and expression of myrosinase in different tissues of *Brassica napus*. *Plant Science*, 83(2), 181-186.
- Fang, J., Reichelt, M., Hidalgo, W., Agnolet, S., & Schneider, B. (2012). Tissue-specific distribution of secondary metabolites in Rapeseed (*Brassica napus* L.). *PloS One*, 7(10), e48006.
- Feng, J., Long, Y., Shi, L., Shi, J., Barker, G., & Meng, J. (2012). Characterization of metabolite quantitative trait loci and metabolic networks that control glucosinolate concentration in the seeds and leaves of *Brassica napus*. *New Phytologist*, 193(1), 96-108.
- Fenwick, G. R., & Heaney, R. K. (1983). Glucosinolates and their breakdown products in cruciferous crops, foods and feedingstuffs. *Food Chemistry*, 11(4), 249-271.
- Fieldsend, J., & Milford, G. F. J. (1994a). Changes in glucosinolates during crop development in single-and double-low genotypes of winter oilseed rape (*Brassica napus*): I. Production and distribution in vegetative tissues and developing pods during development and potential role in the recycling of sulphur within the crop. *Annals of Applied Biology*, 124(3), 531-542.
- Fieldsend, J., & Milford, G. F. J. (1994b). Changes in glucosinolates during crop development in single-and double-low genotypes of winter oilseed rape (*Brassica napus*): II. Profiles and tissue-water concentrations in vegetative tissues and developing pods. *Annals of Applied Biology*, 124(3), 543-555.
- Freier, B., Sellmann, J., Strassemeyer, J., Schwarz, J., Klocke, B., Kehlenbeck, H., & Zornbach, W. (2014). Netz Vergleichsbetriebe Pflanzenschutz-Jahresbericht 2012-Analyse der Ergebnisse der Jahre 2007 bis 2012. *Berichte aus dem Julius-Kühn-Institut*, (172), 1-111.
- Frerigmann, H., Böttcher, C., Baatout, D., & Gigolashvili, T. (2012). Glucosinolates are produced in trichomes of *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in Plant Science*, 3.
- Frerigmann, H., & Gigolashvili, T. (2014). MYB34, MYB51 and MYB122 Distinctly Regulate Indolic Glucosinolate Biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant*, 7(5), 814-828.
- Friedt, W., & Snowdon, R. (2010). Oilseed rape. In *Oil crops* (pp. 91-126). Springer New York.
- Ganal, M. W., Polley, A., Graner, E. M., Plieske, J., Wieseke, R., Luerksen, H., & Durstewitz, G. (2012). Large SNP arrays for genotyping in crop plants. *Journal of Biosciences*, 37(5), 821-828.

- Giamoustaris, A., & Mithen, R. (1995). The effect of modifying the glucosinolate content of leaves of oilseed rape (*Brassica napus* ssp. *oleifera*) on its interaction with specialist and generalist pests. *Annals of Applied Biology*, 126(2), 347-363.
- Giamoustaris, A., & Mithen, R. (1997). Glucosinolates and disease resistance in oilseed rape (*Brassica napus* ssp. *oleifera*). *Plant Pathology*, 46(2), 271-275.
- Gigolashvili, T., Yatusevich, R., Berger, B., Müller, C., & Flügge, U. I. (2007). The R2R3-MYB transcription factor HAG1/MYB28 is a regulator of methionine-derived glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 51(2), 247-261.
- Gigolashvili, T., Engqvist, M., Yatusevich, R., Müller, C., & Flügge, U. I. (2008). HAG2/MYB76 and HAG3/MYB29 exert a specific and coordinated control on the regulation of aliphatic glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, 177(3), 627-642.
- Gigolashvili, T., Berger, B., & Flügge, U. I. (2009). Specific and coordinated control of indolic and aliphatic glucosinolate biosynthesis by R2R3-MYB transcription factors in *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry Reviews*, 8(1), 3-13.
- Girke, A. (2002). Neue Genpools aus resynthetisiertem Raps (*Brassica napus* L.) für die Hybridzüchtung. Dissertation: Georg-August-Universität Göttingen.
<http://hdl.handle.net/11858/00-1735-0000-0006-AEB2-3>
- Gland, A. (1982). Gehalt und Muster der Glucosinolate in Samen von resynthetisierten Rapsformen. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*, 88, 242-254.
- Gols, R., & Harvey, J. A. (2009). Plant-mediated effects in the Brassicaceae on the performance and behaviour of parasitoids. *Phytochemistry Reviews*, 8(1), 187-206.
- Grob, K., & Matile, P. H. (1979). Vacuolar location of glucosinolates in horseradish root cells. *Plant Science Letters*, 14(4), 327-335.
- Grubb, C. D., & Abel, S. (2006). Glucosinolate metabolism and its control. *Trends in Plant Science*, 11(2), 89-100.
- Günthard, E. (1949): Beiträge zur Lebensweise und Bekämpfung von *Ceutorrhynchus quadridens* Panz. und *Ceutorrhynchus napi* Gyll. mit Beobachtungen an weiteren Kohl- und Rapschädlingen. Mitt. Schweiz. Entomol. Ges. 22, 441-591.
- Halkier, B. A., & Gershenzon, J. (2006). Biology and biochemistry of glucosinolates. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 57, 303-333.
- Han, B., Zhang, Z., & Fang, Y. (2001). Electrophysiology and behavior feedback of diamondback moth, *Plutella xylostella*, to volatile secondary metabolites emitted by Chinese cabbage. *Chinese Science Bulletin -English Edition-*, 46(24), 2086-2088.
- Harper, A. L., Trick, M., Higgins, J., Fraser, F., Clissold, L., Wells, R., ... & Bancroft, I. (2012). Associative transcriptomics of traits in the polyploid crop species *Brassica napus*. *Nature Biotechnology*, 30(8), 798-802.

- Hasan, M., Friedt, W., Pons-Kühnemann, J., Freitag, N. M., Link, K., & Snowdon, R. J. (2008). Association of gene-linked SSR markers to seed glucosinolate content in oilseed rape (*Brassica napus* ssp. *napus*). *Theoretical and Applied Genetics*, 116(8), 1035-1049.
- Hayward, A., Morgan, J. D., & Edwards, D. (2012). Special Issue: Reviews; SNP discovery and applications in *Brassica napus*. *Journal of Plant Biotechnology*, 39(1), 49-61.
- Herrmann, M. (1992). *Die Einlagerung von Indolglucosinolaten in den reifenden Rapssamen (Brassica napus)*. Dissertation Cuvillier Verlag Göttingen.
- Hilker, M., & Meiners, T. (2006). Early herbivore alert: insect eggs induce plant defense. *Journal of Chemical Ecology*, 32(7), 1379-1397.
- Hirai, M. Y., Sugiyama, K., Sawada, Y., Tohge, T., Obayashi, T., Suzuki, A., ... & Saito, K. (2007). Omics-based identification of Arabidopsis Myb transcription factors regulating aliphatic glucosinolate biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(15), 6478-6483.
- Hopkins, R. J., Griffiths, D. W., Birch, A. N. E., & McKinlay, R. G. (1998). Influence of increasing herbivore pressure on modification of glucosinolate content of swedes (*Brassica napus* spp. *rapifera*). *Journal of Chemical Ecology*, 24(12), 2003-2019.
- Hopkins, R. J., van Dam, N. M., & Van Loon, J. J. (2009). Role of glucosinolates in insect-plant relationships and multitrophic interactions. *Annual Review of Entomology*, 54, 57-83.
- Höglund, A. S., Lenman, M., Falk, A., & Rask, L. (1991). Distribution of myrosinase in rapeseed tissues. *Plant Physiology*, 95(1), 213-221.
- Howe, G. A., & Jander, G. (2008). Plant immunity to insect herbivores. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 41-66.
- Howell, P. M., Sharpe, A. G., & Lydiate, D. J. (2003). Homoeologous loci control the accumulation of seed glucosinolates in oilseed rape (*Brassica napus*). *Genome*, 46(3), 454-460.
- Husebye, H., Chadchawan, S., Winge, P., Thangstad, O. P., & Bones, A. M. (2002). Guard cell- and phloem idioblast-specific expression of thioglucoside glucohydrolase 1 (myrosinase) in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 128(4), 1180-1188.
- Iqbal, M.C.M., & Möllers, C. (2003). Uptake and distribution of sinigrin in microspore derived embryos of *Brassica napus* L. *Journal of Plant Physiology*, 160(8), 961-966.
- Jander, G. (2014). Revisiting Plant-Herbivore Co-Evolution in the Molecular Biology Era. *Annual Plant Reviews 47: Insect-Plant Interactions*, 361-384.
- Jönsson, M., Lindkvist, A., & Anderson, P. (2005). Behavioural responses in three ichneumonid pollen beetle parasitoids to volatiles emitted from different phenological stages of oilseed rape. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 115(3), 363-369.
- Junk, J., Eickermann, M., Görgen, K., Beyer, M., & Hoffmann, L. (2012). Ensemble-based analysis of regional climate change effects on the cabbage stem weevil (*Ceutorhynchus pallidactylus* (Mrsh.)) in winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). *The Journal of Agricultural Science*, 150(02), 191-202.

- Juran, I., Gothlin Čuljak, T., & Grubišić, D. (2011). Rape stem weevil (*Ceutorhynchus napi* Gyll. 1837) and cabbage stem weevil (*Ceutorhynchus pallidactylus* Marsh. 1802)(Coleoptera: Curculionidae) – important oilseed rape pests. *Agriculturae Conspectus Scientificus (ACS)*, 76(2), 93-100.
- Jürges, K. (1982). Möglichkeiten einer Auslese auf Glucosinolat-Armut in der Grünmasse von *Brassica napus*, und *Brassica campestris*. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*, 89, 74–87.
- Kelly, P. J., Bones, A., & Rossiter, J. T. (1998). Sub-cellular immunolocalization of the glucosinolate sinigrin in seedlings of *Brassica juncea*. *Planta*, 206(3), 370-377.
- Kim, J. H., & Jander, G. (2007). *Myzus persicae* (green peach aphid) feeding on *Arabidopsis* induces the formation of a deterrent indole glucosinolate. *The Plant Journal*, 49(6), 1008-1019.
- Kissen, R., Rossiter, J. T., & Bones, A. M. (2009). The ‘mustard oil bomb’: not so easy to assemble?! Localization, expression and distribution of the components of the myrosinase enzyme system. *Phytochemistry Reviews*, 8(1), 69-86.
- Kliebenstein, D. J., Lambrix, V. M., Reichelt, M., Gershenzon, J., & Mitchell-Olds, T. (2001). Gene duplication in the diversification of secondary metabolism: Tandem 2-oxoglutarate-dependent dioxygenases control glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis*. *The Plant Cell Online*, 13(3), 681-693.
- Kliebenstein, D. J., Kroymann, J., & Mitchell-Olds, T. (2005). The glucosinolate–myrosinase system in an ecological and evolutionary context. *Current Opinion in Plant Biology*, 8(3), 264-271.
- Kliebenstein, D. J., DAuria, J. C., Behere, A. S., Kim, J. H., Gunderson, K. L., Breen, J. N., ... & Jander, G. (2007). Characterization of seed-specific benzoyloxyglucosinolate mutations in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 51(6), 1062-1076.
- Kliebenstein, D. J. (2009). A quantitative genetics and ecological model system: understanding the aliphatic glucosinolate biosynthetic network via QTLs. *Phytochemistry Reviews*, 8(1), 243-254.
- Kliebenstein, D. J. (2014a). Orchestration of plant defense systems: genes to populations. *Trends in Plant Science*, 19(4), 250-255.
- Kliebenstein, D. J. (2014b). Synthetic biology of metabolism: using natural variation to reverse engineer systems. *Current Opinion in Plant Biology*, 19, 20-26.
- Kondra, Z. P., & Stefansson, B. R. (1970). Inheritance of the major glucosinolates of rapeseed (*Brassica napus*) meal. *Canadian Journal of Plant Science*, 50(6), 643-647.
- Koroleva, O. A., Davies, A., Deeken, R., Thorpe, M. R., Tomos, A. D., & Hedrich, R. (2000). Identification of a new glucosinolate-rich cell type in *Arabidopsis* flower stalk. *Plant Physiology*, 124(2), 599-608.
- Koroleva, O. A., Gibson, T. M., Cramer, R., & Stain, C. (2010). Glucosinolate-accumulating S-cells in *Arabidopsis* leaves and flower stalks undergo programmed cell death at early stages of differentiation. *The Plant Journal*, 64(3), 456-469.

- Koritsas, V. M., Lewis, J. A., & Fenwick, G. R. (1991). Glucosinolate responses of oilseed rape, mustard and kale to mechanical wounding and infestation by cabbage stem flea beetle (*Psylliodes chrysocephala*). *Annals of Applied Biology*, 118(1), 209-221.
- Kos, M., Houshyani, B., Wietsma, R., Kabouw, P., Vet, L. E., van Loon, J. J., & Dicke, M. (2012). Effects of glucosinolates on a generalist and specialist leaf-chewing herbivore and an associated parasitoid. *Phytochemistry*, 77, 162-170.
- Krause, U., Koopmann, B., & Ulber, B. (2006). Impact of rape stem weevil, *Ceutorhynchus napi*, on the early stem infections of oilseed rape by *Phoma lingam*. *IOBC WPRS BULLETIN*, 29(7), 323.
- Kräling, K., Röbbelen, G., Thies, W., Herrmann, M., & Ahmadi, M. R. (1990). Variation of seed glucosinolates in lines of *Brassica napus*. *Plant Breeding*, 105(1), 33-39.
- Krzywinski, M., Schein, J., Birol, I., Connors, J., Gascoyne, R., Horsman, D., ... & Marra, M. A. (2009). Circos: an information aesthetic for comparative genomics. *Genome research*, 19(9), 1639-1645.
- Kuchernig, J. C., Backenköhler, A., Lübbecke, M., Burow, M., & Wittstock, U. (2011). A thiocyanate-forming protein generates multiple products upon allylglucosinolate breakdown in *Thlaspi arvense*. *Phytochemistry*, 72(14), 1699-1709.
- Lambdon, P. W., Hassall, M., Boar, R. R., & Mithen, R. (2003). Asynchrony in the nitrogen and glucosinolate leaf-age profiles of *Brassica*: is this a defensive strategy against generalist herbivores? *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 97(1), 205-214.
- Landschreiber, M. (2007). Schädlinge im Rapsanbau verzeihen keine Nachlässigkeit: Großer Stängelrüssler und gefleckter Kohltriebrüssler. *Landpost*, 03/2007, 24-26
- Lazzeri, L., Curto, G., Leoni, O., & Dallavalle, E. (2004). Effects of glucosinolates and their enzymatic hydrolysis products via myrosinase on the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid et White) Chitw. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(22), 6703-6707.
- Lee, R. W., Malchev, I. T., Rajcan, I., & Kott, L. S. (2014). Identification of putative quantitative trait loci associated with a flavonoid related to resistance to cabbage seedpod weevil (*Ceutorhynchus obstrictus*) in canola derived from an intergeneric cross, *Sinapis alba* × *Brassica napus*. *Theoretical and Applied Genetics*, 127(2), 419-428.
- Lein, K. A. (1972a). Genetische und physiologische Untersuchungen zur Bildung von Glucosinolaten in Rapssamen: II. Lokalisierung des Hauptbiosyntheseortes durch Pfröpfungen. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 67(4), 333-342.
- Lein, K. A. (1972b). Genetische und physiologische Untersuchungen zur Bildung von Glucosinolaten in Rapssamen: I. Zur Vererbung der Glucosinolatarmut. *Z. Pflanzenzücht.* 243-256.
- Li, Y., Kiddle, G., Bennet, R., Doughty, K., & Wallsgrove, R. (1999a). Variation in the glucosinolate content of vegetative tissues of Chinese lines of *Brassica napus* L. *Annals of Applied Biology*, 134(1), 131-136.

- Li, Y., Kiddle, G., Bennett, R. N., & Wallsgrove, R. M. (1999b). Local and systemic changes in glucosinolates in Chinese and European cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.) after inoculation with *Sclerotinia sclerotiorum* (stem rot). *Annals of Applied Biology*, 134(1), 45-58.
- Li, Q., Eigenbrode, S. D., Stringam, G. R., & Thiagarajah, M. R. (2000). Feeding and growth of *Plutella xylostella* and *Spodoptera eridania* on *Brassica juncea* with varying glucosinolate concentrations and myrosinase activities. *Journal of Chemical Ecology*, 26(10), 2401-2419.
- Li, F., Chen, B., Xu, K., Wu, J., Song, W., Bancroft, I., ... & Wu, X. (2014). Genome-wide association study dissects the genetic architecture of seed weight and seed quality in rapeseed (*Brassica napus* L.). *DNA research*, 21(4), 355-367.
- Loebers, A., Müller-Uri, F., & Kreis, W. (2014). A young root-specific gene (*ArMY2*) from horseradish encoding a MYR II myrosinase with kinetic preference for the root-specific glucosinolate gluconasturtiin. *Phytochemistry*, 99, 26-35.
- Lou, P., Zhao, J., He, H., Hanhart, C., Pino Del Carpio, D., Verkerk, R., ... & Bonnema, G. (2008). Quantitative trait loci for glucosinolate accumulation in *Brassica rapa* leaves. *New Phytologist*, 179(4), 1017-1032.
- Lu, G., Harper, A. L., Trick, M., Morgan, C., Fraser, F., O'Neill, C., & Bancroft, I. (2014). Associative transcriptomics study dissects the genetic architecture of seed glucosinolate content in *Brassica napus*. *DNA Research*, 21(6), 613-625.
- Madsen, S. R., Olsen, C. E., Nour-Eldin, H. H., & Halkier, B. A. (2014). Elucidating the role of transport processes in leaf glucosinolate distribution. *Plant physiology*, 166(3), 1450-1462.
- Magrath, R., Herron, C., Giamoustaris, A., & Mithen, R. (1993). The inheritance of aliphatic glucosinolates in *Brassica napus*. *Plant Breeding*, 111(1), 55-72.
- Magrath, R., Bano, F., Morgner, M., Parkin, I., Sharpe, A., Lister, C. & Mithen, A. (1994). Genetics of aliphatic glucosinolates. I. Side chain elongation in *Brassica napus* and. *Heredity*, 72, 290-299.
- Marazzi, C., Patrian, B., & Städler, E. (2004). Secondary metabolites of the leaf surface affected by sulphur fertilisation and perceived by the diamondback moth. *Chemoecology*, 14(2), 81-86.
- McCall, A. C., & Fordyce, J. A. (2010). Can optimal defence theory be used to predict the distribution of plant chemical defences?. *Journal of Ecology*, 98(5), 985-992.
- McKey, D. (1974). Adaptive patterns in alkaloid physiology. *American Naturalist*, 305-320.
- MacLeod, A. J., & Rossiter, J. T. (1986). Isolation and examination of thioglucoside glucohydrolase from seeds of *Brassica napus*. *Phytochemistry*, 25(5), 1047-1051.
- Mewis, I., Ulrich, C., & Schnitzler, W. H. (2002). The role of glucosinolates and their hydrolysis products in oviposition and host-plant finding by cabbage webworm, *Hellula undalis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 105(2), 129-139.

- Mewis, I., Appel, H. M., Hom, A., Raina, R., & Schultz, J. C. (2005). Major signaling pathways modulate Arabidopsis glucosinolate accumulation and response to both phloem-feeding and chewing insects. *Plant Physiology*, 138(2), 1149-1162.
- Mikkelsen, M. D., Hansen, C. H., Wittstock, U., & Halkier, B. A. (2000). Cytochrome P450 CYP79B2 from Arabidopsis catalyzes the conversion of tryptophan to indole-3-acetaldoxime, a precursor of indole glucosinolates and indole-3-acetic acid. *Journal of Biological Chemistry*, 275(43), 33712-33717.
- Miles, C. I., Del Campo, M. L., & Renwick, J. A. A. (2005). Behavioral and chemosensory responses to a host recognition cue by larvae of *Pieris rapae*. *Journal of Comparative Physiology*, 191(2), 147-155.
- Milford, G. F. J., Fieldsend, J. K., Porter, A. J. R., Rawlinson, C. J., Evans, E. J., & Bilsborrow, P. E. (1989). Changes in glucosinolate concentrations during the vegetative growth of single and double-low cultivars of winter oilseed rape. *Aspects of Applied Biology*, 23, 83-90.
- Milford, G. F. J., & Evans, E. J. (1991). Factors causing variation in glucosinolates in oilseed rape. *Outlook on Agriculture*, 20(1), 31-37.
- Mithen, R. (1992). Leaf glucosinolate profiles and their relationship to pest and disease resistance in oilseed rape. *Euphytica*, 63(1-2), 71-83.
- Mithen, R. (2001). Glucosinolates—biochemistry, genetics and biological activity. *Plant Growth Regulation*, 34(1), 91-103.
- Mithen, R., Bennett, R., & Marquez, J. (2010). Glucosinolate biochemical diversity and innovation in the Brassicales. *Phytochemistry*, 71(17), 2074-2086.
- Moyes, C. L., & Raybould, A. F. (2001). The role of spatial scale and intraspecific variation in secondary chemistry in host-plant location by *Ceutorhynchus assimilis* (Coleoptera: Curculionidae). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 268(1476), 1567-1573.
- Müller, C. (2009). Role of glucosinolates in plant invasiveness. *Phytochemistry Reviews*, 8(1), 227-242.
- Nauen, R., Zimmer, C. T., Andrews, M., Slater, R., Bass, C., Ekbom, B., ... & Williamson, M. S. (2012). Target-site resistance to pyrethroids in European populations of pollen beetle *Meligethes aeneus* F. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103(3), 173-180.
- Nielsen, J. K., Larsen, L. M., & Sørensen, H. (1979). Host plant selection of the horseradish flea beetle *Phyllotreta armoraciae* (Coleoptera: Chrysomelidae): identification of two flavonol glycosides stimulating feeding in combination with glucosinolates. *Entomologia Experimentalis et applicata*, 26(1), 40-48.
- Nour-Eldin, H. H., & Halkier, B. A. (2009). Piecing together the transport pathway of aliphatic glucosinolates. *Phytochemistry Reviews*, 8(1), 53-67.
- Nour-Eldin, H. H., Andersen, T. G., Burow, M., Madsen, S. R., Jørgensen, M. E., Olsen, C. E., ... & Halkier, B. A. (2012). NRT/PTR transporters are essential for translocation of glucosinolate defence compounds to seeds. *Nature*, 488(7412), 531-534.

- Nour-Eldin, H. H., & Halkier, B. A. (2013). The emerging field of transport engineering of plant specialized metabolites. *Current Opinion in Biotechnology*, 24(2), 263-270.
- Nottingham, S. F., Hardie, J., Dawson, G. W., Hick, A. J., Pickett, J. A., Wadhams, L. J., & Woodcock, C. M. (1991). Behavioral and electrophysiological responses of aphids to host and nonhost plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 17(6), 1231-1242.
- Ohnmeiss, T. E., & Baldwin, I. T. (2000). Optimal defense theory predicts the ontogeny of an induced nicotine defense. *Ecology*, 81(7), 1765-1783.
- Petersen, B., Chen, S., Hansen, C., Olsen, C., & Halkier, B. (2002). Composition and content of glucosinolates in developing *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 214(4), 562-571.
- Pfalz, M., Mikkelsen, M. D., Bednarek, P., Olsen, C. E., Halkier, B. A., & Kroymann, J. (2011). Metabolic engineering in *Nicotiana benthamiana* reveals key enzyme functions in *Arabidopsis* indole glucosinolate modification. *The Plant Cell Online*, 23(2), 716-729.
- Poelman, E. H., & Dicke, M. (2014). Plant-mediated Interactions among Insects within a Community Ecological Perspective. *Annual Plant Reviews*, 47, 309-338.
- Pope, T. W., Kissen, R., Grant, M., Pickett, J. A., Rossiter, J. T., & Powell, G. (2008). Comparative innate responses of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* to alkenyl glucosinolate derived isothiocyanates, nitriles, and epithionitriles. *Journal of Chemical Ecology*, 34(10), 1302-1310.
- Porter, A. J. R., Morton, A. M., Kiddle, G., Doughty, K. J., & Wallsgrove, R. M. (1991). Variation in the glucosinolate content of oilseed rape (*Brassica napus* L.) leaves. *Annals of Applied Biology*, 118(2), 461-467.
- Quijada, P. A., Udall, J. A., Lambert, B., & Osborn, T. C. (2006). Quantitative trait analysis of seed yield and other complex traits in hybrid spring rapeseed (*Brassica napus* L.): 1. Identification of genomic regions from winter germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, 113(3), 549-561.
- R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. <http://www.R-project.org/>
- Rask, L., Andréasson, E., Ekbom, B., Eriksson, S., Pontoppidan, B., & Meijer, J. (2000). Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. In *Plant Molecular Evolution* (pp. 93-113). Springer Netherlands.
- Ratzka, A., Vogel, H., Kliebenstein, D. J., Mitchell-Olds, T., & Kroymann, J. (2002). Disarming the mustard oil bomb. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(17), 11223-11228.
- Renwick, J. A. A., Radke, C. D., Sachdev-Gupta, K., & Städler, E. (1992). Leaf surface chemicals stimulating oviposition by *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) on cabbage. *Chemoecology*, 3(1), 33-38.
- Renwick, J. A. A. (2002). The chemical world of crucivores: lures, treats and traps. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 104(1), 35-42.

- Renwick, J. A. A., Haribal, M., Gouinguéné, S., & Städler, E. (2006). Isothiocyanates stimulating oviposition by the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Journal of Chemical Ecology*, 32(4), 755-766.
- Roessingh, P., Städler, E., Fenwick, G. R., Lewis, J. A., Nielsen, J. K., Hurter, J., & Ramp, T. (1992). Oviposition and tarsal chemoreceptors of the cabbage root fly are stimulated by glucosinolates and host plant extracts. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 65(3), 267-282.
- Roessingh, P., Städler, E., Baur, R., Hurter, J., & Ramp, T. (1997). Tarsal chemoreceptors and oviposition behaviour of the cabbage root fly (*Delia radicum*) sensitive to fractions and new compounds of host-leaf surface extracts. *Physiological Entomology*, 22(2), 140-148.
- Rosa, E. A., Heaney, R. K., Portas, C. A., & Fenwick, G. R. (1996). Changes in Glucosinolate Concentrations in Brassica Crops (*B. oleracea* and *B. napus*) throughout Growing Seasons. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 71(2), 237-244.
- Rosa, E. A. S., Heaney, R. K., Fenwick, G. R., & Portas, C. A. M. (1997). Glucosinolates in crop plants. *Horticultural Reviews*, 19, 99-215.
- Rosa, E. A. (1999). Chemical composition. In *Developments in Plant Genetics and Breeding*, 4, 315-357.
- Rothe, R., Hartung, H., Marks, G., Bergmann, H., Götz, R., & Schöne, F. (2004). Glucosinolate contents in vegetative tissues of winter rape cultivars. *Journal of Applied Botany*, 78(1), 41-47.
- Rücker, B., & Röbbelen, G. (1994). Inheritance of total and individual glucosinolate contents in seeds of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Plant Breeding*, 113(3), 206-216.
- Sarsby, J., Towers, M. W., Stain, C., Cramer, R., & Koroleva, O. A. (2012). Mass spectrometry imaging of glucosinolates in *Arabidopsis* flowers and siliques. *Phytochemistry*, 77, 110-118.
- Schäfer-Kösterke, H. L. (2015). *Effect of plant traits on host selection and performance of rape stem weevil (Ceutorhynchus napi Gyll.) (Col.: Curculionidae) on resynthesized lines and cultivars of oilseed rape (Brassica napus L.)*. Dissertation: Georg-August-Universität Göttingen, 2014. <http://hdl.handle.net/11858/00-1735-0000-0022-6037-7>
- Schilling, W. (1991). *Entwicklung von Rapsgenotypen mit 00-Qualitaet im Korn und differenzierten Glucosinolat-Gehalten in der Grünmasse*. Dissertation: Justus-Liebig-Universität Giessen.
- Schilling, W., & Friedt, W. (1991). Breeding of 00-rape seed (*Brassica napus* L.) with differential glucosinolate content in the leaves. In *Proceedings of the 8th International Rapeseed Conference, Saskatoon, Canada*, 250-255.
- Schnug, E., & Ceynowa, J. (1990). Phytopathological aspects of glucosinolates in oilseed rape. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 165(5), 319-328.

- Schonhof, I., Blankenburg, D., Müller, S., & Krumbein, A. (2007). Sulfur and nitrogen supply influence growth, product appearance, and glucosinolate concentration of broccoli. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 170(1), 65-72.
- Schoonhoven, L. M., Van Loon, J. J., & Dicke, M. (2005). *Insect-plant biology* (No. Ed. 2). Oxford University Press, 2005.
- Schweizer, F., Fernández-Calvo, P., Zander, M., Diez-Diaz, M., Fonseca, S., Glauser, G., ... & Reymond, P. (2013). Arabidopsis basic helix-loop-helix transcription factors MYC2, MYC3, and MYC4 regulate glucosinolate biosynthesis, insect performance, and feeding behavior. *The Plant Cell Online*, 25(8), 3117-3132.
- Shroff, R., Vergara, F., Muck, A., Svatoš, A., & Gershenzon, J. (2008). Nonuniform distribution of glucosinolates in Arabidopsis thaliana leaves has important consequences for plant defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(16), 6196-6201.
- Siemens, D. H., & Mitchell-Olds, T. (1996). Glucosinolates and herbivory by specialists (Coleoptera: Chrysomelidae, Lepidoptera: Plutellidae): consequences of concentration and induced resistance. *Environmental Entomology*, 25(6), 1344-1353.
- Smart, L. E., & Blight, M. M. (2000). Response of the pollen beetle, *Meligethes aeneus*, to traps baited with volatiles from oilseed rape, *Brassica napus*. *Journal of Chemical Ecology*, 26(4), 1051-1064.
- Smith, W. H. M., & Griffiths, D. W. (1988). A time-course study of glucosinolates in the ontogeny of forage rape (*Brassica napus* L). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 43(2), 121-134.
- Sonderby, I. E., Geu-Flores, F., & Halkier, B. A. (2010a). Biosynthesis of glucosinolates—gene discovery and beyond. *Trends in Plant Science*, 15(5), 283-290.
- Sonderby, I. E., Burow, M., Rowe, H. C., Kliebenstein, D. J., & Halkier, B. A. (2010b). A complex interplay of three R2R3 MYB transcription factors determines the profile of aliphatic glucosinolates in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 153(1), 348-363.
- Sotelo, T., Soengas, P., Velasco, P., Rodríguez, V. M., & Cartea, M. E. (2014). Identification of Metabolic QTLs and Candidate Genes for Glucosinolate Synthesis in *Brassica oleracea* Leaves, Seeds and Flower Buds. *PloS One*, 9(3), e91428.
- Spencer, J. L. (1996). Waxes enhance *Plutella xylostella* oviposition in response to sinigrin and cabbage homogenates. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 81(2), 165-173.
- Stamp, N. (2003). Out of the quagmire of plant defense hypotheses. *The Quarterly Review of Biology*, 78(1), 23-55.
- Städler, E., Renwick, J. A. A., Radke, C. D., & Sachdev-Gupta, K. (1995). Tarsal contact chemoreceptor response to glucosinolates and cardenolides mediating oviposition in *Pieris* rape. *Physiological Entomology*, 20(2), 175-187.
- Städler, E., Baur, R., & De Jong, R. (2002). Sensory basis of host-plant selection: In search of the "fingerprints" related to oviposition of the cabbage root fly. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 48, 265-280.

- Städler, E., & Reifenrath, K. (2009). Glucosinolates on the leaf surface perceived by insect herbivores: review of ambiguous results and new investigations. *Phytochemistry Reviews*, 8(1), 207-225.
- Steinbrenner, A. D., Agerbirk, N., Oriens, C. M., & Chew, F. S. (2012). Transient abiotic stresses lead to latent defense and reproductive responses over the *Brassica rapa* life cycle. *Chemoecology*, 22(4), 239-250.
- Stephani, V. (1985). *Selektion auf Gehalt und Zusammensetzung der Glucosinolate in der Grünmasse von Raps (Brassica napus L.)*. Dissertation: Georg-August-Universität Göttingen, 1985.
- Strauss, S. Y., Irwin, R. E., & Lambrix, V. M. (2004). Optimal defence theory and flower petal colour predict variation in the secondary chemistry of wild radish. *Journal of Ecology*, 92(1), 132-141.
- Textor, S., & Gershenzon, J. (2009). Herbivore induction of the glucosinolate–myrosinase defense system: major trends, biochemical bases and ecological significance. *Phytochemistry Reviews*, 8(1), 149-170.
- Thangstad, O. P., Gilde, B., Chadchawan, S., Seem, M., Husebye, H., Bradley, D., & Bones, A. M. (2004). Cell specific, cross-species expression of myrosinases in *Brassica napus*, *Arabidopsis thaliana* and *Nicotiana tabacum*. *Plant Molecular Biology*, 54(4), 597-611.
- Thies, W. (1977). Analysis of glucosinolates in seeds of rapeseed (*Brassica napus* L.): concentration of glucosinolates by ion exchange. *Z. Pflanzenzüchtung*, 79, 331-335.
- Thies, W. (1979). Detection and utilization of a glucosinolate sulfohydrolase in the edible snail, *Helix pomatia*. *Naturwissenschaften*, 66(7), 364-365.
- Toroser, D., Thormann, C. E., Osborn, T. C., & Mithen, R. (1995). RFLP mapping of quantitative trait loci controlling seed aliphatic-glucosinolate content in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 91(5), 802-808.
- Tripathi, M. K., & Mishra, A. S. (2007). Glucosinolates in animal nutrition: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 132(1), 1-27.
- Utz, H. F. (2005). PLABSTAT, Computerprogramm zur statistischen Analyse von pflanzenzüchterischen Experimenten, Version 3Bwin of 2010-02-03. Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik der Universität Hohenheim.
<http://plant-breeding.uni-hohenheim.de/software.html>
- Uzunova, M., Ecke, W., Weissleder, K., & Röbbelen, G. (1995). Mapping the genome of rapeseed (*Brassica napus* L.). I. Construction of an RFLP linkage map and localization of QTLs for seed glucosinolate content. *Theoretical and Applied Genetics*, 90(2), 194-204.
- Van Dam, N. M., De Jong, T. J., Iwasa, Y., & Kubo, T. (1996). Optimal distribution of defences: are plants smart investors?. *Functional Ecology*, 128-136.
- Van Dam, N. M., Tytgat, T. O., & Kirkegaard, J. A. (2009). Root and shoot glucosinolates: a comparison of their diversity, function and interactions in natural and managed ecosystems. *Phytochemistry Reviews*, 8(1), 171-186.

- Van Loon, J. J., Blaakmeer, A., Griepink, F. C., van Beek, T. A., Schoonhoven, L. M., & de Groot, A. (1992). Leaf surface compound from *Brassica oleracea* (Cruciferae) induces oviposition by *Pieris brassicae* (Lepidoptera: Pieridae). *Chemoecology*, 3(1), 39-44.
- Van Loon, J. J., Wang, C. Z., Nielsen, J. K., Gols, R., & Qiu, Y. T. (2002). Flavonoids from cabbage are feeding stimulants for diamondback moth larvae additional to glucosinolates: chemoreception and behaviour. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 104(1), 27-34.
- Van Os, H., Stam, P., Visser, R. G., & Van Eck, H. J. (2005). RECORD: a novel method for ordering loci on a genetic linkage map. *Theoretical and Applied Genetics*, 112(1), 30-40.
- Velasco, L., & Becker, H. C. (2000). Variability for seed glucosinolates in a germplasm collection of the genus *Brassica*. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 47(3), 231-238.
- Velasco, P., Cartea, M. E., González, C., Vilar, M., & Ordás, A. (2007). Factors affecting the glucosinolate content of kale (*Brassica oleracea* acephala group). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 955-962.
- Velasco, P., Soengas, P., Vilar, M., Cartea, M. E., & del Rio, M. (2008). Comparison of glucosinolate profiles in leaf and seed tissues of different *Brassica napus* crops. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 133(4), 551-558.
- Verhage, A., van Wees, S. C., & Pieterse, C. M. (2010). Plant immunity: it's the hormones talking, but what do they say?. *Plant Physiology*, 154(2), 536-540.
- Voorrips, R.E., 2002. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *The Journal of Heredity* 93 (1): 77-78.
- Wallsgrave, R., Bennett, R., Kiddle, G., Bartlett, E., & Ludwig-Mueller, J. (1999). Glucosinolate biosynthesis and pest/disease interactions. In: *Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress, Canberra, Australia, 1999*.
http://www.regional.org.au/au/gcirc/3/393.htm#P1_56
- Wang, X., Wang, H., Wang, J., Sun, R., Wu, J., Liu, S., ... & Abe, H. (2011). The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa*. *Nature Genetics*, 43(10), 1035-1039.
- Wang S., C. J. Basten, and Z.-B. Zeng (2012). Windows QTL Cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC.
<http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>
- Watanabe, M., Balazadeh, S., Tohge, T., Erban, A., Giavalisco, P., Kopka, J., ... & Hoefgen, R. (2013). Comprehensive dissection of spatiotemporal metabolic shifts in primary, secondary, and lipid metabolism during developmental senescence in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 162(3), 1290-1310.
- Wathelet, J. P. (Ed.). (1987). *Glucosinolates in rapeseeds: Analytical aspects*. Martinus Nijhoff, Kluwer Academic, Dordrecht/Boston/Lancaster.
- Wathelet, J. P., Iori, R., Leoni, O., Quinsac, A., & Palmieri, S. (2004). Guidelines for glucosinolate analysis in green tissues used for biofumigation. *Agroindustria*, 3(3).

- Watzl, B. (2001). Glucosinolates. *Ernährungs-Umschau*, 48(8), 330-333.
- Wentzell, A. M., & Kliebenstein, D. J. (2008). Genotype, age, tissue, and environment regulate the structural outcome of glucosinolate activation. *Plant Physiology*, 147(1), 415-428.
- Werteker, M., & Kramreither, G. (2002). Sorten-und Umwelteinflüsse auf das Glucosinolat-Spektrum von Körnerraps. *Die Bodenkultur*, 153(53), 3.
- Williams, I. H. (2010). The major insect pests of oilseed rape in Europe and their management: an overview. In *Biocontrol-based integrated management of oilseed rape pests* (pp. 1-43). Springer Netherlands.
- Winde, I., & Wittstock, U. (2011). Insect herbivore counteradaptations to the plant glucosinolate-myrosinase system. *Phytochemistry*, 72(13), 1566-1575.
- Wink, M. (2011). *Annual Plant Reviews, Biochemistry of Plant Secondary Metabolism* (Vol. 40). John Wiley & Sons.
- Wittstock, U., & Halkier, B. A. (2002). Glucosinolate research in the *Arabidopsis* era. *Trends in Plant Science*, 7(6), 263-270.
- Wittstock, U., Agerbirk, N., Stauber, E. J., Olsen, C. E., Hippler, M., Mitchell-Olds, T., ... & Vogel, H. (2004). Successful herbivore attack due to metabolic diversion of a plant chemical defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(14), 4859-4864.
- Wittstock, U., & Burow, M. (2007). Tipping the Scales - Specifier Proteins in Glucosinolate Hydrolysis. *IUBMB Life*, 59(12), 744-751.
- Yan, X., & Chen, S. (2007). Regulation of plant glucosinolate metabolism. *Planta*, 226(6), 1343-1352.
- Yatusevich, R., Mugford, S. G., Matthewman, C., Gigolashvili, T., Frerigmann, H., Delaney, S., ... & Kopriva, S. (2010). Genes of primary sulfate assimilation are part of the glucosinolate biosynthetic network in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 62(1), 1-11.
- Yiu, S. H., Collins, F. W., Fulcher, R. G., & Altosaar, I. (1984). Chromatographic and microscopic detection of glucosinolates in rapeseed using N, 2, 6-trichloro-p-benzoquinoneimine. *Canadian Journal of Plant Science*, 64(4), 869-878.
- Zangerl, A. R., & Bazzaz, F. A. (1992). Theory and pattern in plant defense allocation. *Plant resistance to herbivores and pathogens*. University of Chicago Press, Chicago, 363-391.
- Zimmer, C. T., Müller, A., Heimbach, U., & Nauen, R. (2014). Target-site resistance to pyrethroid insecticides in German populations of the cabbage stem flea beetle, *Psylliodes chrysocephala* L.(Coleoptera: Chrysomelidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 108, 1-7.
- Züst, T., Joseph, B., Shimizu, K. K., Kliebenstein, D. J., & Turnbull, L. A. (2011). Using knockout mutants to reveal the growth costs of defensive traits. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282.

7 Anhang

Anhang 7.1: Protokoll für GSL-Analysen DNPW Abteilung Pflanzenzüchtung

Gradient HPLC-Analysen von Desulfoglucosinolaten in Raps

Schritt		Beschreibung								
1.	1-5 g	Saat mit modifizierter IKA-Mühle 10 s mahlen oder:								
2.		Saat mit Kaffeemühle Krups (KM 75) 2*4 sec mahlen								
3.	200 mg	Mahlgut in 12/75 PP-Röhrchen geben und genaues Gewicht notieren								
4.		Röhrchen 1 min im Wasserbad bei 75°C anwärmen								
	2 ml	70 % Methanol hinzugeben, Enzym wird zerstört								
5.	200µl	6 mmol Glucotropeolin in Wasser: interne Standardlösung ´ (144 mg GTL/50ml Wasser)								
6.		mit Mixomat mischen								
7.		nach 5 min und am Ende der Extraktion (nach 10 min) mischen								
8.		zentrifugieren: 5 min bei 4000 rpm								
9.		dekantieren in neue 12/75 PP-Röhrchen								
10.	2 m l	10 % Methanol zum Sediment, ins Wasserbad								
11.		Schritte 6 - 8 wiederholen								
12.		dekantieren und vereinigen der Überstände mischen								
13.		Austauschersäule mit 2ml dest. H ₂ O spülen								
14.		Aufgabe des Extraktes auf eine 20 mg Sephadexsäule								
		<table><tr><th>Menge Probenlösung in µl</th><th>Glucosinolatgehalt der Probe in µmol/g Saat</th></tr><tr><td>1000</td><td>0- 5</td></tr><tr><td>500</td><td>5 - 40</td></tr><tr><td>200</td><td>40 – 150</td></tr></table>	Menge Probenlösung in µl	Glucosinolatgehalt der Probe in µmol/g Saat	1000	0- 5	500	5 - 40	200	40 – 150
Menge Probenlösung in µl	Glucosinolatgehalt der Probe in µmol/g Saat									
1000	0- 5									
500	5 - 40									
200	40 – 150									
15.	2 x 1 ml	HPLC-Wasser								
16.	100 µl	gereinigter H-1 Sulfatase-Stammlösung (1:2,5 mit Wasser verdünnt)								
17.		Desulfatierung über Nacht bei 39°C								
18.	3 x 500 µl	HPLC-Wasser								
19.		Elution in 12/75 PP-Röhrchen auffangen und mischen								
20.	700 µl	Extrakt in Einmal-Spritze aufziehen								
21.		in Probengläschen überführen Der Extrakt ist bei -18°C mindestens 1-2 Wochen lagerfähig.								
22.	30 – 70µl	des Extraktes zur Injektion in das HPLC-Gerät								
23.	200µl	6 mol Imidazolformiat zur Regeneration der Austauschersäulen								
<u>HPLC-Bedingungen:</u>										
Gradient: 0 - 20 min 1 -> 20 % Acetonitril										
20 - 25 min 20 % Acetonitril										
25 - 27 min 20 -> 1 % Acetonitril										
27 - 35 min 1 % Acetonitril										
in Wasser, Fließgeschwindigkeit: 0,6 ml / min										
Säule: NUCLEODUR 100-3 C18 ec										
(Machery-Nagel Cat No. 760051.30)										
Detektionswellenlänge: 229 nm										

Anhang 7.1 fortgesetztRelative UV-Responsefaktoren:

Neoglucobrassicin (NEO)	0,20
4-Methoxy-Glucobrassicin (4ME)	0,25
4-Hydroxy-Glucobrassicin (4OH)	0,28
Glucobrassicin (GBC)	0,29
Glucosinalbin (SIB)	0,50
Gluconasturtiin (NAS)	0,95
Glucotropeolin (GTL)	0,95
Sinigrin (SIN)	1,00
Gluconapoleiferin (GNL)	1,00
Glucoalyssin (ALY)	1,07
Glucoiberin (IBE)	1,07
Glucoraphanin (RAA)	1,07
Progoitrin (PRO)	1,09
Gluconapin (GNA)	1,11
Glucobrassicinapin (GBN)	1,15
Glucoibervirin (IBV)	1,18

Anhang 7.2: Varianzkomponenten für Genotyp (G), Umwelt (U), GxU Interaktion (GU), Versuchsfehler und Heritabilitäten (h^2) für Glucosinolate (Abkürzungen siehe Tab. 1.1) in der Grünmasse zu zwei Terminen (T1/T2) für zwei Pflanzenteile Blatt (BL) und Stängel (ST) sowie Pflanzenlänge und BBCH-Stadium

Merkmal	Termin	Material	Varianzkomponenten						h²	
			G		U		GU			Fehler
Gesamt-GSL	T1	BL	61,24	**	35,69	**	10,74	**	1,98	97,97
		ST	111,33	**	42,34	**	17,74	**	3,07	98,16
	T2	BL	4,73	**	5,59	**	3,64	**	0,24	91,65
		ST	10,78	**	8,07	**	6,16	**	0,70	93,40
Alkenyl-GSL	T1	BL	57,46	**	25,56	**	9,65	**	1,69	98,06
		ST	96,49	**	25,27	**	15,85	**	2,42	98,14
	T2	BL	3,91	**	4,87	**	2,41	**	0,91	91,38
		ST	9,07	**	6,69	**	5,28	**	0,54	93,35
Indol-GSL	T1	BL	0,44	**	1,90	**	0,60	**	0,15	85,42
		ST	1,26	**	3,66	**	0,79	**	0,30	92,04
	T2	BL	0,03	**	0,11	**	0,01	**	0,02	86,51
		ST	0,04	**	0,24	**	0,05	**	0,02	81,50
PRO	T1	BL	10,01	**	4,23	**	1,90	**	0,38	97,77
		ST	21,05	**	4,33	**	3,29	**	0,59	98,19
	T2	BL	0,79	**	0,40	**	0,21	**	0,26	93,79
		ST	2,69	**	1,22	**	1,05	**	0,12	95,38
RAA	T1	BL	0,03	**	0,00	**	0,01	**	0,00	95,70
		ST	0,03	**	0,01	**	0,01	**	0,01	94,00
	T2	BL	0,00	**	0,01	**	0,00	*	0,00	83,69
		ST	0,01	**	0,01	**	0,01	**	0,00	85,39
GNL	T1	BL	0,00	**	0,00	**	0,00	n.s.	0,01	61,27
		ST	0,00	**	0,01	**	0,00	+	0,01	70,80
	T2	BL	0,00	**	0,01	**	0,00	**	0,00	63,33
		ST	0,00	n,s	0,01	**	0,00	**	0,00	10,95
ALY	T1	BL	1,43	**	0,62	**	0,25	**	0,07	97,76
		ST	4,05	**	0,81	**	0,58	**	0,16	98,22
	T2	BL	0,08	**	0,12	**	0,09	**	0,01	88,23
		ST	0,57	**	0,27	**	0,29	**	0,04	94,00
GNA	T1	BL	1,17	**	0,17	**	0,23	**	0,04	97,72
		ST	1,34	**	0,16	**	0,37	**	0,04	97,05
	T2	BL	0,28	**	0,07	**	0,01	n.s.	0,09	96,14
		ST	0,05	**	0,07	**	0,06	**	0,01	86,82
GBN	T1	BL	11,02	**	4,58	**	2,55	**	0,34	97,44
		ST	11,99	**	4,79	**	2,95	**	0,42	97,26
	T2	BL	0,31	**	0,99	**	0,65	**	0,06	79,93
		ST	0,44	**	0,45	**	0,58	**	0,06	86,23
GBC	T1	BL	0,33	**	1,08	**	0,31	**	0,12	88,64
		ST	0,64	**	0,71	**	0,30	**	0,11	93,92
	T2	BL	0,019	**	0,030	**	0,008	**	0,008	91,45
		ST	0,016	**	0,062	**	0,020	**	0,007	84,03
4OH	T1	BL	0,000	n.s.	0,000	n.s.	0,000	**	0,000	54,08
		ST	0,001	**	0,004	**	0,001	**	0,001	88,18
	T2	BL	0,000	**	0,000	**	0,001	**	0,000	73,17
		ST	0,001	**	0,001	**	0,000	**	0,001	90,21
4ME	T1	BL	0,001	**	0,002	**	0,001	**	0,001	87,46
		ST	0,002	**	0,010	**	0,002	**	0,001	89,37
	T2	BL	0,001	**	0,006	**	0,002	**	0,001	74,25
		ST	0,001	**	0,003	**	0,001	**	0,001	87,93
NEO	T1	BL	0,03	**	0,14	**	0,09	**	0,01	76,12
		ST	0,23	**	1,21	**	0,39	**	0,08	82,56
	T2	BL	0,002	**	0,024	**	0,004	**	0,005	60,69
		ST	0,004	**	0,051	**	0,012	**	0,005	67,91

Anhang 7.2 fortgesetzt

Merkmal	Termin	Material	Varianzkomponenten						h²	
			G		U		GU			Fehler
NAS	T1	BL	0,08	**	0,01	**	0,05	**	0,01	93,68
		ST	0,37	**	0,05	**	0,14	**	0,04	95,38
	T2	BL	0,002	**	0,001	**	0,003	**	0,002	75,48
		ST	0,08	**	0,11	**	0,04	**	0,03	91,22
Pflanzen- länge	T1		6,52	**	5,35	**	3,77	**	1,25	91,23
	T2		338,81	**	204,27	**	44,23	**	17,36	95,65
BBCH- Stadium	T1		7,28	**	14,56	**	4,03	*	11,00	70,76
	T2		0,27	**	0,01	n.s.	0,12	+	0,27	67,67

Anhang 7.3: Mittlere Glucosinolatzusammensetzung (in $\mu\text{mol/g TM}$, Abkürzungen siehe Tab. 1.1) von 28 Genotypen zu zwei Probenahmeterminen (T1/T2) in den Pflanzenteilen (PFL) Blatt (BL) und Stängel (ST) sowie Glucosinolatzusammensetzung im Samen (SA) zur Samenreife (T3)

Genotyp	Ter-min	PFL	Gesamt	ALK	IND	PRO	RAA	GNI	ALY	GNA	4OH	GBN	GBC	NAS	4ME	NEO
Abukuma natane	T1	BL	15,48	11,80	2,32	4,93	0,18	0,23	2,17	0,49	0,00	3,80	1,84	1,36	0,10	0,38
		ST	9,85	5,81	2,11	3,72	0,02	0,21	1,29	0,00	0,01	0,57	0,74	1,93	0,24	1,12
	T2	BL	2,73	2,13	0,46	0,73	0,13	0,22	0,26	0,15	0,00	0,64	0,25	0,14	0,12	0,09
		ST	4,61	2,95	0,85	1,50	0,08	0,09	0,72	0,13	0,08	0,43	0,38	0,81	0,17	0,22
	T3	SA	83,66	75,88	5,64	49,26	2,26	0,04	4,84	14,24	3,84	5,24	1,77	2,14	0,00	0,03
	Campala	T1	BL	12,69	8,98	3,54	2,85	0,02	0,19	1,19	0,54	0,01	4,19	2,63	0,17	0,08
ST			17,49	11,06	6,07	4,04	0,03	0,25	1,72	0,57	0,07	4,45	3,33	0,36	0,20	2,47
T2		BL	1,34	0,84	0,50	0,12	0,04	0,13	0,17	0,04	0,00	0,34	0,22	0,00	0,05	0,23
		ST	3,13	2,03	1,02	0,86	0,03	0,11	0,38	0,09	0,13	0,56	0,44	0,08	0,07	0,38
T3		SA	17,90	14,44	3,39	8,94	0,19	0,06	1,07	3,19	3,05	0,99	0,23	0,07	0,02	0,09
Express		T1	BL	14,55	12,41	1,89	4,00	0,02	0,23	1,37	1,11	0,01	5,68	1,43	0,25	0,08
	ST		19,12	13,95	4,30	5,33	0,04	0,26	2,27	1,01	0,06	5,04	2,26	0,87	0,19	1,79
	T2	BL	1,79	1,36	0,41	0,20	0,04	0,20	0,15	0,17	0,01	0,60	0,22	0,02	0,07	0,11
		ST	3,81	2,60	0,86	0,99	0,05	0,10	0,62	0,14	0,07	0,70	0,45	0,35	0,06	0,28
	T3	SA	28,28	23,78	4,12	15,74	0,24	0,06	1,16	4,89	3,87	1,69	0,20	0,38	0,00	0,05
	G53	T1	BL	23,05	20,11	2,68	6,80	0,66	0,18	1,82	2,43	0,01	8,22	2,18	0,26	0,05
ST			25,24	22,01	2,62	9,38	0,62	0,21	2,47	2,05	0,04	7,28	1,45	0,61	0,12	1,01
T2		BL	4,02	3,56	0,45	0,63	0,22	0,10	0,26	0,82	0,00	1,53	0,27	0,01	0,06	0,12
		ST	5,56	4,95	0,44	2,53	0,19	0,09	0,69	0,48	0,05	0,97	0,24	0,17	0,05	0,10
T3		SA	88,90	85,99	2,27	53,50	11,54	0,08	2,68	14,27	2,15	3,92	0,10	0,64	0,00	0,02
Gaoyou		T1	BL	16,31	14,01	1,93	4,56	0,02	0,21	2,31	0,73	0,03	6,18	1,61	0,37	0,06
	ST		21,23	17,73	2,24	7,09	0,15	0,28	3,71	0,79	0,11	5,71	1,47	1,26	0,14	0,52
	T2	BL	1,92	1,47	0,38	0,32	0,02	0,20	0,31	0,09	0,01	0,53	0,20	0,07	0,07	0,10
		ST	4,16	2,96	0,66	1,26	0,06	0,08	1,04	0,09	0,09	0,43	0,28	0,54	0,10	0,19
	T3	SA	75,03	70,95	2,95	42,77	1,31	0,04	5,17	16,27	2,69	5,39	0,16	1,13	0,00	0,10
	GOE1991	T1	BL	5,82	3,84	1,89	1,42	0,03	0,26	1,51	0,08	0,01	0,54	1,43	0,09	0,07
ST			7,19	5,22	1,60	2,14	0,05	0,28	1,99	0,06	0,04	0,70	0,64	0,37	0,14	0,78
T2		BL	1,06	0,82	0,24	0,21	0,05	0,19	0,14	0,04	0,00	0,19	0,10	0,00	0,07	0,07
		ST	1,29	0,90	0,33	0,43	0,04	0,09	0,26	0,02	0,09	0,06	0,10	0,06	0,04	0,10
T3		SA	11,85	9,55	2,22	6,84	0,23	0,05	0,54	1,50	1,95	0,39	0,18	0,08	0,01	0,08
Grizzly		T1	BL	19,33	17,29	1,83	4,57	0,02	0,25	1,69	1,80	0,02	8,96	1,37	0,21	0,10
	ST		23,94	19,71	3,54	6,05	0,07	0,24	2,88	1,69	0,07	8,78	1,95	0,69	0,18	1,34
	T2	BL	2,76	2,27	0,47	0,37	0,03	0,14	0,25	0,33	0,00	1,15	0,25	0,02	0,07	0,15
		ST	3,99	3,21	0,59	1,05	0,04	0,09	0,77	0,20	0,06	1,06	0,25	0,19	0,05	0,23
	T3	SA	27,55	23,58	3,74	14,96	0,30	0,04	1,45	5,10	3,35	1,73	0,20	0,23	0,01	0,18
	H10	T1	BL	13,91	10,49	2,85	4,70	0,25	0,26	2,56	0,56	0,01	2,16	2,22	0,57	0,05
ST			15,25	10,91	2,94	4,93	0,50	0,21	3,13	0,54	0,07	1,60	1,17	1,40	0,17	1,53
T2		BL	2,50	1,88	0,59	0,57	0,04	0,19	0,26	0,21	0,02	0,61	0,33	0,03	0,03	0,21
		ST	5,19	3,70	0,84	1,58	0,08	0,10	1,03	0,36	0,16	0,55	0,32	0,65	0,08	0,28
T3		SA	93,62	87,66	4,00	57,43	2,26	0,07	7,13	15,08	3,70	5,69	0,27	1,96	0,01	0,02
H113		T1	BL	24,76	20,63	3,24	9,19	0,07	0,17	3,72	1,21	0,03	6,27	2,69	0,89	0,02
	ST		30,28	23,74	4,21	12,50	0,14	0,23	5,34	0,83	0,20	4,70	1,86	2,33	0,09	2,06
	T2	BL	5,81	4,97	0,68	1,88	0,03	0,19	1,06	0,37	0,07	1,44	0,34	0,16	0,09	0,18
		ST	7,82	5,95	0,98	3,24	0,06	0,08	1,72	0,17	0,20	0,68	0,32	0,89	0,05	0,41
	T3	SA	86,49	82,84	3,37	61,05	2,02	0,06	2,77	13,92	3,24	3,02	0,11	0,28	0,00	0,02
	H149	T1	BL	21,29	18,68	2,35	7,87	0,05	0,16	2,16	1,82	0,00	6,62	1,95	0,26	0,10
ST			22,51	19,30	2,55	10,14	0,11	0,22	2,71	1,56	0,03	4,56	1,58	0,66	0,16	0,78
T2		BL	4,90	3,73	1,13	1,46	0,03	0,16	0,52	0,41	0,00	1,15	0,88	0,04	0,11	0,14
		ST	7,04	5,70	1,02	3,28	0,05	0,09	0,98	0,37	0,04	0,93	0,53	0,32	0,14	0,31
T3		SA	57,86	53,50	3,45	31,30	1,74	0,03	2,83	14,28	3,14	3,32	0,24	0,91	0,03	0,04
H30		T1	BL	11,84	10,09	1,69	3,12	0,03	0,26	3,74	0,07	0,01	2,87	1,06	0,06	0,04
	ST		14,59	11,72	2,47	4,45	0,11	0,35	4,53	0,14	0,07	2,14	1,21	0,40	0,15	1,04
	T2	BL	1,51	1,01	0,49	0,07	0,05	0,21	0,46	0,00	0,02	0,22	0,24	0,01	0,06	0,17
		ST	2,59	1,86	0,64	0,63	0,04	0,11	1,02	0,00	0,08	0,06	0,29	0,09	0,07	0,20
	T3	SA	83,56	79,61	3,09	60,12	1,84	0,04	4,14	11,01	2,67	2,46	0,24	0,86	0,00	0,18

Anhang 7.3 fortgesetzt

Genotyp	Ter-min	PFL	Gesamt	ALK	IND	PRO	RAA	GNL	ALY	GNA	4OH	GBN	GBC	NAS	4ME	NEO
H327	T1	BL	17,90	14,41	3,02	5,70	0,07	0,30	3,06	1,37	0,03	3,91	2,11	0,47	0,11	0,77
		ST	16,97	12,82	3,25	5,21	0,34	0,35	3,45	0,93	0,09	2,54	1,46	0,90	0,21	1,49
	T2	BL	5,01	4,19	0,79	1,52	0,04	0,17	0,52	0,96	0,02	0,98	0,43	0,03	0,15	0,19
		ST	4,03	3,02	0,82	1,57	0,08	0,11	0,71	0,26	0,07	0,29	0,30	0,19	0,12	0,33
	T3	SA	100,88	97,41	3,25	65,58	1,37	0,08	2,47	25,17	3,01	2,74	0,22	0,22	0,00	0,02
	L122	T1	BL	24,37	21,27	2,69	8,57	0,08	0,21	3,77	0,83	0,02	7,81	2,02	0,41	0,11
ST			35,49	29,40	4,74	12,72	0,20	0,24	6,79	1,04	0,08	8,41	2,50	1,35	0,26	1,90
T2		BL	3,84	3,32	0,50	1,12	0,03	0,21	0,70	0,25	0,04	1,01	0,35	0,02	0,02	0,09
		ST	9,25	7,84	0,99	3,77	0,06	0,09	2,07	0,34	0,10	1,51	0,51	0,42	0,09	0,29
T3		SA	83,35	77,41	4,09	45,63	2,14	0,05	8,09	14,56	3,74	6,94	0,32	1,85	0,02	0,01
L16		T1	BL	3,31	1,33	1,91	0,54	0,02	0,24	0,19	0,01	0,02	0,33	1,42	0,07	0,07
	ST		5,61	2,02	3,41	0,91	0,04	0,24	0,34	0,05	0,11	0,44	1,96	0,18	0,12	1,22
	T2	BL	0,78	0,37	0,39	0,09	0,02	0,14	0,02	0,02	0,02	0,08	0,18	0,02	0,05	0,14
		ST	1,24	0,59	0,54	0,25	0,03	0,08	0,16	0,00	0,07	0,07	0,22	0,11	0,06	0,19
	T3	SA	53,57	47,29	4,83	25,92	0,82	0,10	5,79	7,58	4,13	7,08	0,61	1,45	0,05	0,04
	Liropa	T1	BL	5,64	2,40	3,11	0,79	0,02	0,21	0,23	0,19	0,02	0,96	2,21	0,13	0,11
ST			6,07	2,71	3,04	1,05	0,06	0,26	0,53	0,16	0,09	0,65	1,30	0,32	0,20	1,45
T2		BL	1,14	0,71	0,41	0,16	0,03	0,20	0,05	0,07	0,00	0,20	0,18	0,02	0,05	0,18
		ST	1,64	0,86	0,56	0,35	0,05	0,07	0,22	0,08	0,06	0,09	0,24	0,22	0,07	0,19
T3		SA	19,74	14,97	4,16	7,58	0,27	0,06	2,13	3,31	3,86	1,62	0,25	0,61	0,00	0,05
Mansholt		T1	BL	24,41	21,12	2,74	7,71	0,04	0,16	3,37	1,26	0,01	8,58	2,39	0,55	0,09
	ST		34,26	27,43	4,78	10,47	0,31	0,21	6,36	1,26	0,08	8,82	3,69	2,05	0,27	0,74
	T2	BL	5,77	5,24	0,48	2,16	0,04	0,18	0,82	0,53	0,01	1,51	0,29	0,05	0,10	0,08
		ST	10,76	8,89	1,13	4,35	0,19	0,09	2,58	0,23	0,10	1,45	0,70	0,74	0,13	0,20
	T3	SA	77,74	72,80	4,00	44,85	1,24	0,02	6,23	14,46	3,47	6,00	0,48	0,94	0,00	0,05
	Mendel	T1	BL	11,83	9,62	2,02	3,27	0,01	0,22	0,99	1,04	0,01	4,09	1,63	0,19	0,08
ST			16,40	11,82	3,84	4,61	0,08	0,31	1,64	1,11	0,08	4,07	2,35	0,74	0,16	1,25
T2		BL	1,64	1,17	0,40	0,28	0,05	0,19	0,13	0,17	0,00	0,35	0,25	0,07	0,05	0,10
		ST	3,07	2,05	0,76	0,93	0,05	0,12	0,37	0,17	0,06	0,41	0,40	0,26	0,05	0,25
T3		SA	17,81	14,16	3,60	9,30	0,22	0,07	0,43	3,54	3,27	0,60	0,27	0,05	0,00	0,06
Oase		T1	BL	10,30	8,52	1,53	2,78	0,02	0,23	1,20	0,73	0,01	3,56	1,29	0,25	0,07
	ST		14,49	11,22	2,52	4,30	0,10	0,25	2,03	0,79	0,09	3,75	1,54	0,75	0,13	0,76
	T2	BL	1,75	1,39	0,33	0,27	0,04	0,19	0,15	0,18	0,00	0,56	0,20	0,03	0,08	0,05
		ST	2,58	1,75	0,56	0,69	0,07	0,10	0,50	0,09	0,07	0,30	0,27	0,27	0,04	0,18
	T3	SA	19,68	15,82	3,56	9,97	0,21	0,04	0,93	3,69	3,13	0,98	0,28	0,30	0,01	0,14
	Olimpiade	T1	BL	15,59	13,27	2,03	5,33	0,21	0,26	2,01	0,85	0,00	4,61	1,74	0,29	0,03
ST			16,16	13,16	1,85	5,88	0,31	0,20	2,92	0,64	0,03	3,21	0,95	1,15	0,14	0,73
T2		BL	2,40	1,84	0,55	0,62	0,05	0,12	0,24	0,19	0,04	0,62	0,34	0,01	0,07	0,10
		ST	5,71	4,47	0,71	2,04	0,32	0,08	1,36	0,16	0,05	0,51	0,36	0,53	0,11	0,19
T3		SA	83,18	78,70	3,93	50,73	2,26	0,08	2,93	19,66	3,24	3,04	0,63	0,55	0,01	0,05
R140		T1	BL	21,97	17,68	3,66	7,43	0,71	0,19	3,11	0,60	0,02	5,64	3,45	0,63	0,03
	ST		24,06	18,29	3,81	8,22	0,72	0,24	3,60	0,70	0,05	4,81	2,76	1,96	0,19	0,81
	T2	BL	4,54	3,67	0,75	1,05	0,21	0,17	0,64	0,43	0,04	1,17	0,52	0,12	0,11	0,08
		ST	8,38	6,10	0,96	2,81	0,23	0,08	1,41	0,37	0,13	1,20	0,44	1,32	0,12	0,27
	T3	SA	94,35	89,83	2,48	48,92	9,16	0,10	4,59	18,83	2,33	8,23	0,12	2,04	0,01	0,02
	R53	T1	BL	14,24	10,60	3,28	3,13	0,15	0,19	1,31	1,54	0,02	4,28	2,64	0,36	0,09
ST			20,00	13,51	5,46	4,15	0,14	0,15	1,82	2,18	0,10	5,07	3,68	1,03	0,24	1,44
T2		BL	2,45	1,79	0,63	0,50	0,01	0,23	0,24	0,18	0,06	0,63	0,36	0,03	0,06	0,15
		ST	3,64	2,37	1,04	1,04	0,05	0,10	0,50	0,19	0,09	0,49	0,60	0,23	0,11	0,24
T3		SA	39,93	35,24	4,25	20,28	1,27	0,06	1,98	9,59	3,78	2,06	0,39	0,44	0,01	0,07
S14		T1	BL	26,84	25,08	1,60	7,04	0,04	0,23	3,89	1,37	0,02	12,51	0,95	0,16	0,06
	ST		30,58	27,07	2,91	8,91	0,12	0,22	6,36	1,07	0,09	10,39	1,04	0,60	0,15	1,63
	T2	BL	5,35	4,93	0,39	1,21	0,02	0,19	1,01	0,30	0,00	2,20	0,15	0,03	0,04	0,20
		ST	8,25	7,50	0,51	3,27	0,12	0,10	2,07	0,36	0,08	1,58	0,15	0,24	0,04	0,24
	T3	SA	99,58	94,51	3,13	61,83	1,65	0,04	5,95	18,10	2,67	6,94	0,25	1,94	0,01	0,20

Anhang 7.3 fortgesetzt

Genotyp	Ter-min	PFL	Gesamt	ALK	IND	PRO	RAA	GNL	ALY	GNA	4OH	GBN	GBC	NAS	4ME	NEO
S3	T1	BL	27,85	26,47	0,96	14,62	0,23	0,29	1,08	5,63	0,00	4,62	0,82	0,42	0,06	0,08
		ST	37,46	34,66	1,68	21,66	0,44	0,34	1,97	6,01	0,06	4,24	1,15	1,12	0,13	0,34
	T2	BL	9,97	9,38	0,47	4,35	0,06	0,15	0,39	2,84	0,01	1,59	0,30	0,12	0,08	0,08
		ST	10,73	9,77	0,47	7,23	0,09	0,09	0,56	1,12	0,06	0,68	0,23	0,49	0,08	0,10
	T3	SA	81,43	77,26	3,13	50,91	1,48	0,05	1,02	22,18	2,77	1,62	0,29	1,04	0,00	0,07
S30	T1	BL	10,35	8,67	1,56	2,67	0,01	0,24	1,24	0,64	0,01	3,87	1,20	0,12	0,08	0,27
		ST	12,68	10,04	2,14	3,60	0,19	0,28	2,23	0,57	0,07	3,17	1,17	0,50	0,17	0,73
	T2	BL	2,03	1,52	0,49	0,24	0,03	0,21	0,20	0,15	0,01	0,69	0,25	0,02	0,09	0,14
		ST	2,74	1,85	0,60	0,71	0,07	0,09	0,70	0,04	0,07	0,24	0,27	0,29	0,06	0,20
	T3	SA	50,66	46,15	3,62	29,43	0,89	0,06	4,03	7,28	3,37	4,46	0,17	0,89	0,00	0,08
Samourai	T1	BL	10,56	8,69	1,76	2,62	0,05	0,18	1,32	0,62	0,02	3,90	1,43	0,11	0,08	0,23
		ST	14,91	11,84	2,42	4,13	0,09	0,22	2,51	0,72	0,11	4,17	1,31	0,65	0,18	0,82
	T2	BL	1,56	0,90	0,66	0,16	0,04	0,15	0,13	0,09	0,02	0,33	0,34	0,00	0,14	0,16
		ST	3,14	2,01	0,75	0,74	0,08	0,10	0,65	0,09	0,11	0,35	0,31	0,38	0,06	0,27
	T3	SA	23,27	19,01	3,93	12,83	0,21	0,06	1,23	3,55	3,52	1,13	0,30	0,33	0,03	0,08
Santana	T1	BL	5,19	2,62	2,48	0,97	0,05	0,21	0,52	0,12	0,02	0,75	1,80	0,09	0,09	0,57
		ST	7,59	3,56	3,74	1,59	0,06	0,21	0,90	0,14	0,11	0,66	1,83	0,29	0,27	1,53
	T2	BL	1,04	0,58	0,46	0,10	0,04	0,16	0,11	0,03	0,03	0,14	0,24	0,00	0,05	0,14
		ST	1,73	0,86	0,69	0,34	0,02	0,08	0,32	0,03	0,08	0,07	0,31	0,18	0,08	0,22
	T3	SA	21,67	17,22	4,12	10,87	0,19	0,06	1,59	3,24	3,62	1,27	0,38	0,33	0,02	0,10
Sollux	T1	BL	35,35	31,44	3,20	9,48	0,09	0,23	4,86	2,12	0,03	14,66	2,20	0,71	0,17	0,80
		ST	49,06	42,87	4,21	14,53	0,35	0,29	8,95	2,62	0,11	16,13	2,14	1,98	0,25	1,71
	T2	BL	6,06	5,45	0,52	1,30	0,07	0,09	0,88	0,65	0,01	2,46	0,25	0,09	0,05	0,21
		ST	14,53	12,81	0,89	4,85	0,28	0,12	3,41	0,62	0,12	3,53	0,43	0,83	0,09	0,25
	T3	SA	89,10	84,23	3,93	55,96	1,28	0,03	3,98	18,22	3,68	4,76	0,20	0,94	0,01	0,04
Visby	T1	BL	9,40	8,01	1,35	2,73	0,04	0,20	1,65	0,49	0,01	2,90	1,14	0,04	0,05	0,15
		ST	11,75	9,77	1,80	3,69	0,05	0,26	2,42	0,53	0,08	2,82	1,17	0,18	0,10	0,45
	T2	BL	0,99	0,70	0,29	0,12	0,04	0,17	0,15	0,08	0,01	0,14	0,16	0,00	0,06	0,06
		ST	1,69	1,14	0,48	0,49	0,03	0,08	0,38	0,02	0,06	0,14	0,19	0,07	0,05	0,18
	T3	SA	16,79	12,88	3,88	8,73	0,16	0,05	0,75	2,67	3,35	0,52	0,33	0,03	0,01	0,19

Anhang 7.4: Korrelationsdiagramm zwischen Kohltriebrüsslerbefall und Gehalt an 4OH im Stängel am Standort Weende 2012

Anhang 7.5: Framework Markerkarte der DH Population ‚L16 x Express‘ mit 145 QTL aus zweiortiger Verrechnung (QTL im Samen: rot, QTL im Stängel: grün, QTL im Blatt: blau, QTL weiterer Merkmale: schwarz, Konfidenzintervalle innen: LOD-1, aussen: LOD-2)

Anhang 7.5 fortgesetzt

A03 (QTL 1/2)

A03 (QTL 2/2)

Anhang 7.5 fortgesetzt

Anhang 7.5 fortgesetzt

Anhang 7.5 fortgesetzt

Anhang 7.5 fortgesetzt

C02

Anhang 7.5 fortgesetzt

C03

C04

NIRXP-SA-3

GNA-SA-3

BOF-4

NIRXL-SA-2

Anhang 7.5 fortgesetzt

C05

0.0	Bn-scaff_16414_1-p917631
2.1	Bn-scaff_16414_1-p798013
3.9	Bn-scaff_16414_1-p309830
5.4	Bn-scaff_16414_1-p91571
9.1	Bn-scaff_20901_1-p1736256
11.4	Bn-scaff_20901_1-p1598274
12.1	Bn-scaff_20901_1-p1510260
22.1	Bn-scaff_20901_1-p58670
24.3	Bn-scaff_15838_2-p107992
25.7	Bn-scaff_19641_1-p188036
29.4	Bn-scaff_21496_1-p91737
30.9	Bn-scaff_21496_1-p185845
32.4	Bn-scaff_15712_10-p423080
36.1	Bn-scaff_18181_1-p1691801
38.3	Bn-scaff_18181_1-p1440883
40.5	Bn-scaff_18181_1-p953276
41.9	Bn-A06-p6655047
44.9	Bn-scaff_16082_1-p464923
47.1	Bn-scaff_16082_1-p260830
48.9	Bn-A06-p8791868
50.0	Bn-C013729753-p243
53.7	Bn-scaff_16876_1-p851344
55.2	Bn-scaff_17869_1-p1067608
57.4	Bn-scaff_17869_1-p1272586
59.6	Bn-scaff_16181_1-p44437
61.1	Bn-scaff_22527_1-p9516
63.3	Bn-A06-p20877321
64.8	Bn-scaff_20459_1-p120552
66.2	Bn-scaff_16263_1-p260465
71.4	Bn-scaff_15701_1-p1052134
73.6	Bn-scaff_16770_1-p317634
75.9	Bn-scaff_18826_1-p851258
76.6	Bn-scaff_18826_1-p837020
79.6	Bn-scaff_18826_1-p232573
81.1	Bn-scaff_21369_1-p871257
85.6	Bn-scaff_21369_1-p380883
93.9	Bn-scaff_17441_1-p558858
96.4	Bn-scaff_17441_1-p900689
98.1	Bn-scaff_17441_1-p1197771
100.6	Bn-scaff_17441_3-p144092
101.5	Bn-scaff_17441_3-p325608
105.1	Bn-scaff_18181_1-p1265722
107.6	Bn-scaff_20270_1-p1247236
108.5	Bn-scaff_20270_1-p1440999
111.8	Bn-scaff_20376_1-p336606
117.8	Bn-scaff_21634_1-p61428
121.6	Bn-scaff_24251_1-p56129
121.7	Bn-scaff_20809_1-p74433

C06

0.0	Bn-scaff_21018_1-p83035
9.9	Bn-scaff_18826_1-p548550
12.1	Bn-scaff_17799_1-p1489077
12.8	Bn-scaff_17799_1-p1495234
18.1	Bn-scaff_17799_1-p2097654
18.8	Bn-scaff_17799_1-p2273825
21.0	Bn-scaff_20294_1-p30161
26.2	Bn-scaff_25466_1-p8800
28.1	Bn-scaff_16397_1-p181125
29.9	Bn-scaff_16397_1-p360292
32.1	Bn-scaff_16874_1-p285169
34.4	Bn-scaff_16116_1-p486387
36.6	Bn-scaff_16865_1-p94727
38.8	Bn-scaff_18439_1-p52033
40.3	Bn-scaff_15746_1-p128358
41.7	Bn-scaff_15818_1-p2532249
44.0	Bn-scaff_15818_1-p2516251
51.1	Bn-scaff_15763_1-p1456407
51.9	Bn-scaff_15763_1-p1403988
55.0	Bn-scaff_15763_1-p713739
55.8	Bn-A07-p12876226
60.4	Bn-scaff_20901_1-p859313
64.9	Bn-scaff_15818_2-p786347
66.5	Bn-scaff_15818_1-p858733
68.0	Bn-scaff_16903_1-p230137
84.5	Bn-scaff_18344_1-p500212
86.1	Bn-scaff_16485_1-p747170
88.3	Bn-scaff_16485_1-p587862
89.8	Bn-A06-p2405022
91.2	Bn-scaff_16670_1-p167090
91.3	Bn-scaff_18013_1-p74295

Anhang 7.5 fortgesetzt

Anhang 7.5 fortgesetzt

C09 (QTL 1/2)

Anhang 7.5 fortgesetzt

C09 (QTL 2/2)

Anhang 7.6: Quantitative Trait Loci (QTL) in zwei Pflanzenteilen Blatt und Stängel aus Verrechnung über drei Orte mit 90 Linien (KG Kopplungsgruppe, Additiveffekt in $\mu\text{mol/g TM}$, R^2 Anteil erklärter phänotypischer Varianz, LOD-GW LOD Grenzwert bei $p=0,05$)

QTL	Merkmal	Pflanzen- teil	KG	Position [cM]	Konfidenzinter- vall [cM]	Additiv- effekt	R^2 [%]	LOD	LOD- GW
GSLSUM-BL-1	GSLSUM	Blatt	A03	100,8	100,2 - 104	1,77	0,30	11,78	3,23
GSLSUM-BL-2	GSLSUM	Blatt	A03	111,3	109,3 - 111,5	1,47	0,23	8,09	3,23
GSLSUM-BL-3	GSLSUM	Blatt	A06	31,0	30,5 - 31,8	0,95	0,09	3,76	3,23
GSLSUM-BL-4	GSLSUM	Blatt	A06	41,3	34,0 - 43,6	1,23	0,15	6,74	3,23
GSLSUM-BL-5	GSLSUM	Blatt	C03	39,4	34,9 - 41,8	-0,91	0,08	3,75	3,23
GSLSUM-BL-6	GSLSUM	Blatt	C07	48,9	46,8 - 56,4	-1,01	0,09	4,40	3,23
GSLSUM-ST-1	GSLSUM	Stängel	A03	100,8	100,3 - 102,1	2,83	0,48	14,38	3,42
GSLSUM-ST-2	GSLSUM	Stängel	A06	64,8	62,9 - 66,8	1,77	0,12	5,98	3,42
ALKSUM-BL-1	ALKSUM	Blatt	A03	100,8	100,3 - 101,8	1,78	0,32	12,44	3,14
ALKSUM-BL-2	ALKSUM	Blatt	A03	111,3	109,3 - 111,5	1,48	0,24	8,55	3,14
ALKSUM-BL-3	ALKSUM	Blatt	A06	31,0	30,5 - 31,8	0,92	0,09	3,77	3,14
ALKSUM-BL-4	ALKSUM	Blatt	A06	41,3	33,6 - 43,6	1,15	0,14	6,46	3,14
ALKSUM-BL-5	ALKSUM	Blatt	C03	39,4	33,1 - 41,8	-0,87	0,08	3,70	3,14
ALKSUM-BL-6	ALKSUM	Blatt	C07	49,9	46,8 - 56,2	-1,04	0,11	4,83	3,14
ALKSUM-ST-1	ALKSUM	Stängel	A03	100,8	100,5 - 101,8	2,67	0,47	16,90	3,15
ALKSUM-ST-2	ALKSUM	Stängel	C09	2,8	0,8 - 16,7	1,20	0,07	3,48	3,15
ALKSUM-ST-3	ALKSUM	Stängel	C09	37,0	31,9 - 50,8	-2,65	0,20	5,61	3,15
ALKSUM-ST-4	ALKSUM	Stängel	C09	52,8	52,1 - 54,3	-1,17	0,08	4,18	3,15
INDSUM-BL-1	INDSUM	Blatt	A02	52,9	52,6 - 54,8	0,10	0,34	11,19	3,17
INDSUM-BL-2	INDSUM	Blatt	A02	63,1	55,1 - 73,4	0,10	0,39	9,01	3,17
INDSUM-BL-3	INDSUM	Blatt	C07	40,9	39,9 - 42,1	0,07	0,15	5,46	3,17
INDSUM-BL-4	INDSUM	Blatt	C07	50,5	46,8 - 55,9	0,07	0,15	5,60	3,17
INDSUM-BL-5	INDSUM	Blatt	C09	61,7	58,6 - 70,4	-0,05	0,08	3,12	3,17
INDSUM-ST-1	INDSUM	Stängel	A02	52,9	51,4 - 54,3	0,15	0,21	8,66	3,27
INDSUM-ST-2	INDSUM	Stängel	A06	35,3	33,3 - 43,3	0,09	0,07	3,16	3,27
INDSUM-ST-3	INDSUM	Stängel	A08	20,8	8,0 - 39,1	-0,15	0,16	4,57	3,27
INDSUM-ST-4	INDSUM	Stängel	C07	54,7	52,7 - 64,0	0,15	0,18	7,55	3,27
PRO-BL-1	PRO	Blatt	A03	87,2	87,0 - 90,9	0,29	0,12	4,33	3,09
PRO-BL-2	PRO	Blatt	A03	97,6	93,1 - 99,2	0,36	0,20	7,50	3,09
PRO-BL-3	PRO	Blatt	C09	0,0	0,0 - 0,8	0,52	0,17	6,64	3,09
PRO-BL-4	PRO	Blatt	C09	37,0	30,9 - 44,1	-0,60	0,29	9,34	3,09
PRO-ST-1	PRO	Stängel	A03	100,8	100,5 - 101,8	0,83	0,33	15,24	3,30
PRO-ST-2	PRO	Stängel	C09	4,8	0,9 - 11,3	0,82	0,15	8,09	3,30
PRO-ST-3	PRO	Stängel	C09	36,0	34,1 - 44,0	-0,64	0,14	5,79	3,30
ALY-BL-1	ALY	Blatt	A03	100,8	100,4 - 102,1	0,20	0,38	14,84	3,26
ALY-BL-2	ALY	Blatt	A03	111,3	109,3 - 112,4	0,16	0,24	8,08	3,26
ALY-BL-3	ALY	Blatt	C09	0,0	0,0 - 0,8	0,10	0,06	3,43	3,26
ALY-BL-4	ALY	Blatt	C09	37,0	33,3 - 41,5	-0,26	0,28	9,62	3,26
ALY-BL-5	ALY	Blatt	C09	52,8	52,1 - 55,3	-0,12	0,13	6,41	3,26
ALY-ST-1	ALY	Stängel	A03	100,8	100,5 - 102,2	0,37	0,49	15,74	3,33
GNA-BL-1	GNA	Blatt	A03	100,8	99,7 - 108,1	0,19	0,21	8,34	3,02

Anhang 7.6 fortgesetzt

QTL	Merkmal	Pflanzen- teil	KG	Position [cM]	Konfidenzinter- vall [cM]	Additiv- effekt	R ² [%]	LOD	LOD- GW
GNA-BL-2	GNA	Blatt	A06	31,0	30,5 - 31,8	0,17	0,16	5,59	3,02
GNA-BL-3	GNA	Blatt	A06	41,3	36,5 - 42,9	0,21	0,26	9,91	3,02
GNA-BL-4	GNA	Blatt	C03	38,4	36,7 - 46,2	-0,11	0,06	2,99	3,02
GNA-BL-5	GNA	Blatt	C07	48,9	42,1 - 52,7	-0,15	0,12	5,14	3,02
GNA-ST-1	GNA	Stängel	A03	97,6	92,9 - 98,6	0,22	0,39	14,40	3,39
GNA-ST-2	GNA	Stängel	A06	64,8	62,9 - 68,7	0,11	0,09	4,26	3,39
GBN-BL-1	GBN	Blatt	A03	100,8	100,3 - 103,6	0,86	0,29	12,11	3,19
GBN-BL-2	GBN	Blatt	A06	31,0	30,5 - 31,8	0,53	0,11	4,70	3,19
GBN-BL-3	GBN	Blatt	A06	41,3	36,5 - 43,2	0,67	0,19	8,63	3,19
GBN-BL-4	GBN	Blatt	A10	15,5	7,8 - 25,7	-0,41	0,07	3,67	3,19
GBN-BL-5	GBN	Blatt	C03	39,4	30,9 - 41,8	-0,42	0,07	3,50	3,19
GBN-BL-6	GBN	Blatt	C07	49,9	46,8 - 55,8	-0,56	0,12	5,63	3,19
GBN-ST-1	GBN	Stängel	A03	100,8	100,5 - 102,2	1,26	0,58	18,80	3,22
GBN-ST-2	GBN	Stängel	C09	74,1	72,3 - 76,4	-0,42	0,06	3,72	3,22
GBC-BL-1	GBC	Blatt	A04	37,6	34,1 - 46,6	-0,05	0,12	4,85	3,49
GBC-BL-2	GBC	Blatt	A06	41,3	37,8 - 43,4	0,06	0,16	5,92	3,49
GBC-ST-1	GBC	Stängel	A02	52,9	51,1 - 54,8	0,10	0,14	6,56	3,30
GBC-ST-2	GBC	Stängel	A06	35,3	33,0 - 37,8	0,09	0,11	4,46	3,30
GBC-ST-3	GBC	Stängel	C07	55,7	53,8 - 61,9	0,15	0,30	11,74	3,30
NAS-BL-1	NAS	Blatt	A02	42,6	36,7 - 46,3	0,02	0,10	3,09	3,11
NAS-BL-2	NAS	Blatt	A02	60,1	52,9 - 75,9	0,03	0,20	5,53	3,11
NAS-BL-3	NAS	Blatt	C02	36,8	33,8 - 38,2	-0,02	0,10	3,28	3,11
NAS-ST-1	NAS	Stängel	A03	6,7	3,5 - 11,4	0,05	0,10	3,80	3,11
NAS-ST-2	NAS	Stängel	A06	65,8	54,0 - 74,0	0,06	0,14	4,78	3,11
NAS-ST-3	NAS	Stängel	C02	49,4	41,2 - 57,3	-0,05	0,09	3,11	3,11
NAS-ST-4	NAS	Stängel	C05	25,8	11,9 - 30,3	-0,05	0,09	3,36	3,11
NEO-BL-1	NEO	Blatt	A02	40,4	38,7 - 44,7	0,02	0,19	8,06	3,09
NEO-BL-2	NEO	Blatt	A05	86,1	73,4 - 97,6	-0,01	0,07	3,50	3,09
NEO-BL-3	NEO	Blatt	A08	37,5	16,6 - 39,2	-0,01	0,07	3,50	3,09
NEO-BL-4	NEO	Blatt	C03	159,2	155,8 - 162,3	-0,02	0,22	8,96	3,09
NEO-ST-1	NEO	Stängel	A01	1,5	0,0 - 5,3	0,04	0,29	9,97	3,23
NEO-ST-2	NEO	Stängel	A01	17,9	16,9 - 27,4	0,03	0,15	3,95	3,23
NEO-ST-3	NEO	Stängel	A02	42,6	42,5 - 50,7	0,03	0,16	4,22	3,23

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Heiko Becker danke ich ganz herzlich die Betreuung meiner Dissertation, der Überlassung des spannenden Themas, sowie für viele lehrreiche Gespräche, wissenschaftliche Anleitung und Motivation.

Frau Prof. Dr. E. Pawelzik danke ich vielmals für die Übernahme des Korreferats.

Allen Mitarbeitern und Studenten des Instituts für Pflanzenzüchtung danke ich vielmals für die Zusammenarbeit und Mithilfe, insbesondere jedoch Birgit Olberg, Uwe Ammermann und Reinhard Hilmer für die technische Unterstützung. Aus der Abteilung Agrarentomologie bedanke ich mich bei Heike Schäfer-Kösterke und Dr. Bernd Ulber für die Nutzung der Daten und Projektzusammenarbeit.

Ich danke weiterhin den beteiligten Züchtern und Mitarbeitern der Saatzuchtunternehmen KWS Saat AG, Limagrain GmbH und der Norddeutschen Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG für die reibungslose Versuchsdurchführung. Für die Erstellung der DH-Population sei zudem der Limagrain GmbH gedankt. Gleiches gilt für die Gesellschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung (GFP) und das Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz, von denen das Projekt im Rahmen der Innovationsförderung in der Pflanzenzüchtung koordiniert und finanziert wurde.

Allen meinen Mitdoktoranden verdanke ich eine gute Zeit in Göttingen!

Zu tiefstem Dank bin ich meinen Eltern, meiner Freundin und meiner Familie verpflichtet, die mir das Studium ermöglicht haben, nachsichtig mit mir waren und mich immer unterstützt haben!