

Verwilderter Raps im Osnabrücker Land

Erfassung, Charakterisierung & Auskreuzungspotenzial

Barbara Elling



Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften
im Fachbereich Biologie / Chemie der Universität Osnabrück

Verwilderter Raps im Osnabrücker Land
Erfassung, Charakterisierung & Auskreuzungspotenzial

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften
im Fachbereich Biologie / Chemie der Universität Osnabrück

vorgelegt von
Barbara Elling

Osnabrück, Dezember 2008

Hauptberichterstatter: apl. Prof. Dr. Barbara Neuffer
Nebenberichterstatter: PD Dr. Walter Bleeker

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	VI
Abbildungsverzeichnis	VIII
Tabellenverzeichnis.....	IX
1 Einleitung	1
1.1 Evolution von Unkräutern	2
1.2 Die Gattung <i>Brassica</i>	3
1.2.1 <i>Brassica napus</i> L.....	4
1.2.2 <i>Brassica oleracea</i> L.....	8
1.2.3 <i>Brassica rapa</i> L. (synonym <i>B. campestris</i> L.).....	10
1.2.4 Nah verwandte Arten aus den Brassicinae.....	12
1.3 Genfluss, Hybridisierungen und Introgression	15
1.3.1 Vorraussetzungen	15
1.3.2 Genfluss bei Raps	15
1.4 Fragestellungen.....	18
2 Material und Methode.....	21
2.1 Untersuchungsgebiet: Raum Osnabrück.....	21
2.1.1 Rapsphänologie in Niedersachsen 2004-2008	22
2.2 Pflanzenmaterial: Anzucht und Herkunft.....	24
2.2.1 Kartierungen im Raum Osnabrück.....	24
2.2.2 Kultursorten	25
2.2.3 Anzuchtbedingungen	25
2.2.4 Morphologische Charakterisierung der Pflanzen	25
2.3 Freilandversuch mit Unkrautraps	26
2.4 Durchflusszytometrie	28
2.5 Mikrosatelliten-Untersuchungen	28
2.5.1 Chemikalien und Enzyme	29
2.5.2 DNA-Isolierung	29
2.5.3 Mikrosatellitenprimer	29

2.5.4	PCR Reaktion.....	30
2.5.5	Verdünnung der PCR-Produkte.....	31
2.5.6	Vorbereitung des Gels.....	31
2.5.7	Gellauf am ABI 377	32
2.5.8	Auswertung der Gele.....	32
2.6	Pollenfertilität.....	33
2.7	Kreuzungsversuche mit tetraploiden Rübsen	34
2.7.1	Vorversuch	34
2.7.2	Hauptversuch	35
2.7.3	Dokumentierte Parameter	36
2.8	Freilandversuch mit tetraploiden Rübsen	36
2.8.1	Pflanzenmaterial, Versuchsaufbau und -durchführung.....	36
2.8.2	Identifizierung und Charakterisierung der Hybride.....	37
2.9	Statistische Auswertung	38
3	Ergebnisse	39
	Teil 1: Untersuchungen an Unkrautraps	39
3.1	Kartierungen von Unkrautraps 2004-2008.....	39
3.2	Freilandversuch mit Unkrautraps.....	44
3.3	Mikrosatelliten Untersuchungen an Unkrautraps	45
	Teil 2: Potenzielle Kreuzungspartner	53
3.4	Kartierungen von <i>Brassica</i> -Populationen 2004-2008.....	53
3.5	Durchflusszytometrie aller untersuchter Arten	58
3.6	Identifizierung potenzieller Hybride.....	60
3.6.1	Durchflusszytometrie	60
3.6.2	Mikrosatelliten-Untersuchungen	62
3.7	Charakterisierung der triploiden F ₁ -Hybride.....	65
3.7.1	Morphologie.....	65
3.7.2	Pollenfertilität.....	66
	Teil 3: Tetraploider Rübsen	67
3.8	Kartierungen von tetraploiden Rübsen 2004-2008	67
3.9	Vorversuch: Kreuzungen mit tetraploiden Rübsen.....	69

3.9.1	Interspezifische Hybride	70
3.9.2	Rübsen-Zytotyphen	71
3.10	Hauptversuch: Kreuzungen mit tetraploiden Rübsen.....	71
3.11	Freilandversuch mit tetraploiden Rübsen	73
3.11.1	Identifizierung und Charakterisierung der Hybride.....	73
4	Diskussion	81
	Methodendiskussion	81
4.1	Methode: Kartierungen im Raum Osnabrück.....	81
4.2	Methode: Durchflusszytometrie	82
4.3	Methode: Mikrosatelliten-Untersuchungen.....	83
	Teil 1: Untersuchungen an Unkrautraps	90
4.4	Ausbreitungs-, Überdauerungspotenzial und Unkrauteigenschaften	91
4.4.1	Ist Unkrautraps etabliert oder ephemer?	91
4.4.2	Freilandversuch mit Unkrautraps: Unkrautpotenzial und phänotypische Variabilität.....	95
4.5	Quellen für die genetische Variabilität verwilderter Rapspopulationen	97
4.5.1	Präadaptationen und evolutive Entwicklungen	97
4.5.2	Mehrfache Einschleppung verschiedener Sorten	99
4.5.3	Intraspezifische und interspezifische Hybridisierung	100
4.6	Unkrautraps als Trittstein für Genfluss?.....	102
	Teil 2: Potenzielle Kreuzungspartner	103
4.7	Durchflusszytometrie aller untersuchten Arten	103
4.8	Vorkommen von potenziellen Kreuzungspartnern im Untersuchungs- gebiet.....	105
4.8.1	IHP-Werte und Prioritätenliste der potenziellen Kreuzungspartner	106
4.8.2	<i>Diploaxis tenuifolia</i> und <i>D. muralis</i>	108
4.8.3	<i>Sinapis arvensis</i> und <i>S. alba</i>	108

4.8.4	<i>Raphanus raphanistrum</i> und <i>R. sativus</i>	109
4.8.5	<i>Brassica oleracea</i>	112
4.8.6	<i>Brassica rapa</i>	113
Teil 3: Tetraploider Rübsen		123
4.9	Tetraploide Rübsensorten	124
4.10	Kartierungen von tetraploiden Rübsen 2004-2008	125
4.11	Kreuzungsversuche mit tetraploiden Rübsen	126
4.12	Freilandversuch mit tetraploiden Rübsen	127
4.12.1	Identifizierung und Charakterisierung der Hybride.....	128
4.13	Tetraploider Rübsen und <i>Brassica</i> -Saatgutmischungen als Trittsteine für Genfluss?.....	135
Teil 4: Genfluss, Hybridisierung und mögliche Folgen am Beispiel Raps		137
4.14	Genfluss bei Raps	137
4.14.1	Genfluss durch Pollen	138
4.14.2	Genfluss durch Samen	140
4.14.3	Interspezifischer Genfluss	142
4.15	Evolutionäre Folgen von Hybridisierung und Introgression.....	143
4.15.1	Hybridisierungen zwischen Neophyten und Wildarten in Deutschland	145
4.15.2	Hybridisierung zwischen Raps und Verwandten - eine Bedrohung für die heimische Vielfalt?	146
4.16	Transgene Nutzpflanzen: Beispiel herbizidresistenter Raps.....	149
4.16.1	Potenzielle Auswirkungen von herbizidrestenem Raps auf die Umwelt	150
4.17	Schlussbetrachtung.....	153
5	Zusammenfassung	156
5.1	Summary.....	158
6	Literatur	161
7	Anhang	176
	Anhang A: Material und Methode	176

Anhang B: Populationsliste der Kartierungen 2004-2008	178
Anhang C: Sortenlisten.....	186
Anhang D: Freilandversuch Unkrautrops.....	189
Anhang E: Ergebnisse der Kartierungen	190
Anhang F: Berechnung der IHP Werte	195
Anhang G: Ergebnisse des Kreuzungsversuches mit tetraploiden <i>B. rapa</i>	197
Anhang H: Freilandversuch tetraploider <i>B. rapa</i>	198
Danksagung	200
Erklärung über die Eigenständigkeit der erbrachten wissenschaft- lichen Leistung	201
Curriculum Vitae.....	202
Publikationen	203

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin/ Ampere/ A-	F	engl. female, dt. weiblich
Genom		F	engl. forward, dt. vorwärts
Abb.	Abbildung	F ₁	erste Tochtergeneration
ad.	Auffüllen auf	Fa.	Firma
AFLP	engl. amplified fragment length polymorphism	FC	engl. flow cytometry, dt. Durchflusszytometrie
AMOVA	engl. analysis of molecular variance, dt. molekulare Varianzanalyse	FG	Freiheitsgrade
ANOVA	engl. analysis of variance, dt. Varianzanalyse	FSE	engl. farm scale evaluation
APS	Ammoniumpersulfat	FV	Freilandversuch
B	B-Genom	g	Gramm
BC	engl. backcross, dt. Rückkreuzung	G	Guanin
bidest.	doppelt destilliert	GVO	dt. gentechnisch veränderter Organismus, engl. genetically modified Organism (GMO)
bp	Basenpaare	H	Hybridsorte
Bt	<i>Bacillus thuringiensis</i> Toxin vermittelt Insektenresistenz in transgenen Pflanzen	h	Stunde(n)
bzw.	beziehungsweise	H ₂ O	Wasser
C	C-Genom	ha	Hektar
C	Cytosin	HCl	Salzsäure
C	C-Wert gibt DNA-Menge in pg an (C steht für konstant). 2C = DNA Menge im diploiden Chromosomensatz	HR-	herbizidresistent
cm	Zentimeter	Hrsg.	Herausgeber
cp	Chloroplast	ISSRs	engl. inter sequence simple repeats
cpDNA	Chloroplasten-DNA	Jh.	Jahrhundert
CV	engl. coefficient of variation, dt. Variationskoeffizient	k.A.	keine Angabe
dest.	Destilliert	kb	Kilobasenpaare
DNA	engl. deoxyribonucleic acid, dt. Desoxyribonucleinsäure (DNS)	kg	Kilogramm
dNTP	Desoxynukleotid-5'-Triphosphat	KV	Kreuzungsversuch
dt.	deutsch	L	Linienorte
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure	l	Liter
engl.	englisch	lat.	Latein
et al.	lat. <i>et alteri</i> , und andere	LWK	Landwirtschaftskammer
EU	Europäische Union	M	engl. male, dt. männlich
		M	Mol pro Liter, molar
		m ³	Kubikmeter
		min.	Minute/n
		Mio	Millionen
		ml	Milliliter
		MLD	engl. minimum log likelihood difference
		mM	Millimol pro Liter
		n	<i>Brassica napus</i> , Raps
		n	einfacher Chromosomensatz
		n	Nano-/ Anzahl

n. Chr.	Nach Christus	SSR	engl. simple sequence repeat, dt. Mikrosatelliten
NRW	Nordrhein-Westfalen	syn.	synonym
n.s.	nicht signifikant	T	Thymin
o	<i>B. oleracea</i>	Taq-	
o.J.	ohne Jahresangabe	Polymerase	DNA-Polymerase aus <i>Thermus aquaticus</i>
P	Angabe der Wahrscheinlichkeit bei einer statistischen Analyse ($P > 0,05$ heißt nicht signifikant)	TBE	Tris-Borat-EDTA
P	Praxis	Tris	Tris-(Hydroxymethyl-)Aminomethan
PCO	engl. principal coordinate analysis, dt. Hauptkoordinatenanalyse	U	Unit (Einheit der Enzymaktivität)
PCR	engl. polymerase chain reaction, dt. Polymerase Kettenreaktion	u.a.	unter anderem
		UV	ultraviolett
		V	Volt
pers.	persönlich	v/v	Volumen pro Volumen
pmol	Picomol	verw.	verwildert
Pop	Population	W	Watt
R	engl. reverse, dt. rückwärts	WA	Wildacker
r2	diploider <i>Brassica rapa</i>	WR	Winterraps
r4	tetraploider <i>Brassica rapa</i>	x	Mal
RAPD	engl. random amplified polymorphic DNA	x	steht für die Chromosomengrundzahl, 2x: diploid, 3x: triploid, 4x: tetraploid, 6x: hexaploid
RL	Rote Liste	zw.	zwischen
RNA	Ribonukleinsäure		
s	Sekunde/n		
S.	Seite	<u>Symbole:</u>	
SC	engl. self-compatibel, dt. selbstkompatibel	/	pro, dividiert durch
SD	engl. standard deviation, dt. Standardabweichung	%	Prozent
SF	Standardfehler des Mittelwertes	∞	unendlich
SI	engl. self-incompatibel, dt. selbstinkompatibel	λ	Wellenlänge (Lamda)
s.o.	siehe oben	(X) _n	unbestimmt viele
SR	Sommerraps	*	Fluoreszenzmarkierung
ssp.	Subspezies	x	Hybrid, Hybridisierung
SSQ	engl. sums of squares, dt. Quadratsummen	°	Grad
		°C	Grad Celsius
		♀	weiblich
		♂	männlich
		μ	Mikro-

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Das U'sche Dreieck	4
Abbildung 2: Morphologie von Raps.	5
Abbildung 3: Verbreitungsgebiete von <i>Brassica napus</i>	7
Abbildung 4: Morphologie von Kohl.....	9
Abbildung 5: Morphologie von Rübsen.	11
Abbildung 6: Phylogenetischer Baum der diploiden Arten des Subtribus Brassicinae.....	13
Abbildung 7: Klimadiagramm für Osnabrück.....	21
Abbildung 8: Wetterdaten für den Flughafen Münster/Osnabrück.	23
Abbildung 9: Phänologie von Winterraps in Niedersachsen: Blühbeginn	23
Abbildung 10: Freilandversuch mit Unkrauttraps	27
Abbildung 11: Die wichtigsten Standorttypen verwilderter Rapspopulationen 1.	40
Abbildung 12: Die wichtigsten Standorttypen verwilderter Rapspopulationen 2.	41
Abbildung 13: Verwilderte Rapspopulationen im Raum Osnabrück 2004-2008.	43
Abbildung 14: Box Plot der Unterschiede im Blühbeginn.....	45
Abbildung 15: PCO-Analyse der zwölf untersuchten Rapsorten.	46
Abbildung 16: Cluster Analyse	48
Abbildung 17: Fundorte aller 2004-2008 kartierten <i>Brassica</i> -Bestände.....	53
Abbildung 18: Artenkombinationen aller 113 <i>Brassica</i> -Bestände	56
Abbildung 19: Standorte aller 2004-2008 kartierten Brassica-Populationen.....	56
Abbildung 20: Persistenz aller 2004-2008 kartierten <i>Brassica</i> -Bestände.	57
Abbildung 21: Lineare Regression der Chromosomenzahlen.....	60
Abbildung 22: Zwei Nachkommen der Population 54	66
Abbildung 23: Blütengröße von diploidem Rübsen, tetraploidem Rübsen und Raps.....	68
Abbildung 24: Morphologische Merkmale von Raps und tetraploiden Rübsen.....	68
Abbildung 25: Verwilderter tetraploider Rübsen.....	68
Abbildung 26: Artenkombinationen der Wildäcker und Blühstreifen	69
Abbildung 27: Graphische Darstellung Ergebnisse der Kreuzungen	72
Abbildung 28: Diagramm des Vorgehens und der Ergebnisse der Untersuchung.....	74
Abbildung 29: Beobachtete relative DNA Gehalte für tetraploiden Rübsen und Raps.....	77
Abbildung 30: Spanne der relative DNA-Gehalte der Nachkommenschaft von 4x Rübsen	77
Abbildung 31: Anzahl der Nachkommen mit morphologischen Rapsmerkmalen, Rapsallelen und abweichenden relativen DNA Gehalten.....	79
Abbildung 32 a-d: Pollenfärbung mit Karminessigsäure von Hybriden und tetraploidem Rübsen.....	80
Abbildung 33: Persistenz durch Samenbildung gegenüber Ausbreitung durch Transportverlust.	94
Abbildung 34: Population mit Rapsindividuen mit hellen und dunklen Blüten.....	94
Abbildung 35: Verbreitung von <i>B. rapa</i> und <i>Raphanus raphanistrum</i> in Deutschland	107
Abbildung 36: Raps sympatrisch mit <i>Raphanus</i>	111
Abbildung 37: Persistente diploide Rübsenpopulation.	116
Abbildung 38: Wildäcker mit tetraploidem Rübsen benachbart zu Rapsfeldern.....	125
Abbildung 39: Typische Wildackermischungen.....	137
Abbildung 40: Schematische Darstellung der wichtigsten Schritte der Ausbreitung von Transgenen aus dem Rapsanbau und Etablierung außerhalb des Anbaus	138

Abbildung 41: Standorttypen der verwilderten Rapspopulationen.....	191
Abbildung 42: Detaillierte Darstellung der Persistenz der verwilderten Rapspopulationen.	191
Abbildung 43: Populationsgrößen der <i>Brassica</i> -Bestände	193
Abbildung 44: Samenbildung der <i>Brassica</i> -Bestände	194
Abbildung 45: Versuchsanordnung des Freilandversuches	198

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: Häufigkeit und Auskreuzungspotenzial der wichtigsten Verwandten von Raps.....	16
Tabelle 2.1: Verwendete Mikrosatellitenprimer.....	30
Tabelle 2.2: Vereinfachtes Kreuzungsschema	36
Tabelle 3.1: Genetische Variation der zwölf <i>B. napus</i> Sorten	47
Tabelle 3.2: Verteilung der genetischen Variation (AMOVA) innerhalb und zwischen den 12 analysierten <i>B. napus</i> Sorten	47
Tabelle 3.3: Genetische Variation der 18 verwilderten Rapspopulationen.	50
Tabelle 3.4: Verteilung der genetischen Variation (AMOVA) innerhalb und zwischen den sieben analysierten <i>B. napus</i> Sorten und verwilderten Populationen.	51
Tabelle 3.5: Ergebnisse der Zuordnung.	52
Tabelle 3.6: Zusammensetzung nach Anzahl der <i>Brassica</i> -Arten innerhalb eines Bestandes.....	54
Tabelle 3.7: Relative DNA-Gehalte der untersuchten <i>Brassica</i> -Sorten und Zytotypen.	58
Tabelle 3.8: Relativer und absoluter DNA-Gehalt der neun untersuchten Arten.....	59
Tabelle 3.9: Mögliche Genomkombinationen unter Beteiligung reduzierter Gameten der Elternarten.....	61
Tabelle 3.10: Amplifizierte Fragmentzahl durch die Mikrosatelliten-Primerpaare.....	64
Tabelle 3.11: Pollenfertilität von Raps, diploidem Rübsen und triploiden Raps-Rübsen-Hybriden	66
Tabelle 3.12: Populationen mit tetraploidem Rübsen.....	67
Tabelle 3.13: Ergebnisse der Vorversuche.....	70
Tabelle 3.14: Anzahl der Kreuzungen, Schoten und Samen der verschiedenen Kreuzungstypen.....	72
Tabelle 3.15: Relative DNA-Gehalte der verwendeten Raps- und tetraploiden Rübsensorten.	75
Tabelle 3.16: Erwartungswerte des relativen DNA Gehaltes für Nachkommen unterschiedlicher Ploidiestufen	76
Tabelle 3.17: Pollenfertilität von Raps, tetraploidem Rübsen und den Hybriden.....	80
Tabelle 4.1: Erwartungswerte und Beobachtungen der Mikrosatellitenuntersuchungen... ..	89
Tabelle 7.1: Komplette Liste aller kartierten <i>Brassica</i> -Populationen	178
Tabelle 7.2: Verwendete Kultursorten	186
Tabelle 7.3: Verwendetes Saatgut im Freilandversuch mit Unkrautraps.....	189
Tabelle 7.4: Blühbeginn im Freilandversuch mit Unkrautraps.	190
Tabelle 7.5: Charakteristika einzelner, auffälliger Unkrautrapspopulationen.....	190
Tabelle 7.6: Vorkommen von verwildertem Raps.....	192
Tabelle 7.7: Fragenkatalog zur Berechnung von IHP-Werten.....	195
Tabelle 7.8: Berechnung von IHP-Werten.....	196
Tabelle 7.9: Mittelwerte der Kreuzungstypen.	197
Tabelle 7.10: Ergebnisse des Freilandversuches.....	199

1 Einleitung

Der Mensch nutzt und verändert seit jeher die ihn umgebende Umwelt. Die Auswirkungen des starken Bevölkerungswachstums haben bis heute zu einer massiven Ausbeutung natürlicher Ressourcen und Bedrohung der globalen Biodiversität geführt. Der durch den Menschen verursachte „globale Wandel“ beinhaltet folgende fünf Aspekte, die einen entscheidenden Einfluss auf die natürliche Biodiversität haben (Dukes & Mooney 1999, Sala 2000): (i) veränderte Landnutzung, welche zu häufigeren Störungen und Habitatfragmentierung führt, (ii) anthropogener Klimawandel durch Treibhausgase, (iii) erhöhte atmosphärische Stickstoffdeposition und saurer Regen, (iv) biologische Invasionen durch Verschleppung von Arten über ihre natürlichen Verbreitungsgebiete hinaus und (v) die Erhöhung des CO₂-Gehaltes der Atmosphäre.

Seit Beginn der Neuzeit expandierte der europäische Handel nach Übersee und überwand damit biogeographische Fernverbreitungsbarrieren, die zuvor einen Austausch zwischen Ökosystemen seit Millionen Jahren fast gänzlich unterbunden hatten. Große Mengen an Organismen wurden sowohl absichtlich als auch zufällig zwischen Regionen verschleppt und konnten sich zum Teil im neuen Areal ansiedeln. Als statistische Faustregel für die Etablierung von Pflanzen außerhalb ihres natürlichen Verbreitungsgebietes gilt die „Zehnerregel“ (engl. tens rule): 10% der eingeschleppten Pflanzen halten sich zunächst (unbeständig) in einer neuen Region. Von diesen können wiederum 10% sich dauerhaft in naturnahen Lebensräumen etablieren, und weitere 10% dieser Etablierten haben unerwünschte Auswirkung auf Artengemeinschaften, ökosystemare Funktionen oder das menschliche Wohl (Williamson & Brown 1986).

Als einheimisch in Europa gelten in der Regel Arten, die hier entstanden sind oder nach der letzten Eiszeit diesen Raum besiedelt haben (Kowarik 2003). Bei den eingewanderten bzw. eingeschleppten, nicht-heimischen Pflanzen differenziert man zeitlich zwischen Archäophyten (als Wendepunkt werden entweder die Entdeckung Amerikas durch Kolumbus 1492 n. Chr. oder das Jahr 1500 verwendet, Pyšek 1998, Kowarik 2002, Kowarik 2003, BfN 2005) und Neophyten (später eingewandert). Zu ersteren gehören z.B. zahlreiche Elemente unserer Ackerbegleitflora (*Agrostemma githago* L.,

Centaurea cyanus L., *Matricaria recutita* L., *Papaver rhoeas* L.), die aus dem mediterranen Raum oder Asien durch den Ackerbau nach Deutschland gelangten. Zumindest im Naturschutz werden diese den indigenen Arten gleichgestellt behandelt. Zu den Neophyten gehören zahlreiche interkontinentale Einwanderer wie *Senecio inaequidens* DC. (Südafrika) oder *Solidago canadensis* L. (Nordamerika) Erstere wurde unbeabsichtigt mit Schafswolle importiert, letztere wurde zunächst als Zierpflanze eingeführt. Kulturpflanzen (Zier- und Nutzpflanzen) sind eine wichtige Quelle für Neophyten, wenn sie – wie Raps (*Brassica napus* L.) – in der Lage sind, außerhalb der Kultur Flächen zu besiedeln.

Anpassungen, die für den Erfolg kolonisierender Arten (Arten, die neu in ein Habitat einwandern und neue Populationen gründen) verantwortlich sind, können vor dem Erreichen eines neuen Gebietes vorhanden sein (Prä-adaptationen) und/oder sich erst zu einem späteren Zeitpunkt aufgrund des veränderten Selektionsregimes evolutiv entwickeln (Brown & Marshall 1981).

1.1 Evolution von Unkräutern

Nutzpflanzen haben durch Züchtung und Selektion vom Menschen gewünschter Merkmale eine mehr oder weniger umfangreiche Domestikation erfahren. Der umgekehrte Prozess der Dedomestikation (Verwildern) führt zu verwilderten Pflanzen (engl. feral plants), welche von Nutzpflanzen abstammen, aber nicht des menschlichen Einflusses bedürfen, um sich zu reproduzieren. Das Verwildern ist ein kontinuierlicher Prozess, der aber sehr schnell stattfinden kann (Gressel 2005). Vom Menschen unerwünschte Pflanzen, die auf Nutzflächen oder anthropogen gestörten, ruderalen Habitaten vorkommen, bezeichnet man als Unkräuter (engl. weeds, Baker 1965, Baker 1974, Ellstrand et al. 1999). Unkräuter stammen aus drei verschiedenen Quellen (Mooney & Cleland 2001): Verwilderte Pflanzen und Volontäre, die nach dem Anbau von Nutzpflanzen wie z.B. Raps auftreten, können sich auf gestörten Standorten etablieren (Gressel 2005, Warwick & Stewart 2005). Neben diesen dedomestizierten Pflanzen können sich auch natürliche Pionierpflanzen an menschliche Störungen anpassen. Dazu gehören Ackerunkräuter, die sich co-evolutiv mit den Nutzpflanzen entwickeln und sich an die landwirtschaftlichen Bedingungen anpassen (engl.

crop mimics, z.B. *Camelina sativa* (L.) CR. in Leinfeldern, Hjelmqvist 1950). Außerdem können Unkräuter durch Hybridisierung und Introgression (Aufnahme von Genen eines Taxons in den Genpool eines anderen durch Rückkreuzung von Hybriden mit einem Elter) entstehen, zum Teil durch Kreuzung von Kulturpflanzen mit ihren wilden Verwandten (z.B. beobachtet in den Gattungen *Sorghum*, *Helianthus* oder *Oryza*, Ellstrand et al. 1999).

1.2 Die Gattung *Brassica*

Die Merkmale der Arten der Gattung *Brassica* wurden folgender Literatur und Floren zusammengefasst: Rich 1991, Körber-Grohne 1995, McNaughton 1995a und 1995b, Schmeil 1996, Rothmaler 2000 und 2002.

Brassica ist die namengebende Gattung der 3709 Arten in der 338 Gattungen umfassenden, monophyletischen Familie der Brassicaceae (Kreuzblütler, Cruciferae, Al-Shebaz et al. 2006). Die Familie ist morphologisch gut charakterisiert durch die Stellung und Anzahl der Blütenorgane. In der disymmetrischen Blüte stehen vier Kelchblätter alternierend zu vier Kronblättern. Es folgen zwei kurze äußere und vier längere innere Staubblätter sowie ein oberständiger Fruchtknoten, der aus zwei Fruchtblättern gebildet wird. Die Frucht ist eine Schote oder ein Schötchen und wird von einer falschen Scheidewand in zwei Kammern geteilt. Zahlreiche Kulturpflanzen entstammen den Brassicaceae und werden als Gemüse-, Öl-, Gewürz-, Arznei- und Futterpflanzen angebaut (Körber-Grohne 1995). Die Gattung *Brassica* umfasst 38 Arten (Warwick et al. 2000). Ihr entstammen alle Kohlsorten (z.B. Grünkohl, Brokkoli, Chinakohl), verschiedene Rüben (z.B. Steckrübe, Stoppelrübe, Kohlrabi), Senf-Arten (z.B. schwarzer Senf) und Ölfrüchte (z.B. Raps, Rübsen, brauner Senf). Die Ölfrüchte aus der Gattung *Brassica* bilden zusammen weltweit die dritt wichtigste Quelle für Pflanzenöle nach Sojabohne und Palmöl (Hall et al. 2005). Der Ursprung der Kulturarten liegt in den drei diploiden Arten *Brassica rapa* L. (syn. *B. campestris*, Rübsen, Genom AA), *Brassica oleracea* L. (Kohl, Genom CC) und *Brassica nigra* (L.) KOCH (schwarzer Senf, Genom BB). Durch allopolyploide Hybridisierung sind aus diesen drei Arten drei tetraploide Arten hervorgegangen (U 1935, Abbildung 1): *Brassica napus* (Raps, Steckrübe, Genomkombination AACC), *Brassica carinata* A. BRAUN (Abessinischer Senf, Genomkombination BBCC) und

Brassica juncea L. CZERN. (brauner oder indischer Senf, Genomkombination AABB).

1.2.1 *Brassica napus* L.

Die amphidiploide Art *B. napus* (AACC, $2n=38$) teilt sich in Ölraps (*B. napus* ssp. *oleifera*, syn. ssp. *napus*, Ölraps), Futterraps und Steckrübe (*B. napus* ssp. *napobrassica* (L.) HANELT, syn. ssp. *rapifera*, Steckrübe, Kohlrübe, Wrunke). Drei Lebensformtypen sind von *B. napus* bekannt. Die Steckrübe ist bienn, überdauert das erste Jahr als Rosette mit einer Speicherrübe und kommt, wie auch der Futterraps, erst im zweiten Jahr zur Blüte. Der Ölraps lässt sich auch in zwei Subspezies teilen: *B. napus* ssp. *annua* (Sommer-raps) und *B. napus* ssp. *biennis* (Winterraps). Sommerraps hat eine thero-phytische Lebensweise. Er keimt im Frühjahr, blüht im Frühsommer und überdauert den Winter als Same. Die winterannuelle Form ist ein Hemi-kryptophyt, der im ersten Jahr keimt, als Rosette den Winter überdauert und im Folgejahr zur Blüte kommt. Die Blütenbildung benötigt eine Vernalisation und wird von Langtagbedingungen gefördert. Raps bildet eine kräftige Pfahlwurzel und eine mehr oder weniger verzweigte kräftige Sprossachse, die je nach Standort und Sorte bis zu zwei Meter hoch werden kann (Abbildung 2). Die Laubblätter sind blaugrün, bereift, die unteren unbehaart,

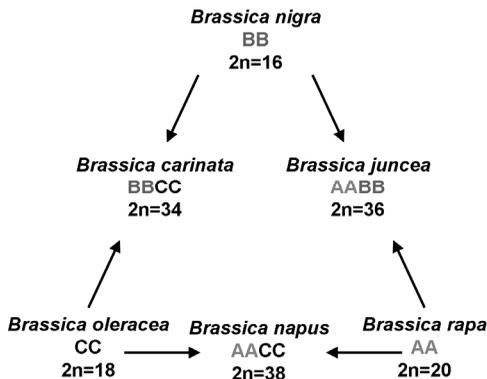


Abbildung 1: Das U'sche Dreieck illustriert die verwandtschaftlichen Beziehungen der drei diploiden und der resultierenden allotetraploiden *Brassica*-Arten (U 1935). A, B, C: Bezeichnung für die Genome, $2n$ = Chromosomenanzahl im doppelten Chromosomensatz.

gestielt und bilden zuerst eine vegetative Rosette. Am Stängel stehen sie wechselständig, sind meist kahl und halb stängelumfassend geöhrt. Am unteren Stängel sind die Blätter fiederspaltig. Die Teilung nimmt nach oben hin ab. Der Blütenstand ist eine Traube, in der die Knospen die aufgeblühten Blüten überragen. Die Blüten sind gelb, stark duftend und protogyn. Die Kelchblätter stehen aufrecht ab. Am Grund der Blüten befinden sich Nektarien. Raps ist selbstkompatibel und zeigt ein gemischtes Befruchtungssystem mit im Mittel etwa 30% Auskreuzung (Bateman 1955, Becker et al. 1992, Hüsken & Dietz-Pfeilstetter 2007).

Die Pollen werden sowohl durch Insekten, durch direkten Kontakt der Pflanzen im Feld und durch Wind übertragen (Hüsken & Dietz-Pfeilstetter 2007). Besonders die Honigbiene *Apis mellifera*, aber auch andere Bienen, *Bombus*-Arten, Schwebfliegen (Syrphidae) und Käferarten sind effektive Be-

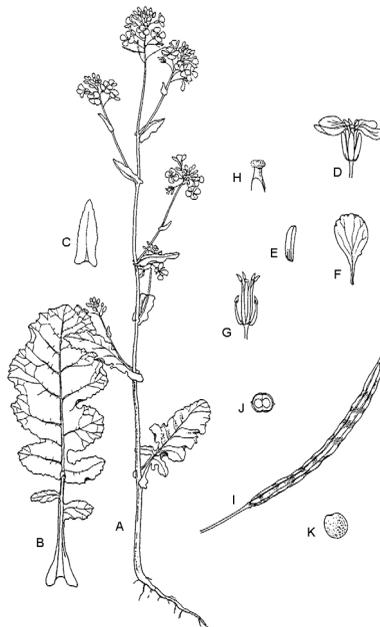


Abbildung 2: Morphologie von Raps (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera* (DC.) Metzger). A: Habitus, B: unteres Laubblatt, C: oberes Laubblatt, D: Blüte, E: Kelchblatt, F: Kronblatt, G: Staubblätter und Fruchtknoten, H: Narbe, I: Schote, J: Querschnitt Schote, K: Samen. Copyright P. Donovan (aus Rich 1991).

stäuber (Steffan-Dewenter 2003, Weekes et al. 2005, Jauker & Wolters 2008). Die Frucht ist eine geschnäbelte, 5-10 cm lange Schote die zahlreiche Samen enthält (durchschnittlich etwa 15-20 Samen pro Schote, maximal bis 40, Diepenbrock 2000). Die Samen sind kugelig blauschwarz bis braunschwarz und fett- und proteinreich. Sie besitzen keine primäre Dormanz (Pekrun et al. 1997). Die Ausbreitung erfolgt autochor (Samen fallen beim Öffnen der Schote auf den Boden und können sofort keimen), zoochor (Menzel 2006) und in großem Maßstab und über lange Distanzen hinweg hemerochor. Hierbei spielen der Verlust bei Ernte und Transport sowie die unbeabsichtigte Verschleppung z.B. adhäsiv an Fahrzeugen (von der Lippe & Kowarik 2007a, 2007b) und durch Erdaushub z. B. beim Straßenbau (Haeupler et al. 2004, Menzel 2006) wichtige Rollen.

Eine Wildform des amphidiploiden Hybriden Raps aus den Elternarten Rüben und Kohl ist nicht bekannt. Aufgrund verschiedener Zytoplasmatypen im Raps wird ein multipler Ursprung angenommen (Song & Osborn 1992). Der genau Entstehungsort und der genaue Zeitpunkt der Entstehung sind ungeklärt. Vermutet wird eine Entstehung im Mittelmeerraum, wo beide Elternarten natürlich vorkommen (Abbildung 3). Zeitlich kann dies schon in vorrömischer Zeit stattgefunden haben oder auch erst während des Mittelalters geschehen sein. Die Zuordnung historischer Quellen zu den Arten *B. napus* und *B. rapa* erweist sich als schwierig, da aufgrund der Ähnlichkeiten der Arten bis ins 17. Jahrhundert zwischen diesen nicht unterschieden wurde. Im Altertum berichten römische Schriftsteller von der Nutzung von *Brassica*-Rüben im Mittelmeerraum (Dioskorides und Plinius d. Ä., 1. Jh. n. Chr., zitiert in Körber-Grohne 1995). Auch für die im Mittelalter in Deutschland angebauten Rüben ist nicht sicher belegt, ob ausschließlich *B. rapa* oder auch *B. napus* verwendet wurde. Erst ab 16. Jahrhundert findet man in den Kräuterbüchern der Renaissance Abbildungen, die den heutigen Steckrüben stark gleichen. Für Raps als Ölfrucht ist der Anbau erst seit dem 17. Jh. in den Niederlanden sicher belegt.

Seit Mitte der 1980er Jahre werden in Deutschland fast ausschließlich glucosinolat- und erucasäurearme Doppel-Null-(00-) Winterappsorten angebaut. Diese können für Lebensmittel (Speiseöl, Margarine) und proteinreiches Tierfutter (Pressrückstände) verwendet werden. Rapsöl wird

als nachwachsender Rohstoff z.B. für die Produktion von Bio-Diesel und als technisches Öl verwendet. Daneben findet die Steckrübe als Wintergemüse und Viehfutter Verwendung. Früher wurden junge Raps-Blätter außerdem als Schnitt-, Scherkohl gegessen. Außerdem ist Raps Bestandteil von Gründüngungs- und Futtermischungen. Während in Kanada, USA, Australien, Süd- und Ostasien vorwiegend Sommerraps angebaut wird, ist in Europa der Winterraps dominierend. Der Anbau erfolgt meist in einer 3-4 jährigen Fruchtfolge, mit Getreide als Vor- oder Nachfrucht (Breckling et al. 2003). Neben den klassischen Liniensorten werden zunehmend Hybrid-sorten angebaut, die durch erhöhte Produktivität auffallen. Die Zuchtziele beziehen sich auf Winterhärte, Vegetationsdauer, Wuchsform, Standfestigkeit, Platzfestigkeit der Schoten, Kornertrag sowie Ölgehalt und Öl-zusammensetzung. Durch Resynthese von Raps aus den Ursprungsarten und Kreuzung mit nah Verwandten wird in der Pflanzenzüchtung die genetische Basis der Kultursorten erweitert und neue Eigenschaften werden integriert. Gentechnisch veränderter Raps wird bisher vor allem in den USA und Kanada großflächig angebaut, mit einem Schwerpunkt auf herbizid-resistenten Sommerrapsorten.

Raps ist eine der wichtigsten Nutzpflanzen in Europa und gewinnt zunehmend an Bedeutung als nachwachsender Rohstoff zur Energieproduktion (Biodiesel). Deutschland und Frankreich haben die größten Anteile an der europäischen Rapsanbaufläche (EU 2007: >6 Mio. ha, Utz &



Abbildung 3: Verbreitungsgebiete von *Brassica napus* (verändert nach MPIZ Köln o.J.). Grau: Anbauggebiete (Australien ergänzt), schwarz: vermutliche Ursprungsregion im Mittelmeerraum.

Ollier 2007). Im Untersuchungszeitraum fand in Deutschland eine Steigerung der Rapsanbaufläche 2004 von 1,26 Millionen Hektar auf 1,5 Millionen Hektar in 2007 statt (Statistisches Bundesamt 2004, 2007). 2008 ist ein Rückgang der Rapsanbaufläche auf 1,4 Millionen Hektar in Deutschland aufgrund gestiegener Getreidepreise, obligatorischer Flächenstilllegungen und ungünstiger Herbstwitterung zu verzeichnen (Statistisches Bundesamt 2008). Unter den deutschen Bundesländern belegte Niedersachsen 2007 Platz vier im Rapsanbau (2007: 150.000 ha, 2008: 120.000 ha, UFOP). Das Untersuchungsgebiet im südwestlichen Niedersachsen umfasst die Stadt Osnabrück und ihr Umland (etwa 30 km Radius, Abbildung 17) und schließt sowohl Agrarbiotope als auch ruderale Standorte im ländlichen und urbanen Raum ein. Winterraps wird hier vor allem als Ölfrucht angebaut, ist aber auch in verschiedenen Saatgutmischungen enthalten.

Raps kann als Unkraut unabhängig von der Kultur offene, ruderale Standorte besiedeln. In der floristischen Kartierung werden solche verwilderte Rapspopulationen oft nicht erfasst, und zur Verbreitung und dem Grad der Einbürgerung von wild wachsendem Raps gibt es wenige Daten (Wisskirchen & Haeupler 1998, Breckling et al. 2003). Ob dauerhafte, selbst reproduzierende Raps-Populationen im Untersuchungsgebiet vorkommen, soll in der vorliegenden Studie untersucht werden.

1.2.2 *Brassica oleracea* L.

Aus dem diploiden Wildkohl (Sammelart *B. oleracea* L., Genom CC, $2n=18$) wurden zahlreiche Kultursorten gezüchtet. Hierzu gehören: *B. oleracea* var. *acephala* (Grünkohl), var. *botrytis* (Blumenkohl), var. *capitata* (Kopfkohl), var. *gemmifera* (Rosenkohl), var. *gongyloides* (syn. ssp. *caulorapa*, Kohlrabi), var. *italica* (Brokkoli), var. *medullosa* (Markstammkohl) und var. *sabauda* (Wirsing).

Die Wildform des Kohls ist ein mehrjähriger Zwergstrauch, der an den Küsten und Gebirgen des Mittelmeers sowie auf Kalk- und Kreidefelsen an der Atlantikküste vorkommt. Das nördlichste Vorkommen und einzige Wildvorkommen in Deutschland findet man auf Helgoland. Im Gegensatz zu den Wildformen sind die Kultursorten des Kohls bienn und meist unverholzt. Die verschiedenen Wildformen des Mittelmeerraumes werden von einigen

Autoren als fünf Arten-Komplexe geführt, die sich jedoch untereinander kreuzen lassen. Sie unterscheiden sich durch ihre Wuchsform, Blattbeschaffenheit und Blütenfarbe. Die Form der Atlantikküste (*B. oleracea* ssp. *oleracea*) kommt an Küstenfelsen als verholzter Strauch vor, ist verzweigt, niedrig und gedungen. Die Blätter sind graugrün und bewachst, die Blüten sind gelb (Abbildung 4). Kohl ist ein obligater Auskreuzer aufgrund eines sporophytischen Selbstinkompatibilitätssystems (SI, Bateman 1955, Nasrallah & Nasrallah 1989). Die keltischen Wortstämme kol und kal, bresic sowie kap haben sich zu den heutigen Wörtern Kohl, *Brassica*, Kappes (= Kopfkohl) entwickelt und liefern früheste Nachweise auf die Nutzung des Kohls. Im Mittelmeerraum wird Kohl mindestens seit dem Altertum (in Griechenland im 4. Jh. v. Chr.) als Nutzpflanze kultiviert. Plinius (23-79 n. Chr., zitiert in Körber-Grohne 1995) beschreibt die wichtige Rolle des Kohls bei den Römern, der schon damals in verschiedenen Sorten be-

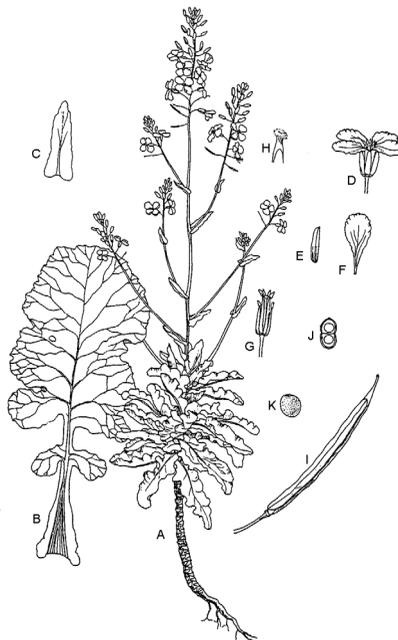


Abbildung 4: Morphologie von Kohl (*B. oleracea* L. ssp. *oleracea*). A: Habitus, B: unteres Laubblatt, C: oberes Laubblatt, D: Blüte, E: Kelchblatt, F: Kronblatt, G: Staubblätter und Fruchtknoten, H: Narbe, I: Schote, J: Querschnitt Schote, K: Samen. Copyright P. Donovan (aus Rich 1991).

kannt war. In Deutschland ist Kohl seit dem Mittelalter von wichtiger Bedeutung für die Ernährung. Die Formenvielfalt der Kultursorten ist in unterschiedlichen Regionen des Mittelmeerraumes durch Mutation und Selektion hervorgegangen. Genutzt werden unterschiedliche Teile der Pflanze. Der Kopfkohl besitzt einen kurzen Haupttrieb und bildet einen festen Kopf aus Blättern. Bei Brokkoli und Blumenkohl wird der gestauchte Blütenstand gegessen. Markstammkohl und Kohlrabi haben einen verdickten Stängel, während der Grünkohl frosthartes Blattgemüse bildet. Rosenkohl ist die jüngste Kulturform mit verdickten Seitenknospen (Röschen), die verwendet werden. Der Schwerpunkt des Kohlanbaus liegt in Asien und Europa, aber auch in den USA und weiteren Ländern wird Kohl angebaut.

1.2.3 *Brassica rapa* L. (synonym *B. campestris* L.)

Aus der diploiden Wildart *B. rapa* ssp. *campestris* (synonym *B. rapa* ssp. *sylvestris* (L.) JANCHEN, *B. rapa* ssp. *eu-campestris*, Genom AA, $2n=20$) mit euro-asiatischen Vorkommen sind in einem europäischen und einem asiatischen Zweig zahlreiche interfertile Unterarten und Kulturformen hervorgegangen. Hierzu gehören (i) die Ölrüben *B. rapa* ssp. *oleifera* (Rübsen, Ölrübe, Rübsamen, Rübsenreps, Ursprung Europa), ssp. *dichotoma* (Toria, Indischer Raps) und ssp. *tricularis* (syn. ssp. *sarson*, Sarson, letztere beide mit Ursprung im Fernen Osten). (ii) In Asien wurden aus den letzteren Subspezies die Blattgemüse *B. rapa* ssp. *pekinensis* (Chinakohl), ssp. *chinensis* (Pak Choi), ssp. *narinosa* (Taatsai) und ssp. *nipposinica* (Mibuna, Mizuna) gezüchtet. (iii) Aus den europäischen Ölrübsen entstand die ursprünglich bienne Rübenform *B. rapa* ssp. *rapa*, aus der zahlreiche Futterrüben und Gemüsesorten hervorgegangen sind (syn. ssp. *rapifera*, mit Rübe: Stoppel-, Herbst-, Weiß-, Wasser-, Mai-, Märkische Rübe, Teltower Rübchen, als Stängelgemüse: Rübstiel; Stielmus). Daneben gibt es Formen, die bisher keiner Unterart zugeordnet wurden, wie Broccoletto (ähnlich Brokkoli mit vergrößerten Knospen, Südeuropa), das Blattgemüse „Southern Greens“ (USA) sowie zahlreiche Hybridzüchtungen. Neben diploiden Rübsensorten werden in Deutschland auch tetraploide Rübsensorten angebaut.

Ob die annuelle, wilde Ursprungsform aller Kulturformen (ssp. *campestris*, Wildrübe) heute noch existiert oder ob die heute als Unkräuter auftretenden Populationen auf verwilderte Ölrübsen zurückgehen, ist unsicher

(McNaughton 1995a). Als Unterscheidungsmerkmal dient die Samenfarbe, die bei Subspezies *oleifera* rotbraun ist, während Subspezies *campestris* graue bis schwarze Samen besitzt (Weber 1995, Oberdorfer 2001). Es ist unbekannt, ob letztere im Untersuchungsgebiet vorhanden ist (Weber 1995).

Wie auch beim Raps gibt es bei Ölrüben eine winter- und eine sommerannuelle Lebensform. Rüben ähnelt in seiner Morphologie dem Raps (Abbildung 5, artspezifische morphologische Unterscheidungsmerkmale siehe Kapitel 2.2.4). Im Unterschied zum Kulturraps sind die Schoten und Samen kleiner und die Samen erucasäurehaltig. Rüben sind selbstinkompatibel, also obligate Auskreuzer (Bateman 1955, Nasrallah und Nasrallah 1989). Wilde Rüben zeigen im Vergleich zu den Kulturformen einen großen Anteil von Samen mit primärer Dormanz (Landbo & Jørgensen 1997).

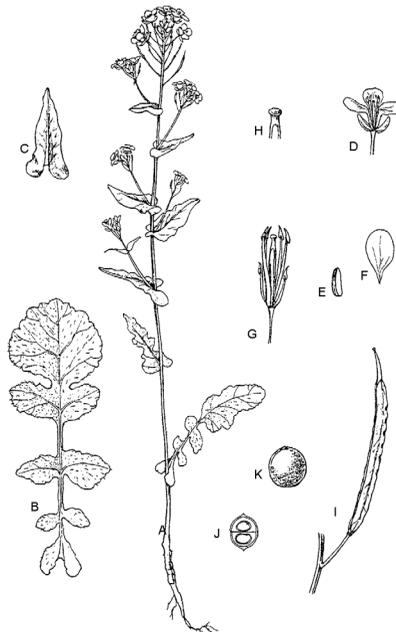


Abbildung 5: Morphologie von Rüben (*B. rapa* L. ssp. *sylvestris* (L.) JANCHEN). A: Habitus, B: unteres Laubblatt, C: oberes Laubblatt, D: Blüte, E: Kelchblatt, F: Kronblatt, G: Staubblätter und Fruchtknoten, H: Narbe, I: Schote, J: Querschnitt Schote, K: Samen. Copyright P. Donovan (aus Rich 1991).

Rübsen wird als Kulturpflanze kultiviert und kommt als Pionier an gestörten Standorten vor. In England sind wilde Rübsenvorkommen entlang von Flüssen bekannt (Wilkinson et al. 2003). Die generelle Einordnung von *B. rapa* als Neophyt (FloraWeb, BioFlor, Garve 2007) statt als Archäophyt ist aufgrund historischer Funde und historischer Nutzung in Mitteleuropa umstritten (Körber-Grohne 1995, Düll & Kutzelnigg 2005). Andere Autoren hinterfragen, ob zumindest die Wildrübe (*B. rapa* ssp. *campestris*) auch indigen ist (Loos 2004). Das Verbreitungsgebiet von *B. rapa* erstreckt sich heute von Europa über Nordafrika bis Asien einschließlich China. Älteste Samenfunde aus Mitteleuropa stammen aus steinzeitlichen Siedlungen (Oberdorfer 2001, Heyland 2006). Hier trat die Wildform wahrscheinlich als Unkraut auf. Eine prähistorische Nutzung in Europa ist unsicher. Seit dem Altertum ist die Nutzung der Rüben im Mittelmeerraum belegt. Mindestens seit dem frühen Mittelalter wird Rübsen in Deutschland als Gemüsepflanze kultiviert. Wilde Vorkommen verschiedener Pflanzen wurden im 13. Jahrhundert zur Ölgewinnung besammelt, hierzu gehörte eventuell auch der Rübsen. Im 16. oder 17. Jahrhundert wurden Rübsen zur Gewinnung von Leuchtöl und auch als Speiseöl angebaut. Heute werden die verschiedenen Unterarten vor allem in Europa, Vorderasien bis Pakistan, Nordchina und Mittelasien kultiviert. Wirtschaftliche Bedeutung hat Ölrübsen in Kanada, Schweden und Westasien mit abnehmender Tendenz. Er wächst niedriger als Raps und liefert einen geringeren Kornertrag mit weniger Ölgehalt. Außerdem werden Winterrübsen als Zwischenfrüchte, zur Gründüngung, als Erosionsschutz, zur Stickstoffanreicherung des Bodens, als Grünfutter und zunehmend als Koferment zur Biogasgewinnung angebaut. Rübsen ist sowohl in seiner Rüben- als auch in seiner Ölform Bestandteil von Futtermischungen für Wild.

1.2.4 Nah verwandte Arten aus den Brassicinae

Der Tribus Brassiceae, zu dem die Gattung *Brassica* gehört, ist nach molekularen Daten monophyletisch, allerdings ist die Gattung *Brassica* dies nicht (Abbildung 6, Warwick und Black 1991, Warwick & Sauder 2005). *Brassica* wird in den Subtribus Brassicinae eingeordnet, der nach Restriktionsanalysen der Chloroplasten DNA aus zwei Linien besteht. Zur Rapa-Oleracea-Linie (A- bzw. C-Genom) gehören neben den namensgebenden *Brassica*-Arten *B. rapa* und *B. oleracea* die Arten *Diplotaxis*

tenuifolia sowie *Eruca sativa*. Zur Nigra-Linie (B-Genom) gehören *B. nigra*, *Sinapis arvensis*, *S. alba*, sowie *Hirschfeldia incana* (Warwick & Black 1991, Warwick et al. 1992). Neuere Studien zeigen, dass die Stellung von einzelnen Taxa innerhalb des Subtribus und der Linien markerabhängig variiert (Yang et al. 1998, Heenan et al. 2002) oder dass zwar zahlreiche Gruppierungen der zwei Linien erhalten bleiben, nicht jedoch die Linien an sich (Warwick & Sauder 2005). Für die Gattung *Raphanus* wird ein hybridogener Ursprung angenommen (Yang et al. 2002). Loos (2004) schlägt auf der Basis der molekularen Untersuchungen eine neue Gliederung und teilweise Umbenennung der zum Teil polyphyletischen Taxa Brassicaceae vor, die die phylogenetischen Abstammungen berücksichtigt.

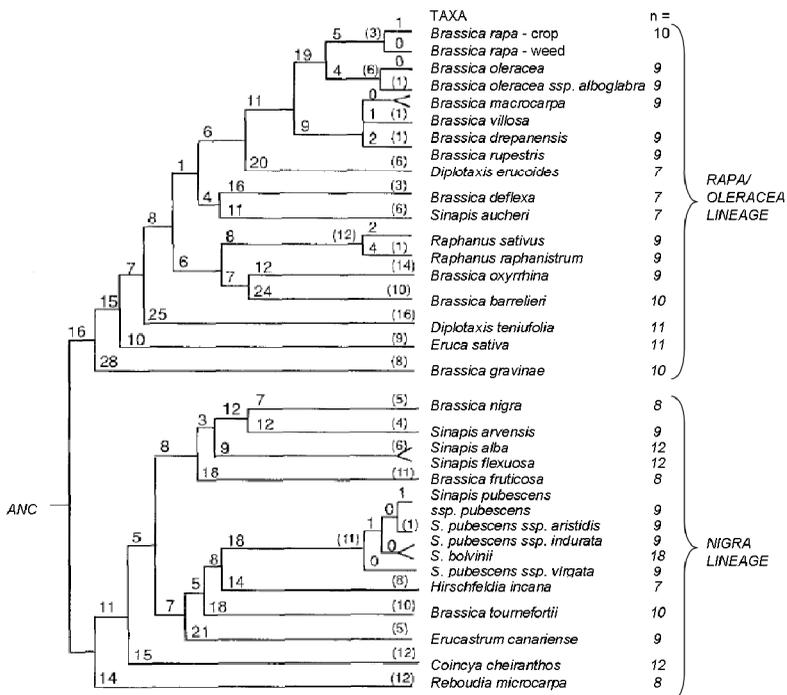


Abbildung 6: Phylogenetischer Baum der diploiden Arten des Subtribus Brassicaceae nach Warwick & Black (1991) basierend auf einer PAUP Analyse der Chloroplasten-Restriktionsdaten. Die Zahlen über den Ästen zeigen die minimale Anzahl von Mutationsschritten während der Evolution der Taxa. Anzahl der art- oder gattungsspezifische Mutationen sind in Klammern angegeben. ACN: Hypothetischer gemeinsamer Vorfahre.

Hier soll jedoch die gängige Nomenklatur der Arten verwendet werden. Hybridisierungen zwischen den Linien und Gattungen sind in verschiedenen Studien nachgewiesen worden (FitzJohn et al. 2007). Hybridisierungen zwischen *Brassica* und *Sisymbrium* (Tribus Sisymbrieae) waren bisher nicht erfolgreich (FitzJohn et al. 2007), weshalb auf diese nicht weiter eingegangen werden soll.

Die meisten der nahen Verwandten von Raps, Kohl und Rübsen stammen ursprünglich aus dem Mittelmeerraum, werden in Deutschland kultiviert oder treten als Archäophyten oder Neophyten auf. Typischer Weise besiedeln sie störungsreiche Habitats wie Flussufer, ruderal Standorte oder kommen als Ackerunkräuter vor. Sie sind annuell oder bienn. Alle im Folgenden beschriebenen Arten aus dem Subtribus Brassicinae werden als potenzielle Kreuzungspartner von Raps dikutiert (Chèvre et al. 2004).

Brassica nigra (L.) KOCH. (Schwarzer Senf) ist eine alte Kulturpflanze und gilt in Deutschland entlang vieler Flussläufe als eingebürgert (FloraWeb). Der Sareptasenf (*B. juncea* (L.) ČZERN.) kommt an ruderalen Standorten vor und wurde aus Asien eingeschleppt. Die Samen von *Sinapis alba* L. (Weißer Senf) können als Gewürz, Mostrich und Ölquelle verwendet werden. Öfter wird *S. alba* als Grünmasse (Viehfutter) und zur Gründüngung (Zwischenfrucht) angebaut. *Sinapis arvensis* L. (Ackersenf) ist ein Unkraut auf Äckern und in ruderalen Habitats und ist archäphytisch als Kulturfolger aus dem Mittelmeerraum eingewandert (Düll & Kutzelnigg 2005). *Raphanus sativus* L. wird als Rettich und Radieschen kultiviert, ist aber in seiner Ölform, wie auch die *Sinapis*-Arten, in zahlreichen Blühstreifen-, Gründünger und Futtermischungen enthalten und kann aus dem Anbau verwildern. Die verwandte Art *Raphanus raphanistrum* L. (Hederich, Archäophyt, bzw. Neophyt bei FloraWeb) tritt als Unkraut und an ruderalen Standorten spontan auf. An ruderalen Standorten können außerdem die tetraploide Art *Diplotaxis muralis* (L.) DC. (Mauer-Doppelsame) und die diploide Art *D. tenuifolia* (L.) DC. (schmalblättriger Doppelsame) als ausdauernde, etablierte Neophyten vorkommen. *Hirschfeldia incana* (L.) LAGRÈZE-FOSSAT (Bastardsenf, Grausenf) stammt wie auch die *Diplotaxis*-Arten aus dem Mittelmeerraum und besiedelt ebenfalls ruderal Standorte. *Erucastrum gallicum* (WILLD.) O.E. SCH. (Französische Hundsrauke) gilt für Deutschland als Archäophyt (FloraWeb). *Eruca sativa* MILLER (syn.

E. vesicaria (L.) CAV EM. THELL., Rauke) ist eine alte, mediterrane Kulturpflanze, die in den letzten Jahren als Rucola wieder in Mode gekommen ist (unter dem selben Namen wird auch *D. tenuifolia* verwendet).

1.3 Genfluss, Hybridisierungen und Introgression

1.3.1 Voraussetzungen

In der umfassendsten Definition kann Genfluss als der Austausch von Genen zwischen verschiedenen, verwandten Populationen definiert werden, welcher bei Pflanzen durch Migration von Pollen oder Diasporen geschieht. Besteht Genfluss zwischen genetisch differenzierten Populationen einer Art spricht man auch von intraspezifischen Hybridisierungen. Ob zwei Taxa erfolgreich hybridisieren, hängt von prä- und postzygotischen Reproduktionsbarrieren ab (Rieseberg & Carney 1998). Voraussetzungen sind unter anderem, dass die Pflanzentaxa in ausreichender räumlicher Nähe vorkommen und sich in ihren Blühphasen überschneiden. Die Vektoren der Pollenverbreitung müssen einen Transfer von Pollen ermöglichen (z.B. unspezialisierte Bestäuber, Wind), Pollen und Narbe müssen kompatibel sein und der Fremdpollen muss sich gegen arteigene Konkurrenz behaupten, um nach Pollenkeimung und Pollenschlauchwachstum die Eizelle erfolgreich zu befruchten. Schließlich muss sich die befruchtete Eizelle zu einem keimungsfähigen Samen und weiter zu einem lebensfähigen, fertilen Hybriden entwickeln. Kreuzen die Hybriden mit einem Elter zurück, können sich artfremde Gene dauerhaft im Genpool eines Kreuzungspartners etablieren (Introgression). Für diesen Prozess ist die Fitness der Hybrid- und Folgegenerationen entscheidend. Hybridisierungen zwischen Taxa sind ein häufiger und wichtiger Faktor für die pflanzliche Evolution und ein wichtiger Artbildungsmechanismus (Arnold 1992, Rieseberg & Ellstrand 1993).

1.3.2 Genfluss bei Raps

FitzJohn et al. (2007) fassen zusammen, dass von 43 getesteten Arten 23 erfolgreich mit Raps hybridisierten (F_1 -Hybride in mindestens einer Studie bei Handbestäubung). Tabelle 1.1 zeigt die bedeutendsten potenziellen Hybridisierungspartner von Raps in Deutschland, differenziert zwischen erfolgreichen Hybridisierungen durch Handbestäubungen und unter Freilandbedingungen und nachgewiesener Introgression in natürlichen

Populationen. Hinsichtlich der Introgression wird ausschließlich der Genfluss von der Kulturart in die Wildpopulation betrachtet. Mit In-vitro-Techniken zur Überwindung postzygotischer Barrieren (embryo rescue, ovary culture) können künstlich weitere Arten mit Raps gekreuzt werden. Diese Methoden finden in der Pflanzenzüchtung Anwendung, um artfremde Eigenschaften in die Kulturpflanze zu integrieren.

Tabelle 1.1: Status und Auskreuzungspotenzial der wichtigsten in Deutschland vorkommenden Verwandten von Raps. Status: W: Wild-, K: Kulturpflanze, N: Neophyt, A: Archäophyt, Statusangaben aus Schmeil (1996), Düll & Kutzelnigg (2005), Wisskirchen & Haeupler (1998), BioFlor und FloraWeb. *kennzeichnet Abweichungen in den Statusangaben bei FloraWeb oder BioFlor. Kreuzungserfolg: -: negativ (Hybride nur mit Hilfe von Labormethoden erzeugt), H: Handbestäubungen, F: spontan unter Feldbedingungen (Chèvre et al. 2004, FitzJohn et al. 2007).

Art	Status in Deutschland	Kreuzungserfolg mit Raps	Introgression in wilde Populationen
<i>Brassica napus</i>	K, N (unbeständig)	H, F	-
<i>Brassica rapa</i>	K, A, bzw. *N (eingebürgert)	H, F	Ja
<i>Brassica oleracea</i>	W (Helgoland), K, N (unbeständig)	H, F	Ja
<i>Brassica nigra</i>	K, N (eingebürgert)	H	Nein
<i>Brassica juncea</i>	N (unbeständig)	-	-
<i>Raphanus raphanistrum</i>	A bzw. *N	H, F	Nein
<i>Raphanus sativus</i>	K, N (unbeständig)	H	Nein
<i>Sinapis arvensis</i>	A	H, F	Nein
<i>Sinapis alba</i>	K, N (unbeständig)	H	-
<i>Diplotaxis muralis</i>	N (eingebürgert)	H	-
<i>Diplotaxis tenuifolia</i>	N (eingebürgert)	H	-
<i>Hirschfeldia incana</i>	N (eingebürgert)	H, F	Nein
<i>Eruca sativa</i>	K, N (unbeständig)	-	-
<i>Erucastrum gallicum</i>	A	-	-

Genfluss zwischen angebautem Raps, verwildertem Raps und nahen Verwandten wird besonders hinsichtlich des möglichen Anbaus transgener Rapssorten in Deutschland kontrovers diskutiert. Es wird befürchtet, dass sich die transgenen Eigenschaften durch Hybridisierung und Introgression mit verwilderten oder wilden Verwandten außerhalb des Anbaus etablieren können. Verwilderte Rapspopulationen sind ein Unsicherheitsfaktor, da sie als Trittsteine für Genfluss dienen können. Wenn transgene Eigenschaften die Fitness von Populationen erhöhen, könnte ein erhöhtes Invasionspotenzial der Kulturart oder kreuzkompatibler Arten in landwirtschaftlichen oder natürlichen Habitaten resultieren (u.a. Pilson & Prendeville 2004). Um abschätzen zu können, wie bedeutend der Faktor Genfluss für eine Region ist, sind lokale Studien unabdingbar, da sich in den einzelnen Agrarräumen die Anbaupraxis, die Sortenwahl und die Artenzusammensetzung der nahen Verwandten stark unterscheiden können (Hall et al. 2005).

1.4 Fragestellungen

Diese Studie umfasst drei große Themenkomplexe: 1) die Persistenz und die Variabilität von Unkrautrapspopulationen, 2) Auskreuzungen zwischen Raps und nah verwandten Arten sowie 3) hierbei im Speziellen: Untersuchungen zum Hybridisierungspotenzial von Raps und tetraploidem Rübsen. Im Rahmen dieser Themenkomplexe lassen sich folgende Fragen aufstellen, die in dieser Studie bearbeitet werden sollen.

Teil 1: Untersuchungen an Unkrautraps: Herkunft, Persistenz und genetische Variation

- Bleiben Unkrautrapspopulationen im Osnabrücker Land über mehrere Vegetationsperioden hinweg als überdauernde und selbsterhaltende (sich selbst reproduzierende) Populationen außerhalb des Anbaus bestehen und können sie somit als Trittsteine für Genfluss dienen?
- Sind Unkrautrapspopulationen ein Spiegelbild der aktuell angebauten Rapsorten?
 - Bestehen sie aus einzelnen oder mehreren Sorten?
 - Welche Quellen für genetische Variabilität können identifiziert werden?
- Kommt es zu (intraspezifischen) Hybridisierungen zwischen den unterschiedlichen Quellen?
- Weichen Unkrautpopulationen hinsichtlich phänotypischer Merkmale und der Variabilität dieser Merkmale von Sortenraps ab?

Zur Bearbeitung dieser Fragestellung wurden verwilderte Rapspopulationen über einen Zeitraum von fünf Vegetationsperioden im Osnabrücker Land mittels Kartierungen erfasst. Populationen aus dem Untersuchungsgebiet wurden mit Hilfe molekularer Marker (Mikrosatelliten) charakterisiert und mit Rapsorten verglichen (Elling et al. 2009a). Die letzte Fragestellung wurde in einem Freilandversuch mit Unkrautraps von Friedrich Koller (2007, unveröffentlicht) in Form einer Diplomarbeit bearbeitet. Das Saatgut stammt aus den Aufsammlungen aus dieser Studie. Einzelne Ergebnisse des Freilandversuches sollen hier zusammengefasst im Gesamtkontext diskutiert werden.

Teil 2: Potenzielle Kreuzungspartner

- Besteht die Möglichkeit der Hybridisierung von Raps und nahen Verwandten - sowohl räumlich als auch zeitlich?
 - Welche nah verwandten, potenziellen Hybridisierungspartner kommen im Untersuchungsgebiet zusammen mit Raps vor?
 - Überschneiden sich die Blühphasen im Untersuchungsgebiet?
- Können Hybride identifiziert werden?

Durch Kartierungen von *Brassica*-Populationen im Untersuchungsgebiet wurden potenzielle Hybridzonen zwischen verschiedenen nah verwandten Arten identifiziert. Mit Hilfe durchflusszytometrischer Messungen und Mikrosatelliten-Untersuchungen wurden Hybride identifiziert und hinsichtlich ihrer Pollenfitness charakterisiert.

Teil 3: Tetraploider Rübsen

- Kann tetraploider Rübsen mit Raps bei Handbestäubung hybridisieren?
- In welchem Ausmaß finden Hybridisierungen zwischen tetraploiden Rübsen (♀) und Raps (♂) unter Freilandbedingungen statt?
 - Welche Charakteristika (Genomkomposition, Morphologie, Fitness) weisen die F₁-Nachkommen auf?
- Sind homoploide (tetraploiden) Hybride aus *B. napus* und tetraploidem *B. rapa* fitter als triploide Hybride zwischen *B. napus* und diploidem *B. rapa* oder führt die unbalancierte Chromosomenzahl in den tetraploiden Hybriden ($2n=4x=39$) zu einer reduzierten Fitness?

Diese Fragestellungen sind im Rahmen der vorliegenden Studie neu aufgeworfen worden. Ziel ist es, das Potenzial von tetraploidem Rübsen mit Raps auszukreuzen, abzuschätzen und mit dem von diploidem Rübsen zu vergleichen. Hybridisierungen zwischen den Arten wurden durch Handbestäubungen und in einem Freilandversuch erzielt. Die resultierenden Hybride aus tetraploiden Rübsen und Raps wurden morphologisch, durchflusszytometrisch, molekular und hinsichtlich ihrer Pollenfertilität charakterisiert (Elling, Hochkirch, Neuffer & Bleeker 2009b, zur Veröffentlichung angenommen). Ein großer Teil der Fragestellungen wurde in der Diplomarbeit von Maren Hochkirch (geb. Müller 2007, unveröffentlicht) bearbeitet und im Rahmen der vorliegenden Arbeit vervollständigt.

2 Material und Methode

2.1 Untersuchungsgebiet: Raum Osnabrück

Die floristischen und populationsbiologischen Erhebungen erfolgten in den Jahren 2004 bis 2008 im südwestlichen Niedersachsen in einem ca. 30 km Radius um die Stadt Osnabrück. Zum Untersuchungsgebiet gehören neben dem Stadtgebiet Osnabrück der angrenzende Landkreis Osnabrück, sowie Teile der umgebenden nordrhein-westfälischen Gemeinden des Tecklenburger Landes und des Münsterlandes. Das Untersuchungsgebiet umfasst sowohl urbane Gebiete als auch Agrarbiotope. Der Osnabrücker Raum ist topographisch geprägt durch die von Nordwesten nach Südosten verlaufenden Höhenzüge des Teutoburger Waldes mit seinen eiszeitlich Lössablagerungen, das Osnabrücker Hügelland, das Wiehengebirge und die flachen Geest- und Hochmoorgebiete im Norden. Klimatisch liegt Osnabrück aufgrund seiner milden, feuchten Winter und gemäßigt warmen, humiden Sommer im Übergangsbereich zwischen dem ozeanischen Klima und der subozeanischen, östlich angrenzenden Klimaregion (Abbildung 7, effektive Klimaklassifikation nach Troll & Pfaffen 1964). Abbildung 8 zeigt die mittlere Temperatur und den monatlichen Niederschlag für den gesamten Untersuchungszeitraum.

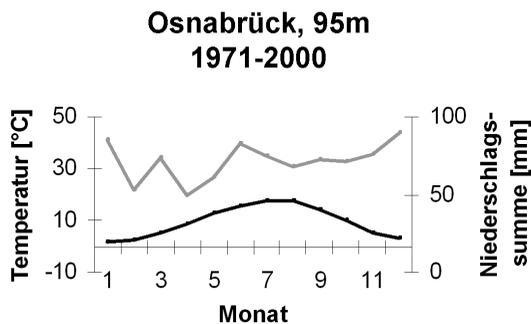


Abbildung 7: Klimadiagramm für Osnabrück. Niederschlag: graue Kurve, Temperatur: schwarze Kurve. Angegeben sind die langjährigen Mittel für die einzelnen Monate (1971-2000), Jahresmittel für Osnabrück: 9,4°C, 856 mm (Mühr 2007). Humides Klima: die Niederschlagskurve übersteigt die Temperaturkurve (Temperatur zu Niederschlag im Verhältnis 1:2, ökologisches Klimadiagramm nach Walter-Lieth, Walter et al. 1960).

2.1.1 Rapsphänologie in Niedersachsen 2004-2008

Schwankungen der Witterung (Abbildung 8) führten zu zeitlich verschobenen Phänologien der untersuchten Pflanzen in den einzelnen Jahren. Für die Phänologie von Winterraps im landwirtschaftlichen Anbau in Niedersachsen und Deutschland liegen detaillierte Angaben des Deutschen Wetterdienstes vor. Winterraps wird in Niedersachsen Ende August (mehrfährigen Mittel für Niedersachsen: 27.08.) gesät und läuft Anfang September (Mittel: 06.09.) auf. Nach der Überwinterung als Rosette schießen die Pflanzen Anfang April (Mittel: 04.04.), bilden ihre Knospen Mitte April aus (Mittel: 11.04.) und beginnen Ende April zu blühen (Mittel: 28.04., Abbildung 9). Die Blühphase endet Ende Mai (Mittel: 24.05.). Die Ernte erfolgt Ende Juli (Mittel: 23.07.).

Zwischen den Untersuchungsjahren traten erhebliche Unterschiede in den Eintrittsterminen auf. 2004 begann die Rapsblüte im niedersächsischen Jahresmittel etwa fünf Tage vor dem mehrjährigen Mittelwert (Abbildung 9). Die Ernte verspätete sich um etwa eine Woche, allerdings mit Rekord-erträgen. Nach einem milden Winter 2004/2005 lag der Beginn der Rapsblüte 2005 fünf Tage vor dem Mittelwert. Das Blühende lag etwa vier Tage später als im Mittel. Nach einem warmen Juni und einem nassen Juli erfolgte die Ernte etwa drei Tage später als im Mittel. Dem kalten Winter 2005/2006 folgte ein nasser Frühling, der zu einer Verspätung des Blühbeginns und -endes führte (ca. acht bzw. fünf Tage). Erst im Juni setzte eine trocken, warme Sommerwitterung ein, so dass der Rückstand aufgeholt wurde (Ernte einen Tag nach dem Mittelwert). Der Winter 2006/2007 war der wärmste seit Beginn der regelmäßigen Wetteraufzeichnungen und wurde gefolgt von einem warmen Frühjahr, so dass die Rapsblüte 2½ Wochen vorzeitig begann und entsprechend früh endete. Im nassen Sommer 2007 erfolgte die Ernte Mitte Juli (neun Tage vor Mittelwert). Zur Aussaat 2007 waren die Bedingungen ungünstig nass, der folgende Winter war mild und die Rapsblüte trat 2008 fünf Tage vor dem Mittel ein. Die Blüte endete ebenfalls einige Tage früher, die Ernte erfolgte ein Tag vor dem langjährigen Mittelwert.

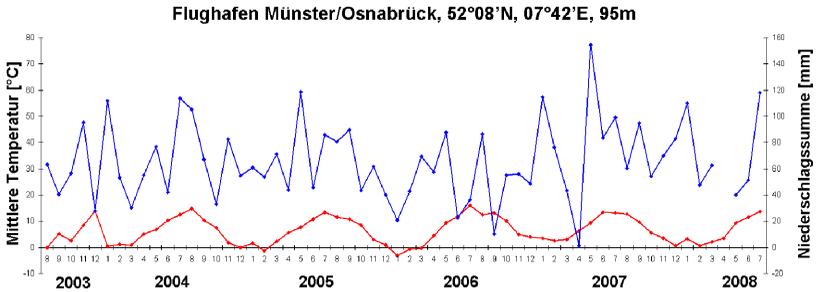


Abbildung 8: Wetterdaten für den Flughafen Münster/Osnabrück für August 2003 bis Juli 2008. Rote Linie: mittlere monatliche Temperatur (2 m über dem Erdboden), blaue Linie: monatliche Summe der Niederschläge (Niederschlagswert für April 2008 fehlt, Deutscher Wetterdienst, Stand August 2008). Humide Monate: Niederschlagskurve liegt über der Temperaturkurve, aride Monate: Niederschlagskurve liegt unter oder gleich der Temperaturkurve (Temperatur zu Niederschlag im Verhältnis 1:2, ökologisches Klimadiagramm nach Walter-Lieth, Walter et al. 1960).

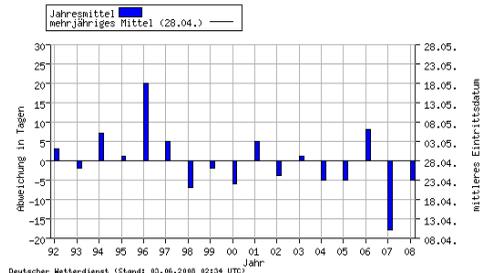
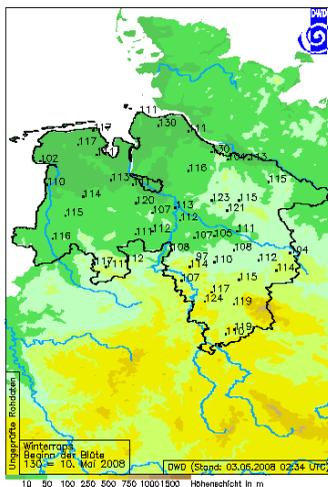


Abbildung 9: Phänologie von Winter rapeseed in Niedersachsen: Blühbeginn (Deutscher Wetterdienst). Die Karte gibt die Verteilung der Eintrittstermine 2008 in Tagen für einzelne niedersächsische Regionen an. Die Graphik rechts zeigt die Eintrittsdaten seit 1992 im Vergleich zum langjährigen Mittel.

2.2 Pflanzenmaterial: Anzucht und Herkunft

2.2.1 Kartierungen im Raum Osnabrück

Zu Beginn der Rapsblüte wurden in den Jahren 2004 und 2005 vor allem verwilderte Rapspopulationen erfasst. Die Bestände wurden zumeist per PKW aufgefunden. Von 2005 bis 2007 wurden vorwiegend Mischbestände verschiedener *Brassica*-Arten hinzugenommen. Alle seit 2004 kartierten Populationen wurden jährlich zur Blütezeit auf ihr Bestehen hin kontrolliert. Dabei wurden folgende Parameter aufgenommen: Fundort (auf Basis der topographischen Karten 1:25.000, LNG Niedersachsen und Landesvermessungsamt NRW), Standort (reduziert auf folgende Haupttypen: 1. Straßenrand, Beete, Grünstreifen, 2. Ausfallraps, Ackerränder, Durchwuchs, 3. Baugebiete, -brachen, 4. Gleise und Bahnübergänge, 5. angebaute Wildäcker, Zwischenfrüchte und Blühstreifen), Populationsgröße, *Brassica*-Artenzusammensetzung und Kreuzblütler-Begleitflora. Die Artbestimmung erfolgte mit folgenden Bestimmungsbüchern: „Rothmaler - Exkursionsflora von Deutschland“ (Band 3, 2000; Band 4, 2002), „Schmeil, Fitschen - Flora von Deutschland“ (Schmeil 1996), „Flora von Südwest-Niedersachsen und dem benachbarten Westfalen“ (Weber 1995) und „Crucifers of Great Britain and Ireland“ (Rich 1991). Bei Unsicherheiten wurden Belegexemplare mit den Brassicaceen-Experten AG Botanik nachbestimmt. Für weitere Untersuchungen wurde Blattmaterial geerntet, auf Eis transportiert und bei minus 80°C gelagert. Im Frühjahr (April bis Mai; z.T. bis Juni) aufgefundene Bestände wurden zur Fruchtreife (Juli bis August) vor der Ernte der Rapsfelder abermals hinsichtlich des erfolgreichen Samenansatzes kontrolliert. Saatgut wurde individuell geerntet. Nach Trocknung erfolgte die Lagerung zunächst bei 4°C und schließlich eingeschweißt bei minus 20°C.

In Beständen mit diploidem *B. rapa* wurde die Samenfarbe des gesammelten Saatgutes notiert, welche als innerartliches Bestimmungsmerkmal der Unterarten *B. rapa* ssp. *oleifera* (Samen rotbraun) und *B. rapa* ssp. *campestris* (grau bis schwarz) gilt.

In Rübsenbeständen erfolgte zunächst eine morphologische Zuordnung zu den beiden Zytotypen (diploid, tetraploid), welche anhand durchflusszytometrischer Messungen überprüft wurde.

Die Fundortdaten wurden von Ulf Schmitz (Universität Düsseldorf) in GIS basierte topographische Karten integriert und graphisch aufgearbeitet (ArcView-AcMapTM 8.3, ESRI, USA).

2.2.2 Kultursorten

Zu Vergleichszwecken wurden von den Züchtern Proben zertifizierter Raps- und Rübensorten zur Verfügung gestellt (Tabelle 7.2 im Anhang C). Nach Angaben der Landwirtschaftskammer Weser-Ems (2004, pers. comm.) waren die wichtigsten und häufigsten zu Beginn der Studie angebauten Rapsorten im Raum Osnabrück Smart, Talent, Express, Artus und die kohlhernieresistente Sorte Mendel. Weiterhin wurden die Liniensorten Fortis und Viking, die Hybridsorte Elektra sowie die im Probeanbau befindlichen Sorten Titan und Libretto von der LWK für Osnabrück empfohlen.

2.2.3 Anzuchtbedingungen

Die Anzucht der Kultursorten und Nachkommen aus den Kartierungen erfolgte im Gewächshaus der AG Botanik unter kontrollierten Bedingungen (Photoperiode 14 h, min. 10°C, max. 27°C). Hierfür wurden Kunststofföpfe verschiedener Größen verwendet. Das Pflanzsubstrat bestand aus 10% Lehm, 30% Sand, 10% Bimskies, 50% Kompost, sowie pro Kubikmeter 1kg Polycrecal (min. Volldünger, Aglukon Spezialdünger GmbH & Co. KG, Düsseldorf), 1 kg Hornspäne, 1 kg kohlenaurer Kalk und 75 g Radigen (Eisenpräparat). Während der Kultur wurde bei Bedarf mit 2% Hakaphos rot (Fa. Meyer, Rellingen) gedüngt. Gegen tierische Pflanzenschädlinge wie Blüenthripse (*Frankliniella occidentalis*) und Blattläuse (*Aphidina*) wurden Tamaron bzw. Lizetan Combigranulat (Bayer Crop Science Deutschland GmbH, Langenfeld) bei Bedarf eingesetzt. Gegen Pilzbefall (Grauschimmel, echter Mehltau) wurde mit Euparen (MWG, Fa. Meyer, Rellingen) bzw. Ortiva Rosen Pilz-frei (COMPO GmbH & Co. KG, Münster) gespritzt. Im 4-6 Blatt Stadium wurde Blattmaterial geerntet und bei minus 80°C für weitere Untersuchungen gelagert. Vegetative Pflanzen im Rosettenstadium wurden bei 5°C in der Klimakammer der Botanik (Aufheizung bis max. 10°C, Photoperiode 8 h) für ca. sechs Wochen zur Blühinduktion vernalisiert und anschließend zur Blüte im Gewächshaus kultiviert oder ins Freiland ausgepflanzt. Schoten wurden nach Tотреife der Pflanze geerntet.

2.2.4 Morphologische Charakterisierung der Pflanzen

Artspezifische morphologische Merkmale wurden bei potenziellen Hybriden im juvenilen 4-6 Blatt Stadium sowie bei adulten Pflanzen dokumentiert. Raps unterscheidet sich von Rübsen durch dunkelgrüne, bewachste,

unbehaarte Rosettenblätter. Die Blätter von Rübsen sind hingegen heller, unbewacht und mit steifen Haaren besetzt. Adulte Rapspflanzen besitzen geöhrt Stängelblätter, die den Stängel nicht vollständig umfassen. Bei Rübsen sind die Stängelblätter stängelumfassend geöhrt. Im Blütenstand von Raps übersteigen die ungeöffneten Knospen die geöffneten Blüten. Die Kelchblätter sind aufsteigend. Beim Rübsen überragen die geöffneten Blüten die Knospen, und die Kelchblätter sind schräg bzw. waagrecht (Rich 1991). Autotetraploider *B. rapa* entspricht morphologisch der diploiden Ausgangsform, weist allerdings größere Blüten auf als diese (Davis et al. 1996), oftmals ist die ganze Pflanze größer und kräftiger.

2.3 Freilandversuch mit Unkrautraps

Im Rahmen der Diplomarbeit von Friedrich Koller (2007, unveröffentlicht) wurde ein Freilandversuch mit Saatgut verwilderter Rapspopulationen (gesammelt 2004) aus dem Osnabrücker Land durchgeführt. Der Versuchsaufbau, die Durchführung und ein Ausschnitt der Ergebnisse (Blühbeginn von vernalisiertem Raps) sollen nur kurz dargestellt werden, um entscheidende phänologische und phänotypische Unterschiede der untersuchten verwilderten Rapspopulationen zu Rapsorten gemeinsam mit den molekularen Untersuchungen im Kontext des evolutionären Potenzials verwilderter Rapsbestände zu diskutieren. Die Auswertung der Gesamtheit der Pflanzen und Parameter findet sich in der Originalarbeit.

Auf den Versuchsflächen des botanischen Gartens der Universität Osnabrück wurden 2005 die Individuen unterschiedlicher Herkunft unter vergleichbaren Bedingungen kultiviert (engl. common garden experiment, Gartenringexperiment, Abbildung 10). Verwendet wurde Saatgut von 14 verwilderten Rapspopulationen, sowie von drei Beständen mehrerer *Brassica*-Arten (Tabelle 7.3 im Anhang D). Aus jeder Population wurden von 3-7 Mutterpflanzen je 10 Nachkommen ausgesät. Zum Vergleich wurde aus zertifiziertem Saatgut der vier Winterrapssorten Elektra, Express, Fortis und Smart je 50 Nachkommen gezogen (Tabelle 7.2 im Anhang C). Außerdem wurden die F₁-Nachkommen von je 5 Mutterpflanzen der zertifizierten Winterrapssorte Talent und der Sommerrapssorte Heros verwendet. Zudem wurden je zehn weitere Individuen der nah verwandten Arten *B. rapa* (diploid, tetraploid), *B. oleraceae*, *Raphanus sativus* und *Sinapis arvensis* in

den Versuch integriert. Die Anzucht erfolgte in Multitopfplatten Anfang März 2005 in der offenen Vegetationshalle des Botanischen Gartens. Eine Hälfte der Nachkommen wurde in der Klimakammer (5°C, Kurztag 8h/16h) für ca. 6 Wochen vernalisiert und Mitte Mai auf der Versuchsfläche ausgepflanzt. Die andere Hälfte verblieb in der Vegetationshalle und wurde Ende April auf der Versuchsfläche ausgepflanzt. Der Versuchsaufbau entspricht einer randomisierten Blockversuchsanlage (siehe auch Neuffer & Hurka 1986, Neuffer & Bartelsheim 1989), in der je ein Nachkomme jeder Mutterpflanze pro Block (10 Blöcke) zufällig zueinander (nach Zufallszahlen) angeordnet wurden. Pro Pflanze wurden bei Vollreife zehn Schoten geerntet. Folgende phänologische und phänotypische Daten wurden aufgenommen: Keimung, Blühbeginn, Blühende, Blühdauer, Pflanzenhöhe, Schotenlänge, Samen pro Schote und Tausendkorngewicht. Hier sollen exemplarisch die Ergebnisse für den Blühbeginn dargestellt werden. Der Blühbeginn ist für anuelle Arten neben der Keimung einer der wichtigsten Schritte in ihrer Phänologie. Da der reproduktive Erfolg anueller Arten allein auf Samen basiert, ist zu erwarten, dass die Zeit bis zur Blüte einem hohen Selektionsdruck unterliegt (Neuffer & Hurka 1986).

Von Nachkommen der drei Mischbestände wurde Blattmaterial geerntet und per Durchflusszytometrie analysiert (siehe Kapitel 2.4). Die Auswertung dieser Teilergebnisse erfolgt im Kapitel 3.6.1 unter dem Aspekt der interspezifischen Hybridisierung.



Abbildung 10: Freilandversuch mit Unkrauttraps im Botanischen Garten der Universität Osnabrück 2005.

2.4 Durchflusszytometrie

Durchflusszytometrie (engl. flow cytometry, FC) wurde in zahlreichen Studien verwendet, um triploide Hybride zwischen Raps und Rübsen nachzuweisen (z.B. Allainguillaume et al. 2006, Warwick et al. 2003). Die Methode beruht auf einer Fluoreszenzfärbung der DNA. Durch Anregung des Farbstoffes mit Laser- oder UV-Licht und Detektion der Fluoreszenzintensität kann auf den relativen DNA-Gehalt einer Probe geschlossen werden. Dabei verhält sich die Strahlungsintensität proportional zum DNA Gehalt pro Zellkern. Zu Vermeidung von Messfehlern wurde in jedem Lauf ein interner Standard verwendet, der zusammen mit der zu messenden Probe verarbeitet wurde (Doležel 1991). In den Messungen wurde *Pisum sativum* L. (Erbse) als interner Standard verwendet (=1s).

Zirka 0,5-1 cm² frisches oder gefrorenes Blattmaterial der zu messenden Probe und des internen Standards wurden im DAPI-Färbepuffer (CyStain UV Ploidy-Kit, Partec, Münster) mit einer scharfen Rasierklinge zerkleinert. Die Probe wurde nach kurzer Inkubation durch einen 50 µm Nylon-Filter filtriert (CellTrics, Partec). Die Analyse erfolgte mit dem Partec PA-I Durchflusszytometer. Histogramme der Fluoreszenzintensität wurden über 512 Kanäle bei linearer Amplifikation erstellt. Mindestens 10.000 Partikel wurden gemessen. Die integrierte Software berechnet die Mittelwerte und Variationskoeffizienten (CV) für die erfassten Peaks. Der G1 Peak des internen Standards wurde gleich 1s gesetzt und das Verhältnis der Probe zum internen Standard berechnet:

$G1 \text{ Probe} / G1 \text{ } P. \text{ sativum} = \text{relative DNA-Gehaltes [s]}$

Der Quotient des relativen DNA-Gehalts wurde genutzt, um die Proben zu vergleichen. Die Reproduzierbarkeit wurde durch stichprobenartige Wiederholungen überprüft. Verwendet wurden im Zweifelsfall Messungen mit dem kleinsten Variationskoeffizienten (CV) für den Probenpeak. Ploidie-Untersuchungen wurden verwendet, um Artbestimmungen zu überprüfen, Hybride zu detektieren und Nachkommen zu analysieren (Teil 2 und 3).

2.5 Mikrosatelliten-Untersuchungen

Mit Hilfe molekulare Fingerprint-Methoden lassen sich intraspezifischen Genfluss und interspezifischen Hybridisierungen nachweisen (Bleeker & Hurka 2001, Durka et al. 2005; Bleeker et al. 2008). Auf Mikrosatelliten

basierende Fingerprintmethoden (SSR, engl. simple sequence repeats und ISSR, engl. inter simple sequence repeats) fanden bei Raps Verwendung, um Genfluss zwischen Raps und nahen Verwandten zu analysieren und Nachkommen aus dem Bodensamenspeicher Rapsorten zuzuordnen (Pascher et al. 2001, Bond et al. 2004, Ford et al. 2006, Dietz-Pfeilstetter et al. 2006, Jørgensen et al. 2007). In der vorliegenden Studie werden Primer verwendet, die kerngenomische Mikrosatellitenloci in Raps amplifizieren. Unterschiede in der Länge der amplifizierten Produkte werden als Merkmale verwendet.

2.5.1 Chemikalien und Enzyme

Die verwendeten Chemikalien, Enzyme, deren Hersteller sowie die Rezepte für die verwendeten Puffer sind im Anhang A zusammen gestellt. Alle hitzestabilen Geräte, Behältnisse und Lösungen wurden bei 121°C autoklaviert.

2.5.2 DNA-Isolierung

Aus frischem bzw. tiefgekühltem Blattmaterial wurde mit dem Invisorb®Spin Plant Mini Kit (Invitek, Berlin) Gesamt-DNA isoliert. Das Verfahren erfolgte nach Anleitung des Herstellers, wobei das Blattmaterial zunächst im Lysis Buffer P mit Seesand gemörsert wurde. Die DNA wurde bei 4°C bis zur Verwendung gelagert.

2.5.3 Mikrosatellitenprimer

Es wurden vier Primerpaare nach den Untersuchungen von Pascher et al. (2001) und Lowe et al. (2003) ausgewählt, die sechs Loci im allotetraploiden *B. napus* amplifizieren: Na12E06a, Na12C08, Na12C06 und Na12E01 (Tabelle 2.1). Die vervielfältigten Mikrosatellitenloci bestehen aus GA-Motiven zwischen 23-50 Wiederholungen und haben eine Fragmentlänge von 101-353 bp. Reverse Primer wurden am 5'-Ende mit entweder HEX (grün), 6-FAM (blau) oder NED (gelb) fluoreszenzmarkiert.

Tabelle 2.1: Verwendete Mikrosatellitenprimer. *Bei kartierten Loci ist die Kopplungsgruppe in Raps und die Distanz auf dieser in Zentimorgan angegeben (Lowe et al. 2003).

Primer	Primersequenz F/R	Tm [°C]	5'-Markierung	Motiv	Loci in Raps*
Na12E06a F	TTGGGTTGACTACTCGGTCC	60	-	23x GA	² (9- 64,4;15-41)
Na12E06a R	CCGTTGATTTGGCTAAGACC	59,6	6-FAM		
Na12C08 F	GCAAACGATTGTTTACCCG	60,3	-	50x GA	1 (11-72,9)
Na12C08 R	CGTGTAGGGTGATCTAGATGGG	60,7	6-FAM		
Na12C06 F	AACGGATGAAGAACACATTGC	60	-	37x GA	1 (1-83,7)
Na12C06 R	TAGGGCCTGTTATTCGATGG	60	HEX		
Na12E01 F	ATTCCATGACTCCATTGTC	58,4	-	29x GA	2, nicht kartiert
Na12E01 R	AAATCCCTTGCTCTGTGCG	59,3	NED		

2.5.4 PCR Reaktion

Die Mikrosatelliten-PCR-Reaktion wurde im 10 µl Maßstab unter Öl nach einem Protokoll und Programm von Rudolph (2001) durchgeführt:

dNTPs	0,2 mM
MgCl ₂	1,5 mM
10x Puffer BioTherm	1x
Primer F (unmarkiert)	0,5 µM
Primer R (markiert)	0,5 µM
Biotherm DNA-Polymerase	1 U
DMSO	2%
<u>DNA</u>	<u>1µl (ca. 25ng)</u>
H ₂ O	ad 10µl

Die PCR-Reaktion erfolgte auf einem Biometra Trio Block als "Touch-down" Programm, mit insgesamt 40 Zyklen. Das Programm beinhaltet eine Temperaturerniedrigung, welche die Annealingtemperatur beginnend bei 65°C schrittweise auf 55°C (optimale Annealingtemperatur der Primer) herabsetzt:

Schritt	Temperatur	Dauer	Temperaturveränderung
1.	94°C	2 min	
2.	94°C	1 min	
3.	65°C	30 sec	-1°C
4.	72°C	45 sec	
5.	94°C	1 min	
6.	65°C	30 sec	-1°C
7.	72°C	45 sec	

Die Schritte 2.-7. zehn Mal wiederholen

(mit jeweils einer Temperaturemniedrigung von -1°C je Zyklus, bis 55°C erreicht sind).

8.	94°C	1 min	
9.	55°C	30 sec	
10.	72°C	45 sec	

Schritte 8.-10. 17 mal wiederholen

11.	72°C	20 min	
-----	------	--------	--

2.5.5 Verdünnung der PCR-Produkte

Für die Gelelektrophorese wurden die PCR-Produkte vereinigt und mit Formamid, Gelladepuffer und mit fluoreszenzmarkiertem GS 500 ROX-Size Standard (Applied Biosystems, interner Standard) versehen. Dafür wurden nach Ausbeute und Fluoreszenzstärke folgende Verhältnisse verwendet:

4,8µl	Mischung Gelladepuffer und GS 500 ROX Size Standard (Anhang A)
0,4µl	PCR Produkt Primerpaar Na12E06a, FAM markiert
0,5µl	PCR Produkt Primerpaar Na12C08, FAM markiert
1,0µl	PCR Produkt Primerpaar Na12C06, HEX markiert
1,5µl	PCR Produkt Primerpaar Na12E01, NED markiert
0,8µl	Wasser

Gesamt: 9,0µl

Die Bestandteile wurden gemischt und bei 94°C für drei Minuten denaturiert und anschließend bis zum Auftrag auf das Gel auf Eis gelagert.

2.5.6 Vorbereitung des Gels

Der Gellauf erfolgte auf Polyacrylamidgelen, bestehend aus 40ml SequaGel Extended Range, 10 ml SequaGel Complete Buffer Reagent und 300 µl 10% Ammoniumpersulfat (APS). Verwendet wurden Glasplatten einer Länge von 36 cm (Applied Biosystems). Als Laufpuffer diente 1x TBE.

2.5.7 Gellauf am ABI 377

Die Gelelektrophorese wurde am ABI PRISM 377 DNA SEQUENCER (PE Applied Biosystems) durchgeführt. 2,4 µl des Gemisches aus Ladepuffer, internem Standard und Proben wurde je rechteckige Tasche auf das Gel aufgetragen. Der Lauf wurde für drei Stunden bei 51°C und 200 W durchgeführt. Verwendet wurde das Filterset A. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wurde durch unabhängige Wiederholungen eines Teils der Proben überprüft.

2.5.8 Auswertung der Gele

Die Auswertung der Rohdaten erfolgte zunächst mit den Programmen GeneScan und Genotyper 3.6 NT (PE Applied Biosystems, USA). Über die Banden bekannter Länge des internen Standards können den PCR-Produkten genaue Längen zugeordnet werden. Deutliche Banden in der erwarteten Spanne für die einzelnen Primerpaare wurden manuell als vorhanden (1) oder fehlend (0) bewertet und eine binäre Matrize erstellt, die als Grundlage für weitere Auswertungen diente. Aufgrund der Polyploidie von Raps und da einige Primerpaare mehrere Loci und damit multiple Allele amplifizieren, war eine kodominante Auswertung der Daten nicht möglich. Deshalb wurden die Daten in Form von „Allel-Phänotypen“ ausgewertet und wie dominante Marker behandelt (Becher et al. 2000). Um verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den untersuchten Individuen aufzudecken, wurden, basierend auf den binären Matrizen, individuelle Distanzen zwischen allen Paaren von Individuen (Allel-Phänotypen) berechnet (verwendete Ähnlichkeits- bzw. Distanz-Koeffizienten: simple matching Koeffizient, euclidean squared distances). Diese Distanzmatrizen dienten als Grundlage für die Berechnung hierarchischer Clusteranalysen (UPGMA mit 1000 Bootstrap Wiederholungen, Treecon 1.3b, Antwerpen) und PCO-Analyse (engl. principal coordinate analysis, dt. Hauptkoordinatenanalyse, MVSP 3.13.m, Kovach Computing Services, UK).

Die individuelle Zuordnung von Raps-Einzelindividuen zu Rapsorten wurde mit AFLPop 1.0 über die „Re-allocation“ Prozedur geprüft (Duchesne and Bernatchez 2002). AFLPop berechnet, basierend auf den Bandenhäufigkeiten dominanter Marker, für jedes einzelne Individuum die Wahrscheinlichkeit, mit der dieses aus einer der Quellpopulationen (hier

eine der Ursprungssorten) stammt. Die Zuordnung wurde als erfolgreich bewertet, wenn es zehn Mal wahrscheinlicher war, dass ein Individuum zu einer bestimmten Sorte gehörte, als zu allen anderen (minimum log likelihood difference, MLD = 1). Individuelle P-Werte der Wahrscheinlichkeit der Zugehörigkeit zu einer Sorte aus empirischen Verteilungen wurden aus Simulationen gewonnen und als weiteres Kriterium verwendet. Ein sehr niedriger P-Wert eines Individuums X innerhalb einer Quellpopulation S ist ein Zeichen dafür, dass es unwahrscheinlich ist, dass dieses Individuum zu der Quellpopulation gehört. Ein Individuum wurde als nicht zugeordnet interpretiert, wenn $P < 0.001$, basierend auf einer „re-sampling“ Prozedur mit 1000 künstlich durch AFLPop erstellten Individuen. Vor der Datenanalyse wurde über „loci filtering“ das Clustern redundanter Loci reduziert. Aufgrund der unterschiedlichen und niedrigen Zahl der Individuen pro Sorte wurden die „zero frequencies“ durch $1/(n+1)$ und die „unit frequencies“ durch $1-1/(n+1)$ ersetzt. AFLPop wurde dann verwendet, um Individuen der verwilderten Rapspopulationen ihrer wahrscheinlichsten Herkunftssorte sowie F_1 -Hybriden zwischen den Sorten zuzuordnen („Allocation“ Prozedur). Für die erfolgreiche Zuordnung wurden dieselben Kriterien verwendet wie für die Re-Allocation Prozedur.

Die Verteilung des relativen Anteils der genetischen Variation innerhalb und zwischen den untersuchten Gruppen (Sorten, Populationen) wurde mit einer AMOVA berechnet (engl. analysis of molecular variance, ARLEQUIN 3.1, Excoffier et al. 2005).

Allele, die in einer Art, nicht aber in den anderen vorkamen wurden als artspezifische diagnostische Allele verwendet, um Hybride zwischen den Arten zu identifizieren (Teil 2, Teil 3).

2.6 Pollenfertilität

Die männliche Fitness wurde mit Hilfe von Pollenfärbungen mit Karminessigsäure abgeschätzt (Eber et al. 1994, Warwick et al. 2003, Leflon et al. 2006). Intakte Pollenkörner mit generativen Kernen sind einheitlich rund und werden rot angefärbt, während abgestorbene Pollenkörner ungefärbt und oft verkrüppelt sind. Von den zu untersuchenden Pflanzen wurden mehrere Blüten kurz vor dem Aufplatzen der Pollensäcke in 70%igem Ethanol konserviert. Je eine innere Anthere wurde

auf einem Objektträger mit einem Tropfen 1%iger Kaminessigsäure versetzt. Durch leichtes Klopfen auf das Deckglas öffnete sich die Anthere und die Pollen verteilten sich. Nach kurzer Inkubation wurde bei 100x Vergrößerung mindestens 300, möglichst 500 Pollenkörner pro Staubblatt zufällig ausgezählt. Der prozentuale Anteil gefärbter Pollen gemittelt über drei Blüten pro Pflanze wurde als individueller Vergleichswert verwendet. Als Referenz für die männliche Fertilität der Elternarten wurde die Pollenfertilität von Rapssorten (n=5), diploiden (n=5) und tetraploiden Rübsensorten (n=5) bestimmt und mit potenziellen Hybriden verglichen (siehe Teil 2 und 3).

2.7 Kreuzungsversuche mit tetraploiden Rübsen

2.7.1 Vorversuch

In einem Vorversuch sollte in kleinem Rahmen geklärt werden, ob sich Raps, diploider und tetraploider Rübsen überhaupt miteinander kreuzen, ob daraus Samen resultieren, diese keimen und zu lebensfähigen, fertilen Pflanzen heranwachsen. Exemplarisch wurden Kreuzungen mit einer geringen Zahl von Einzelpflanzen tetraploider Rübsen- (Buko, n=1, Perko PVH, n=3), diploider Rübsen- (Herbstrübe Rondo, n=1) und Rapssorten (Smart, n=2, Fortis, n=1, Tabelle 7.2 im Anhang C) durchgeführt. Die Anzucht erfolgte bis zur Blüte wie in Kapitel 2.2.3 beschrieben. Zunächst wurden die Antheren der Mutterpflanzen im späten Knospenstadium vorsichtig manuell entfernt. Eine Papiertüte (handelsübliche Butterbrottüte) schützte den Blütenstand vor unbeabsichtigter Fremdbestäubung, solange die Narbe empfängnisbereit war. *Brassica rapa* ist ein obligater Auskreuzer, mit einem sporophytischen Selbstinkompatibilitätssystem (SI-System) zur Vermeidung von Selbstbefruchtung. Es ist bekannt, dass bei *Brassica* das SI-System erst 1-2 Tage vor der Anthese in den Narben exprimiert wird. Geschieht die Bestäubung in der Knospe (engl. bud pollination), wird das SI-System umgangen und es kann eine vollständige Samenentwicklung auch bei inkompatiblen Genotypen stattfinden (Nasrallah & Nasrallah 1989). Diese Methode wird zum Beispiel zur künstlichen Erzeugung von Hybriden oder zur Herstellung homozygoter Inzuchtlinien selbstinkompatibler Arten in der Züchtung und Forschung verwendet. Die Bestäubung erfolgte deshalb zu zwei unterschiedlichen Zeitpunkten: a) Bestäubung in der Knospe (vor Exprimierung des SI-Systems) und b) Bestäubung nach dem Aufblühen (SI-

System wird exprimiert). Zwei bis drei Antheren mit geöffneten Pollensäcken wurden aus unterschiedlichen Blüten des Pollendonors entnommen und auf der Narbe der Mutterpflanze abgestreift. Tabelle 3.13 gibt die Anzahl der Bestäubungen und die Charakteristika der Nachkommen an. Nach Abreifen der Schoten wurde der Kreuzungserfolg dokumentiert und die entstandenen Samen ausgesät (Anzucht wie in Kapitel 2.2.3 beschrieben). Die Nachkommen wurden morphologisch (Kapitel 2.2.4), durchflusszytometrisch (Kapitel 2.4) und hinsichtlich ihrer Pollenfertilität (Kapitel 2.6) analysiert.

2.7.2 Hauptversuch

Für die Handkreuzungen wurden die tetraploiden Rübsensorten Buko und Perko PVH (je sechs Mutterpflanzen und sechs Pollenspende), die Rapssorten Smart und Talent (sieben Mutterpflanzen, sechs Pollenspende) sowie Nachkommen der wilden diploiden Rübsenpopulation 18 (acht Mutterpflanze, sechs Pollenspende) aus dem Osnabrücker Land verwendet (siehe Tabelle 7.1 im Anhang B und Tabelle 7.2 im Anhang C). Die Anzucht erfolgte, wie in Kapitel 2.2.3 beschrieben. Die Kreuzungen erfolgten, wie in Kapitel 2.7 beschrieben, nach dem Aufblühen der Blüten. Hierdurch wird vermieden, dass durch Umgehung des SI-Systems künstlich mehr Hybride erzeugt werden, als bei natürlicher Blütenentwicklung möglich sind.

2.7.2.1 Kreuzungsschema

Das Kreuzungsschema ist angelehnt an die Versuche von Hauser et al. (1998a). Raps soll in den folgenden Tabellen als „n“, diploider Rübsen als „r2“ und tetraploider Rübsen als „r4“ abgekürzt werden. Kreuzungen innerhalb und zwischen den beiden Rapssorten ($\text{♀n} \times \text{♂n}$), den diploiden Rübsensorten ($r2 \times r2$) bzw. den tetraploiden Rübsensorten ($r4 \times r4$, diese drei Kreuzungen werden im Folgenden als intratypische Kreuzungen zusammengefasst) wurden zwei Blüten jede Mutterpflanze mit Pollen von zwei zufällig ausgewählten Pollenspendern bestäubt. Bei Hybridkreuzungen, d.h. Kreuzungen zwischen den Arten bzw. unterschiedlichen Zytotypen ($n \times r2$, $n \times r4$, $r2 \times r4$ und reziprok), erhält jede Mutterpflanze Pollen von zwei zufälligen Pollenspendern, jede Kreuzung wird jedoch wiederholt (je zwei Blüte pro Donor = 4 Blüten pro Mutterpflanze). Aufgrund von Schwierigkeiten bei der Anzucht wurde in der Zahl der Mutterpflanzen vom ursprünglichen Plan von je sechs Bestäubungen pro Sorte abgewichen.

Tabelle 2.2: Vereinfachtes Kreuzungsschema. Vor der Sorte steht die Anzahl der verwendeten Pflanzen. Die Tabelle gibt die Anzahl der durchgeführten Kreuzungen pro Sorte wieder. Weiß = intratypische Kreuzung, grau = Hybridkreuzungen.

♀		♂		Rübsen 4x		Rübsen 2x
		Raps		6x Buko	6x Perko	6x Pop18
		6x Smart	6x Talent			
Raps	7x Smart	19	22	34	33	32
	7x Talent	20	23	35	34	35
Rübsen 4x	6x Buko	28	26	13	13	26
	6x Perko	29	27	15	14	28
Rübsen 2x	8x Pop18	33	34	33	33	16

Zudem wurden einige Bestäubungen wiederholt. Insgesamt wurden 655 (ursprünglich geplant 492) Bestäubungen durchgeführt. Tabelle 2.2 gibt die geplanten und die durchgeführten Kreuzungen der jeweiligen Typen wieder.

2.7.3 Dokumentierte Parameter

Folgende Parameter wurden analog zu Hauser et al. (1998a) dokumentiert:

- Anteil der Kreuzungen, die sich zu Schoten entwickelt haben.
- Vollständig entwickelte Samen pro Schote.
- Anteil vollständig entwickelter Samen an der Gesamtsamenzahl pro Schote.

2.8 Freilandversuch mit tetraploiden Rübsen

2.8.1 Pflanzenmaterial, Versuchsaufbau und -durchführung

Verwendet wurde zertifiziertes Saatgut der im Untersuchungsgebiet häufig angebaute Rapsorten Smart und Talent (Landwirtschaftskammer Weser-Ems 2004, pers. comm.) sowie der tetraploiden Rübsensorten Buko and Perko PVH (Tabelle 7.1 im Anhang C). Die Anzucht im Gewächshaus erfolgte wie in Kapitel 2.2.3 beschrieben (Aussaat am 26.01.2006). Nach der Vernalisation (5 Wochen nach Aussaat für 7 Wochen bei ca. +5°C, Kurztag 8h/16h) fand eine klimatische Akklimatisierung in der offenen Vegetationshalle des Botanischen Gartens der Universität Osnabrück statt (16 Tage), bevor die Pflanzen am 14.05.2006 (108 Tage nach Aussaat) auf das

Versuchsfeld gepflanzt wurden. Das Experiment bestand aus 16 kreisförmigen Versuchsansätzen (Abbildung 45 im Anhang H). Jeder Ansatz bestand aus einer zentralen tetraploiden Rübsenpflanze, die in einem Radius von 0,5 m von jeweils sieben Rapspflanzen umgeben wurde. In jedem Ansatz wurden eine einzige Rübsen- und eine einzige Rapsorte verwendet, sodass sich vier verschiedene Kombinationsmöglichkeiten der Sorten ergeben. Jede dieser Kombinationen wurde vier Mal wiederholt (=16 Ansätze). Der Abstand zwischen den Kreisen betrug mindestens 10 m. Dieses Design wurde gewählt, um das Vorkommen einzelner tetraploider Rübsen, umgeben von Raps, zu simulieren. Der Beginn der Überlappung der Blühphase beider Arten wurde am Blütenstand der Rübsenpflanzen auf Höhe der Knospen mit Draht markiert, so dass differenziert Samen aus dieser Phase geerntet werden konnten. Von jeder zentralen Rübsen-Mutterpflanze wurden 15 reife Schoten geerntet (Erntetermine 07.08. und 13.08.2006). In einem Kreis (Kreis P) wurden aufgrund des übermäßigen Schädlingsbefalls und der daraus resultierenden Reduktion der Samenzahl zusätzlich alle weiteren Samen geerntet. Die Schoten wurden für drei Tage bei 30°C getrocknet und dann bis zur Aussaat bei Raumtemperatur gelagert.

2.8.2 Identifizierung und Charakterisierung der Hybride

Aus jeder Schote wurden drei zufällig ausgewählte, normal entwickelte Samen ausgesät. Waren weniger Samen in einer Schote vorhanden, wurden alle Samen verwendet. In Kreis P wurden die zusätzlich geernteten Samen (nicht nach Schoten differenziert) hinzugenommen. Die Keimrate wurde dokumentiert. Die Anzucht erfolgte wie in Kapitel 2.2.3 beschrieben. Die molekular untersuchten Pflanzen wurden vernalisiert und bis zur Blüte kultiviert.

Die Nachkommenschaft von tetraploidem Rübsen wurde hinsichtlich ihrer juvenilen Morphologie (Kapitel 2.2.4), ihres relativen DNA-Gehaltes (Kapitel 2.4), mittels Mikrosatellitenuntersuchungen (Kapitel 2.5) und hinsichtlich ihrer Pollenfertilität (Kapitel 2.6) analysiert und mit tetraploiden Rübsen und Raps verglichen.

Der relative DNA-Gehalt aller Nachkommen wurde mit der gemessenen Spanne für tetraploiden Rübsen (Mutter) verglichen. Wicht der relative DNA

Gehalt von dieser ab, wurde der Nachkomme in die molekulare Untersuchung aufgenommen. Aus den beobachteten Werten für die Eltern Raps und Rübsen wurden Erwartungswerte für potenzielle Hybride berechnet.

Insgesamt wurden 205 Nachkommen mittels Mikrosatellitenanalysen mit den drei Primerpaaren Na12E06a, Na12C08 und Na12E01 (5 Loci) untersucht. Als Referenz für die Merkmale der Elternsorten wurden jeweils zwölf Individuen beider Rübsensorten und jeweils 13 Individuen der beiden Rapsorten verwendet. Banden, die in mindestens einer der beiden Rapsorten, jedoch nicht in den Rübsensorten gefunden werden konnten, wurden als diagnostische Rapsallele definiert. Das Auftreten von morphologischen oder molekularen Rapsmerkmalen innerhalb der tetraploiden Rübsennachkommenschaft wurde als ein Hinweis auf Hybridisierung gewertet.

Fünfunddreißig der identifizierten Hybride (zufällig ausgewählte Nachkommen mit Rapsallelen über die ganze Spanne der relativen DNA-Gehalte) wurden hinsichtlich ihrer Pollenfertilität analysiert und mit jeweils fünf Raps- und tetraploiden Rübsenpflanzen verglichen.

2.9 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten aus den Kartierungen, den Untersuchungen der Pollenfertilität, den Kreuzungsversuchen und den Feldversuchen erfolgte mit den Programmen SPSS 15.0.1 (SPSS Inc., USA) und R 2.5.0 (R Development Core Team, 2007). Mittelwerte sind in dieser Arbeit mit den zugehörigen Standardabweichungen (+/- SD) angegeben. Ein Vergleich der Mittelwerte erfolgte je nach Datenlage und Varianzhomogenität als T-Test, Anova (engl. analysis of variance) oder als Kruskal-Wallis-Rangtests.

3 Ergebnisse

Teil 1: Untersuchungen an Unkrautraps

3.1 Kartierungen von Unkrautraps 2004-2008

Die Erfassung verwilderter Rapspopulationen im Untersuchungsgebiet wurde 2004 mit 66 Populationen begonnen. 2005 kamen weitere zwölf Populationen dazu, sodass insgesamt 78 Populationen über einen Zeitraum von fünf bzw. vier Untersuchungsjahren kartiert werden konnten. Abbildung 13 zeigt Lokalisation der Fundorte der 78 kartierten Rapspopulationen im Osnabrücker Land. Von den 78 verwilderten Rapspopulationen befanden sich 50 an Straßenrändern, Beeten und Grünstreifen, dem häufigsten Standorttyp verwilderter Rapspopulationen (siehe Abbildung 12 und Anhang E: Abbildung 41). Fünf Populationen konnten auf Baugebieten und Baubrachen (Abbildung 11) lokalisiert werden, drei entlang von Gleisen und auf Bahnübergängen (Abbildung 12). Zwanzig Ausfallrapspopulationen, Population an Ackerrändern und Durchwuchsraps (Abbildung 12) wurden in die Studie aufgenommen.

Die Populationsgrößen reichten von einzelnen oder wenigen Individuen bis zu mehr als 1000 Pflanzen. Zwischen den einzelnen Jahren bestanden große Unterschiede in der Populationsdynamik. Abnahmen der Populationsgrößen wurden im Mittel häufiger (pro Jahr in 47,6% der Populationen +/- Standardabweichung SD = 29%) als Zunahmen (18,5% +/-SD = 15,2%) beobachtet. Beruhte die Zunahme allein auf Rapsanbau, wurden die Fälle aus der Analyse ausgeschlossen (12 Fälle).

Sechzehn Populationen (20,5%) konnten nur im ersten Jahr (zu Beginn der Studie 2004 bzw. 2005, Abbildung 13 und Tabelle 7.6 im Anhang E) aufgefunden werden. An den anderen 61 Fundorten (79,5%) wuchsen in mehr als einem Jahr Rapspflanzen. Diese Bestände werden im Folgenden als „persistent“ bezeichnet. Von diesen waren 21 Fundorte in zwei, 24 in drei, 12 in vier und vier in allen fünf Jahren mit Raps besiedelt (Tabelle 7.6 und Abbildung 42 im Anhang E). Der Anteil des Wiederfundes im Folgejahr betrug 57,6% für Populationen, die 2004 beprobt wurden. Dreißig Prozent der bestehenden Rapspopulationen 2005 konnten im Folgejahr wieder aufgefunden werden. Für die Populationen aus 2006 betrug die Wiederfund-



Abbildung 11: Die wichtigsten Standorttypen verwilderter Rapspopulationen im Osnabrücker Land 1. Baugebiete & Baubrachen. Oben links: Rapsbestand eines Neubaugebietes bei Kloster Oesede (2008), oben rechts: Neubaugebiet bei Kloster Oesede (2007), unten links: Pop87 (Raps) Gewebegebiet Bissendorf (2008), unten rechts: Raps (Pop199) Gewerbepark Kattenvenne (2007).

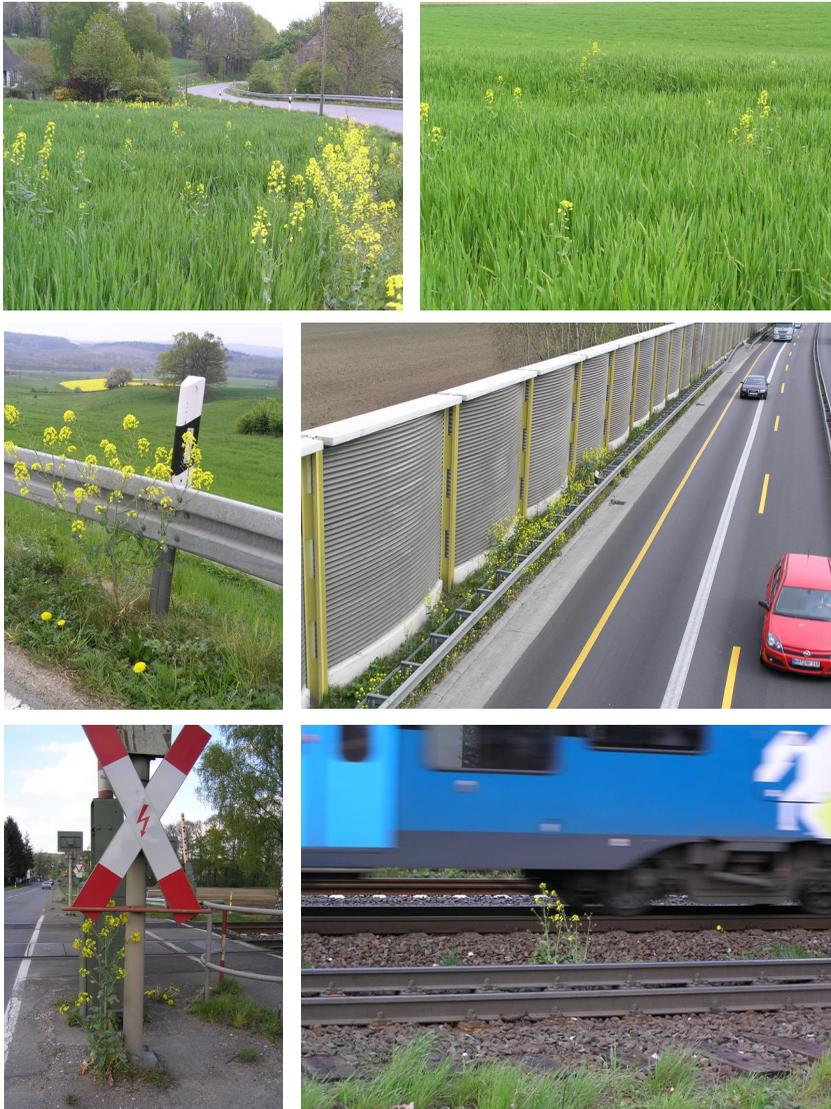


Abbildung 12: Die wichtigsten Standorttypen verwilderter Rapspopulationen im Osnabrücker Land 2. Oben: Ackerränder und Anbauflächen. Beide Fotos zeigen Durchwuchsrap in Getreidefeldern. Mitte: Straßenränder, Beete & Grünstreifen. Links: Raps auf einem Grünstreifen an einer Landstrasse (2007), rechts: Pop57 an der Autobahn A1 (2007). Unten: Bahnübergänge & Gleise. Links: Rapspflanze an einem Bahnübergang bei Lüstringen (2008), rechts: Raps im Gleisbett (2008).

rate 73,7% und für 2007 39,5%. Im Mittel ergibt sich somit eine Wiederfundrate von 50,2% (+/- SD = 19,4%).

Nach einem Fehlen einer Population im Vorjahr wurden im Mittel der Jahre 29,7% (+/-SD = 11,8%) der Flächen wiederbesiedelt. Insgesamt zeigen 40 der 78 (51,3%) Standorte intermittierende Rapsvorkommen, d.h. Rapsbestände fehlen in einem oder mehreren Untersuchungsjahren, treten aber später wieder am selben Standort auf. Im Jahr 2008 waren 34,6% der ursprünglichen Fundorte mit Raps besiedelt, vier davon dauerhaft über den ganzen Untersuchungszeitraum, die meisten intermittierend (23, Tabelle 7.6 im Anhang E). An zehn Fundorten wurden in mindestens einem der Jahre Rapsfelder angesät. Neueintrag von Raps durch Aussaat betrifft demnach die Hälfte der 20 kartierten Populationen in Agrarhabitaten (Ackerrand & Durchwuchs). In fünf Fällen sind verwilderte Populationen durch Aussaat von Raps nur scheinbar persistent, da in nur einem Jahr verwilderter Raps, in den anderen Jahren Rapsfelder vorhanden waren.

Von den 66 im Jahr 2004 kartierten verwilderten Populationen zeigten 48,5% einen erfolgreichen Samenansatz (mindestens eine Pflanze mit reifen Samen pro Population). Der Anteil der verwilderten Populationen mit erfolgreichem Samenansatz betrug 30,0% im Jahr 2005, 45,0% in 2006, 39,5% in 2007 und 44,4% in 2008 (im Mittel 42,5% +/- SD = 8,1%) . Das Abreifen der Schoten wurde vor allem durch Mähen der Grassstreifen und andere Pflegemaßnahmen verhindert.

Die verwilderten Rapspopulationen hatten ihre Hauptblütephase parallel zum angebauten Winterraps, je nach Witterung ab Anfang April bis Ende Mai. Eine Population (Pop121) blühte erst Anfang Juli, eine weitere Anfang August (Pop223). Einzelpflanzen konnten blühend bis in den November beobachtet werden. Insbesondere kamen verletzte Pflanzen später im Jahr erneut zur Blüte. Dadurch verlängerte sich die Blühphase, einige Pflanzen durchliefen diesen Zyklus mehrfach von neuem und trugen gleichzeitig reife Früchte und Blüten.

Verwilderte Rapspopulationen konnten sympatrisch mit beiden Elternarten von Raps gefunden werden. An fünf der seit 2004 bzw. 2005 kartierten Fundorte wurde Rübsen (diploid und tetraploid), in einem Fall verwilderter Kohl gefunden. Die individuelle morphologische Zuordnung zu einer Art wurde durchflusszytometrisch überprüft (siehe Teil 2).

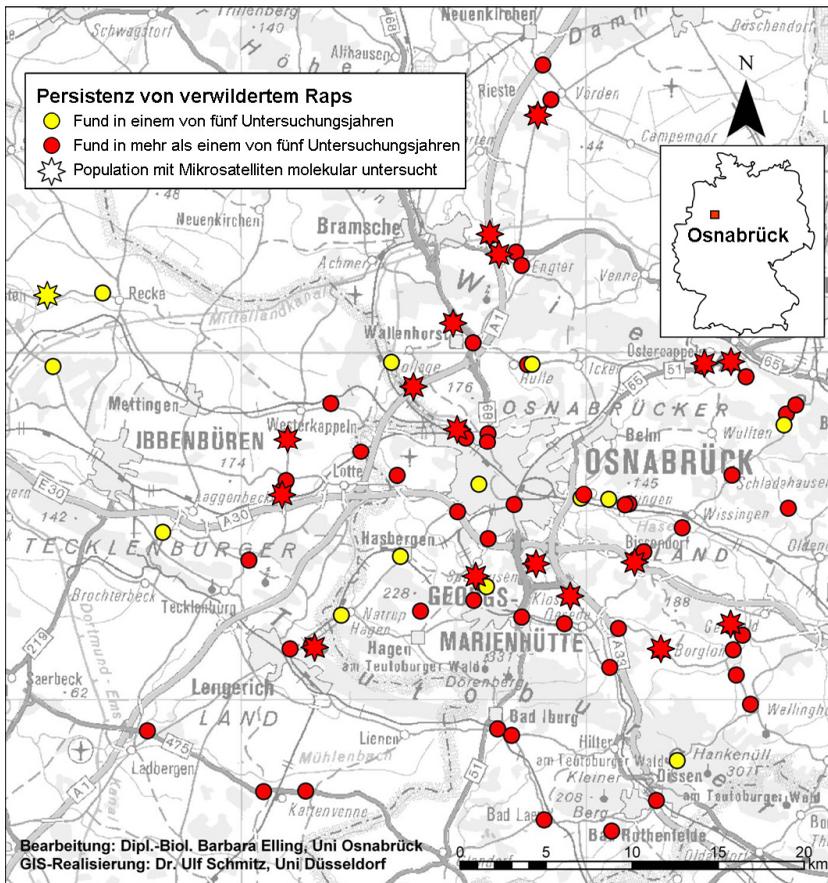


Abbildung 13: Verwilderte Rapspopulationen im Raum Osnabrück 2004-2008. Rapsvorkommen in nur einem der fünf Untersuchungsjahre in gelb, Rapsvorkommen in mehr als einem Untersuchungsjahr in rot. Populationen, die auch molekular mit Mikrosatelliten untersucht wurden, sind mit roten Sternen markiert.

3.2 Freilandversuch mit Unkrautraps

Exemplarisch wurde aus der Vielzahl der Ergebnisse des Freilandversuches der Faktor „Blühbeginn bei vernalisierten Pflanzen“ als einer der wichtigsten phänologischen Schritte im Lebenszyklus anueller Arten ausgewählt. Alle weiteren Ergebnisse sind der Arbeit von Koller (2007, unveröffentlicht) zu entnehmen.

Insgesamt zeigten sowohl die Rapspopulationen als auch die Rapsorten eine sehr hohe Keimbereitschaft von 99,6% bzw. 98%. Die verwendeten Winterrapsorten blühten nach Vernalisation im Mittel 112,3 Tage nach Aussaat (+/- SD = 5,2; CV = 2,97%, N= 111, Tabelle 7.4 im Anhang D) mit einer Spannweite von 106 bis 122 Tagen (sowie ein extremer Ausreißer mit 150 Tagen). Der Sommerraps blühte früher, im Mittel 106,3 Tage nach Aussaat (+/- SD = 3,9; min. 103, max.121 Tage, CV = 3,26%, N = 25). Die Blühspanne der verwilderten Population reichte von 95 bis 149 Tage nach Aussaat mit einem Mittelwert von 114,8 Tagen (+/- SD = 8,2; CV = 3,83%, N = 277). Ein Vergleich der Variationskoeffizienten (CV) für die drei Gruppen zeigte keine signifikanten Ergebnisse.

Abbildung 14 vergleicht den Blühbeginn der untersuchten Sorten und verwilderten Populationen im Einzelnen. Population 90 musste aus der Analyse ausgeschlossen werden, da diese erst im zweiten Jahr zur Blüte kam und demnach unter den Versuchsbedingungen bienn ist. Eine Rübenbildung wie bei der zweijährigen Steckrübe (ebenfalls *B. napus*) konnte nicht beobachtet werden. Die Mittelwerte des Blühbeginns der einzelnen Populationen und Sorten unterschieden sich hochsignifikant ($P < 0,001$, Kruskal-Wallis-Rangtest). Auch die Variationskoeffizienten der einzelnen Populationen unterschieden sich sehr signifikant (ANOVA, $P = 0,0013$), d.h. es gab sowohl Unterschiede der Blühzeitpunkte als auch in der Variabilität des Blühbeginns. Einige Populationen zeigten besonders auffällige Parameter. Zum Beispiel blühte Population 105 besonders spät (Mittelwert = 132,2 +/- SD = 6,5; N = 20, min. 125 - max. 149 Tage). Population 123 blühte besonders früh (Mittelwert = 105,2 +/- SD = 2,6; N = 23, min. 103 - max. 111 Tage) und ähnelte dem Sommerraps (Abbildung 14).

Die parallel ausgesäten verwandten Arten blühen alle nahezu parallel zu den Winterrapsorten (Tabelle 7.4 im Anhang D).

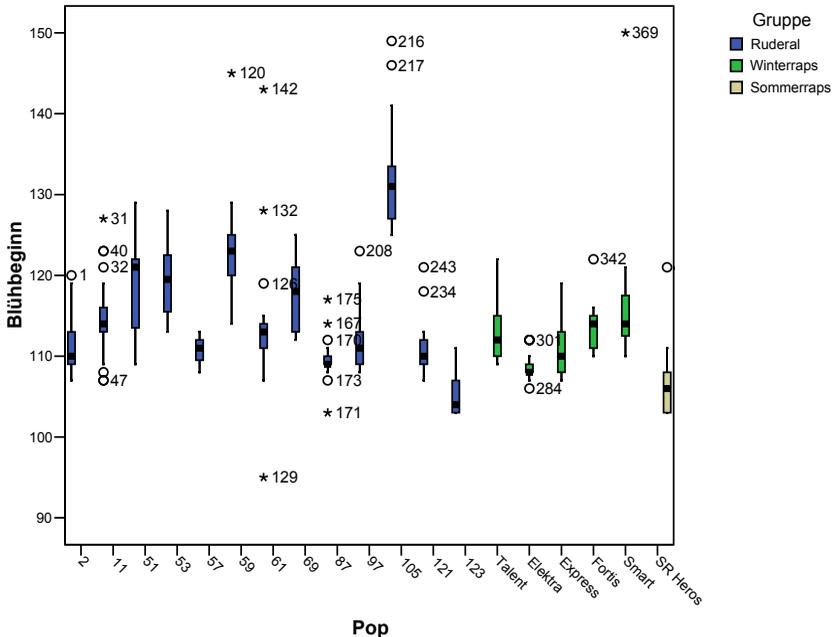


Abbildung 14: Box Plot der Unterschiede im Blühbeginn verschiedener verwilderter Rapspopulationen und der verwendeten Sommer- und Winterrapssorten (Box = erste bis dritte Quantile, Balken: Median, Spanne: kleinster und größter Wert (ohne Ausreißer), Ausreißer: o mehr als $1\frac{1}{2}$, und * mehr als drei Interquantilenlängen außerhalb der Box). Population 90 fehlt in der Abbildung, da diese nicht im ersten Jahr zur Blüte kam.

3.3 Mikrosatelliten Untersuchungen an Unkrautraps

Zunächst wurden 80 Individuen aus zwölf aktuellen *B. napus* Sorten untersucht: die Winterrapssorten Artus, Elektra, Express, Fortis, Libretto, Mendel, Smart, Titan, Talent und Viking, die Sommerrapssorte Heros sowie eine Steckrübensorte (Anhand C: Tabelle 7.2). Primerpaar Na12C06 amplifizierte innerhalb der zwölf Sorten 14 verschiedenen Allele, Primerpaar Na12C08 13 Allele, Na12E01 16 Allele und Na12E06a 6 Allele unterschiedlicher Längen. Alle diese Merkmale sind in Raps polymorph. Insgesamt konnten innerhalb der zwölf Sorten (Tabelle 3.1) ein (Artus, Mendel) bis sieben (Fortis, Smart) Multi-Locus-Phänotypen gefunden werden. Die Sommerrapssorte Heros zeigte die höchste Diversität mit insgesamt 17 Allelen, die durch die vier Primerpaare amplifiziert wurden.

Die Winterrapssorten hatten zwischen sieben und 14 Allele. Neun Allele konnten in der Steckrübensorte gefunden werden. Die PCO-Analyse (Abbildung 15) zeigt eine Trennung in zwei Hautgruppen der Winterrapssorten. Die Sommerrapssorte gruppiert am Rande einer der beiden Gruppen. Die Steckrübe ist von den Winterrapssorten klar zu trennen. Eine AMOVA (Tabelle 3.2) wurde berechnet, um die Verteilung der genetischen Variation innerhalb und zwischen den Sorten zu veranschaulichen. Diese zeigte, dass der Hauptteil der Variation zwischen den Sorten liegt (79,1%). Da die geringe Anzahl an Markern nicht ausreichte, um eine gute Trennung aller zwölf Sorten vorzunehmen, wurde die Sortenzahl auf die fünf im Untersuchungsgebiet zu Untersuchungsbeginn am häufigsten angebauten Winterrapssorten sowie Sommerraps und Steckrübe reduziert (Landwirtschaftskammer Weser-Ems 2004, persönliche Mitteilung). Bis auf die kohlhernieresistente Sorte Mendel sind diese Sorten schon seit mindestens fünf Jahren erhältlich (Bundessortenamt 2003).

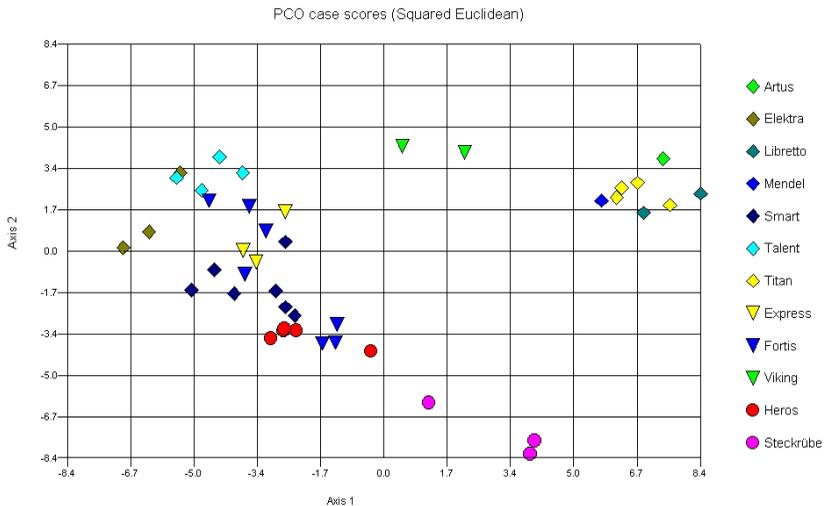


Abbildung 15: PCO-Analyse (Euclidean Squared Distances) der zwölf untersuchten Rapssorten. Die erste Achse erklärt 38,7%, die zweite 23,5% der Unterschiede. Hybrid-Winterrapssorten sind mit Rauten, Linien-Winterrapssorten mit Dreiecken gekennzeichnet. Die Sommerrapssorte Heros kennzeichnen rote Kreise, die untersuchte Steckrübensorte rosa farbene Kreise.

Tabelle 3.1: Genetische Variation der zwölf *B. napus* Sorten an den sechs untersuchten Mikrosatellitenloci.

Sorte	Typ	Lebenszyklus	N	Allelzahl	Multi-Locus-Phänotypen	diagnostische Allele im reduzierten Datensatz
Elektra	WR, H	winter-annuell	8	9	3	-
Fortis	WR, L	winter-annuell	10	14	7	-
Libretto	WR, L	winter-annuell	4	9	2	-
Titan	WR, H	winter-annuell	5	12	4	-
Viking	WR, L	winter-annuell	5	8	2	-
* Artus	WR, H	winter-annuell	5	8	1	2
* Express	WR, L	winter-annuell	7	11	3	1
* Mendel	WR, H	winter-annuell	5	7	1	0
* Smart	WR, L	winter-annuell	8	9	7	1
* Talent	WR, H	winter-annuell	9	10	4	1
* Heros	SR	sommer-annuell	5	17	5	2
* <i>B. napus</i> ssp. <i>napo brassica</i>	Steckrübe	bienn	9	9	3	3
Gesamt (12 Sorten)			80	49	42	
* reduzierter Datensatz (7 Sorten)			48	44	24	

Tabelle 3.2: Verteilung der genetischen Variation (AMOVA) innerhalb und zwischen den 12 analysierten *B. napus* Sorten ($P < 0,001$). FG: Freiheitsgrade; SSQ: engl. sums of squares, dt. Quadratsummen

Quelle der Variation	FG	SSQ	Varianzkomponente	Prozent der Variation
Zwischen den 12 Sorten	11	323, 2	4,27	79,1
Innerhalb der 12 Sorten	68	76,7	11,13	20,9
Gesamt	79	399,9	5,4	100

Im reduzierten Datensatz (N=48, 7 Sorten, Tabelle 3.1) wurden ein (Artus, Mendel) bis sieben (Smart) Multi-Locus-Phänotypen gefunden. In sechs Sorten konnten diagnostische Allele (Allele, die in allen Individuen der betreffenden Sorte, nicht jedoch in anderen Sorten vorkommen) gefunden werden. Steckrübe zeigte drei, die Winterapssorte Artus und die Sommerapssorte Heros jeweils zwei und die Sorten Talent, Smart und Express zeigten ein diagnostisches Allel.

Abbildung 16 zeigt das Ergebnis der UPGMA Analyse, basierend auf paarweisen Distanzen (Euclidean Squared Distances) zwischen den 24 Multi-Locus-Phänotypen. Alle sieben Sorten bilden einzelne Cluster, die durch Bootstrap-Werte zwischen 51% (Smart) und 99% (Artus, Mendel) unterstützt werden.

Die Trennung der Sorten konnte über die „Re-Allocation“ Prozedur (AFLPop) bestätigt werden. Mit Ausnahme eines Individuums der Sorte Smart, konnten alle Individuen erfolgreich ihrer Ursprungssorte zugeordnet werden. Das einzelne Individuum der Sorte Smart zeigte einen $MLD < 1$ und wurde deshalb als nicht zugeordnet interpretiert.

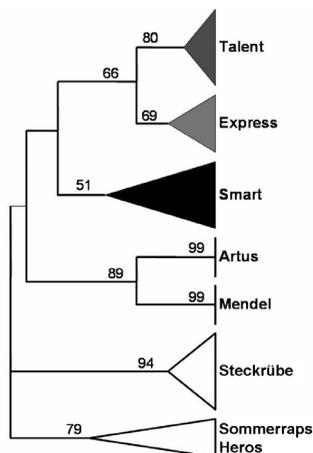


Abbildung 16: Cluster Analyse (UPGMA, 1000 Bootstrap Wiederholungen), basierend auf paarweisen Unterschieden zwischen den 24 Multi-Locus-Phänotypen der fünf Winterap-, einer Sommerap- und einer Steckrübensorte (N= 48).

Achtzehn verwilderte Rapspopulationen (161 Individuen) wurden untersucht (Tabelle 3.3). Sieben dieser Populationen konnten an Straßenrändern, Beeten oder Grünstreifen, vier in Baugebieten oder -brachen und sieben als Ausfallraps, an Ackerrändern oder als Durchwuchs gefunden werden. An 16 Fundorten wurde in mehr als einem Jahr Raps aufgefunden (Abbildung 13). An zwei Stellen (Populationen 54 und 87) konnte sympatrisch Rübsen aufgefunden werden.

Der auf sieben Sorten reduzierte Datensatz wurde zusammen mit den verwilderten Rapspopulationen untersucht. Innerhalb dieser insgesamt 209 Individuen amplifizierte Primerpaar Na12C06 21 verschiedenen Allele, Primerpaar Na12C08 27 Allele, Na12E01 25 Allele und Na12E06a 14 Allele unterschiedlicher Längen. Alle diese Merkmale sind in Raps polymorph. Innerhalb der verwilderten Rapspopulationen wurden 78 Allele durch die vier Primerpaare amplifiziert, nur 35 davon wurden auch in den Rapsorten gefunden. Die verwilderten Raps-Populationen unterscheiden sich in ihrer genetische Diversität. Einige Populationen zeigen eine hohe Anzahl an Allelen im Vergleich zu den analysierten Rapsorten. Besonders hervorzuheben sind hierbei Population 59 mit 27 Allelen, Population 54 mit 26 Allelen und Population 11 mit 22 Allelen. Bei anderen Populationen ist die Variabilität vergleichbar mit den untersuchten Rapsorten. Hierzu gehört Population 87, 114 und 202 mit jeweils elf Allelen und Population 223 mit zehn Allelen. Die AMOVA zeigte, dass die Variation innerhalb der verwilderten Populationen deutlich höher ist als die Variation der *B. napus* Sorten (66,3% gegenüber 15,7%, Tabelle 3.4). Während bei den Sorten der Hauptteil der Variation zwischen ihnen liegt und dadurch eine gute Trennung der Sorten ermöglicht, zeigen die verwilderten Populationen den Hauptteil der Variation innerhalb der Populationen. Die genetische Differenzierung der Populationen ist deutlich geringer als die der Sorten.

Tabelle 3.3: Genetische Variation der 18 verwilderten Rapspopulationen an den sechs untersuchten Mikrosatellitenloci und Daten der Kartierungen. * gemischter Bestand mit Rübsen.

Populationsnummer	Anzahl der Individuen	Anzahl der Allele	Multi-Locus-Phänotypen	Habitattyp	Anzahl der Jahre mit Rapsbestand	Anzahl der Jahre mit Samenansatz
Pop10	10	13	8	Straßenrand, Beete, Grünstreifen	5	4
Pop11	11	22	10	Baugebiete, Bau- brachen	4	1
Pop14	8	14	6	Straßenrand, Beete, Grünstreifen	3	1
Pop17	10	19	7	Straßenrand, Beete, Grünstreifen	2	1
Pop54*	15	26	15	Ausfallraps, Acker- ränder, Durchwuchs	3	3
Pop57	8	19	8	Straßenrand, Beete, Grünstreifen	5	3
Pop59	17	27	11	Ausfallraps, Acker- ränder, Durchwuchs	3	2
Pop61	8	18	7	Baugebiete, Bau- brachen	3	1
Pop69	9	17	9	Straßenrand, Beete, Grünstreifen	2	1
Pop71	6	13	6	Ausfallraps, Acker- ränder, Durchwuchs	3	1
Pop87*	9	11	7	Baugebiete, Bau- brachen	4	3
Pop90	9	15	9	Baugebiete, Bau- brachen	4	3
Pop97	9	20	9	Ausfallraps, Acker- ränder, Durchwuchs	2	1
Pop105	4	15	4	Ausfallraps, Acker- ränder, Durchwuchs	1	1
Pop114	10	11	7	Straßenrand, Beete, Grünstreifen	4	0
Pop115	8	12	7	Straßenrand, Beete, Grünstreifen	2	1
Pop202	5	11	5	Ausfallraps, Acker- ränder, Durchwuchs	1	1
Pop223	5	10	4	Ausfallraps, Acker- ränder, Durchwuchs	3	2
<i>Gesamt</i>	<i>161</i>	<i>78</i>	<i>139</i>			

Tabelle 3.4: Verteilung der genetischen Variation (AMOVA) innerhalb und zwischen den sieben analysierten *B. napus* Sorten und verwilderten Populationen ($P < 0,001$). FG: Freiheitsgrade; SSQ: engl. sums of squares, dt. Quadratsummen

Quelle der Variation	FG	SSQ	Varianz- komponente	Prozent der Variation
Sieben <i>B. napus</i> Sorten				
Zwischen den Sorten	6	204,35	4,89	84,35
Innerhalb der Sorten	41	37,17	0,91	15,65
Gesamt	47	241,52	5,79	
18 verwilderte Rapspopulationen				
Zwischen den Populationen	17	288,22	1,56	33,70
Innerhalb der Populationen	143	439,64	3,07	66,30
Gesamt	160	727,86	4,64	

Einhundertdrei der untersuchten Individuen (64%) konnten den Referenzsorten und F_1 -Hybriden zwischen diesen Sorten (mit $MLD > 1$) bei der „Allocation“-Prozedur mit AFLPop 1.0 zugeordnet werden. Neun dieser Individuen wurden wegen ihres P-Wertes unter 0,001 als nicht zugeordnet interpretiert, da dieser zeigt, dass die Wahrscheinlichkeit der richtigen Zuordnung zu einer bestimmten Sorte sehr gering ist. Insgesamt wurden somit 94 Individuen aus verwilderten Populationen (58%) unter Anwendung der genannten Kriterien erfolgreich den *Brassica*-Sorten zugeordnet (Tabelle 3.5). Die häufigste Sorte innerhalb der verwilderten Rapspopulationen ist Smart mit 40% der zugeordneten Individuen. Innerhalb einer Population wurden zwischen einer und vier Sorten gefunden. Zwei bis drei Sorten wurden in den allelreichsten Populationen detektiert (Pop59: Heros, Steckrübe; Pop54: Mendel, Smart, Heros; Pop11: Express, Smart, Talent). Verwilderte Populationen mit einer geringen Diversität (niedrige Allelzahl) bestanden entweder aus einer einzigen (Pop202 und Pop223: Smart) oder zwei Sorten (Pop114: Smart, Talent). Zwischen der Anzahl der detektierten Sorten und der Anzahl der Allele in einer Population besteht eine positive Korrelation ($r = 0,53$, $p < 0,05$; Spearmans Rang Korrelation). Drei der verwilderten Individuen wurden als Hybride der ersten Generation zwischen den Sorten identifiziert: ein Express×Smart Hybrid wurde in Population 10 gefunden, ein Individuum der Population 11 wurde als

Smart×Heros Hybrid identifiziert und ein Mendel×Heros Hybrid wurde in Population 54 entdeckt (Tabelle 3.5). In den Populationen 10 und 54 waren die Ausgangssorten vorhanden, während in Population 11 nur eine der Elternsorten (Smart) gefunden werden konnte.

Tabelle 3.5: Ergebnisse der Zuordnung der Rapspflanzen aus 18 verwilderten Populationen zu den sieben untersuchten *B. napus* Sorten. Die Zahlen in den Spalten geben die Anzahl der Individuen aus den verwilderten Rapspopulation an, die erfolgreich den jeweiligen Sorte unter den angewendeten Kriterien zugeordnet wurden (MDL=1, P>0,001, AFLPop).

	Smart	Talent	Express	Mendel	Artus	Heros	Steck- rübe	Hybride	Nicht zuge- ordnet	Ge- sam
Pop10	4	1	1					1 Express ×Smart	3	10
Pop11	3	3	1					1 Smart ×Heros	3	11
Pop14	2	1							5	8
Pop17	1				1		3		5	10
Pop54	2			3		5		1 Mendel ×Heros	4	15
Pop57							1		7	8
Pop59						11	1		5	17
Pop61					1		2		5	8
Pop69	1						2		6	9
Pop71	4	1	1							6
Pop87					1				8	9
Pop90						2	1		6	9
Pop97	2	1	2				2		2	9
Pop105									4	4
Pop114	5	4							1	10
Pop115	5		1						2	8
Pop202	4								1	5
Pop223	5									5
Gesamt	38	11	6	3	3	18	12	3	67	161

Teil 2: Potenzielle Kreuzungspartner

3.4 Kartierungen von *Brassica*-Populationen 2004-2008

Insgesamt wurden seit dem Jahr 2004 bis 2008 113 *Brassica*-Populationen im Osnabrücker Land in die Untersuchung aufgenommen (Abbildung 17 und Tabelle 7.1 im Anhang E). Hierbei handelt es sich um eine Erweiterung des Datensatzes der verwilderten Rapspopulationen (Teil 1) um weitere *Brassica*-Arten, weitere Standorte (z.B. Wildäcker und Blühstreifen) und nach 2005 kartierte Populationen.

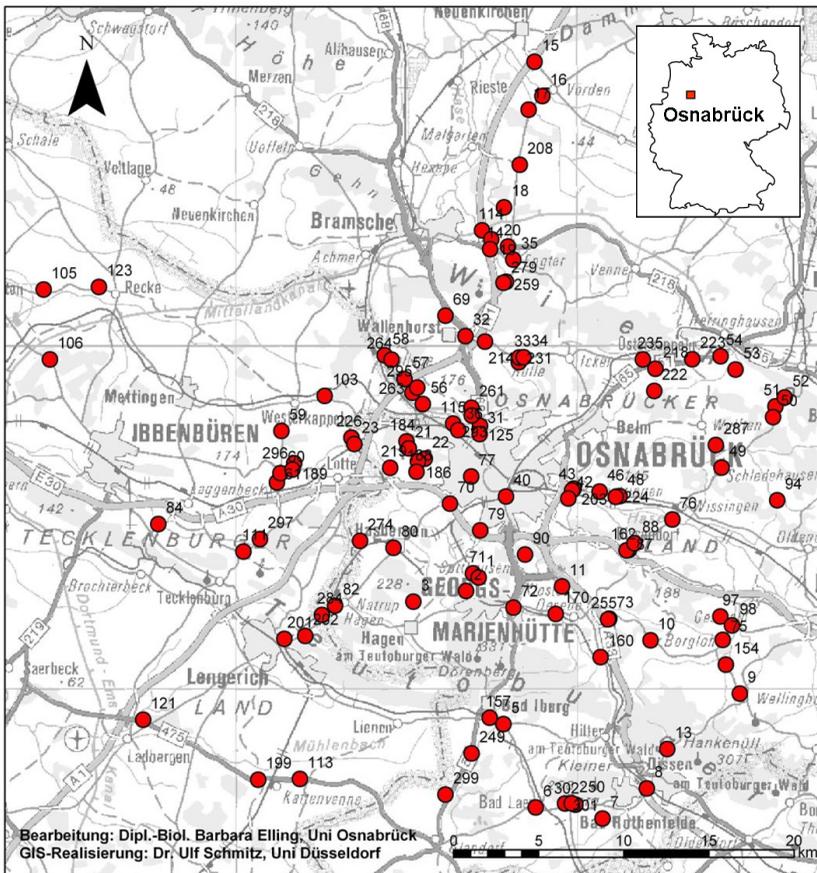


Abbildung 17: Fundorte aller 2004-2008 kartierten *Brassica*-Bestände, jeweils mit Populationsnamen.

Im ersten Jahr (2004) wurden 73 Populationen kartiert, unter denen reine Rapspopulationen dominierten. Weitere Populationen, vorwiegend Mischbestände verschiedener *Brassica*-Arten, wurden in den Folgejahren hinzugenommen (2005: 19, 2006: 11, 2007: 10). Somit wurden insgesamt 113 Populationen für einen Zeitraum von maximal fünf Jahren kartiert.

Die Artbestimmung erfolgte zunächst anhand morphologischer Merkmale und wurde mit durchflusszytometrischen Messungen überprüft (Kapitel 3.5). Drei Arten aus der Gattung *Brassica* wurden im Untersuchungsgebiet gefunden: *B. napus*, *B. rapa* und *B. oleracea*. Fünfundsiebzig der 113 untersuchten Populationen waren reine Rapspopulationen, 18 reine Rübsenpopulationen und 20 waren Mischbestände aus mindestens zwei *Brassica*-Arten (Tabelle 3.6, Abbildung 18). Innerhalb der morphologisch als Rübsen identifizierten Pflanzen konnten diploide und tetraploide Individuen mittels durchflusszytometrischer Messungen identifiziert werden. In neun Beständen traten ausschließlich diploide, in 13 nur tetraploide und in 15 beide Zytotypen auf. Tetraploide Rübsen werden separat in Kapitel 3.8 hinsichtlich ihrer Bedeutung für den Genfluss mit Raps behandelt.

Tabelle 3.6: Zusammensetzung nach Anzahl der *Brassica*-Arten innerhalb der Bestände.

	2004	2005	2006	2007	2008
Eine <i>Brassica</i> -Art	70	55	23	45	28
Zwei <i>Brassica</i> -Arten	2	7	11	13	8
Alle drei <i>Brassica</i> -Arten	0	0	1	3	2
<i>Gesamt</i>	72	62	35	61	38

Es wurde beobachtet, dass sich Winterraps und -rübsen zu einem großen Anteil in ihrer Blühphase (April/ Mai) überschneiden, wobei der Rübsen meist einige Tage vor dem Raps aufblüht. Kohl ist in der Regel bienn, blüht aber ebenfalls überschneidend mit Raps und Rübsen im zweiten Jahr.

Vierundfünfzig der 113 Populationen wurden an Straßenrändern, Grünstreifen und Beeten kartiert (Abbildung 19). Neben Populationen an Äckern (23) und an Bahngleisen (3), wurden auch 25 angesäte Bestände in die Untersuchung aufgenommen. Hierbei handelt es sich um Wildacker oder Blühstreifen-Ansaaten, die sich meist aus mehreren verschiedenen *Brassica*-Arten (24 unter Beteiligung von Rübsen, 13 mit Raps, drei mit

Kohl) und anderen nah verwandten Brassicaceen (*Sinapis*, *Raphanus*) zusammensetzen und im Hinblick auf interspezifische Hybridisierungen interessant sind.

Die Größen der Populationen reichen von einzelnen Individuen bis hin zu tausenden Pflanzen. Abbildung 43 (im Anhang E) zeigt die Größen der einzelnen Populationen in den fünf Untersuchungsjahren und illustriert die Populationsdynamiken. Abnahme und Zunahme der Populationsgröße von einem Jahr auf das Folgende unterscheiden sich im Mittel nicht signifikant voneinander, variieren jedoch stark zwischen den vier Folgejahren ($33,0 \pm \text{SD} = 24,2\%$ vs. $17,0 \pm \text{SD} = 11,8\%$; Kruskal Wallis Rangtest: $P=0,168$). Für diesen Vergleich wurden Rapsfelder ausgeschlossen (insg. 11 Fälle).

An 91 der 113 Fundorte (80,5%) wurden in mehr als einem Untersuchungsjahr *Brassica*-Bestände gefunden (Abbildung 20). Im Mittel konnten $49,4 \pm \text{SD} = 17,4\%$ der Bestände des Vorjahres im Folgejahr am selben Standort wieder aufgefunden werden (im Detail 2004/2005: 43 von 73 Populationen, 2005/2006: 19 von 62, 2006/2007: 24 von 35, 2007/2008: 24 von 61). Insgesamt zeigen 46 der 103 über mindestens 3 Jahre kartierten Populationen (44,7%) ein intermittierendes Vorkommen (d.h. die Bestände fallen für ein oder mehrere Jahre aus, bevor die Fläche wieder besiedelt wird). Eine Wiederbesiedlung nach einem Fehlen einer Population im Vorjahr wurde im Mittel auf $24,9\%$ ($\pm \text{SD} = 17,4\%$) der Flächen beobachtet.

Von den insgesamt 18 kartierten Raps-Rübsen-Mischbeständen waren 12 angepflanzte Wildäcker oder Blühstreifen. Bei sechs Misch-Beständen handelte es sich um nicht angepflanzte, verwilderte Populationen. Sechzehn der 18 Bestände konnten in mehr als einem Untersuchungsjahr am selben Fundort wieder aufgefunden werden, darunter alle verwilderten Populationen.

Der Anteil der verwilderten Populationen mit erfolgreichem Samenansatz unterlag starken Schwankungen und betrug $49,3\%$ im Jahr 2004, $30,7\%$ 2005, $55,9\%$ in 2006, $27,9\%$ 2007 und $38,5\%$ in 2008 (mindestens eine Pflanze mit reifen Samen pro Population, Abbildung 44 im Anhang E). Im Mittel ergibt sich daraus ein Anteil von $40,1\%$ ($\pm \text{SD} = 11,5\%$) der Populationen pro Jahr mit reifen Samen.

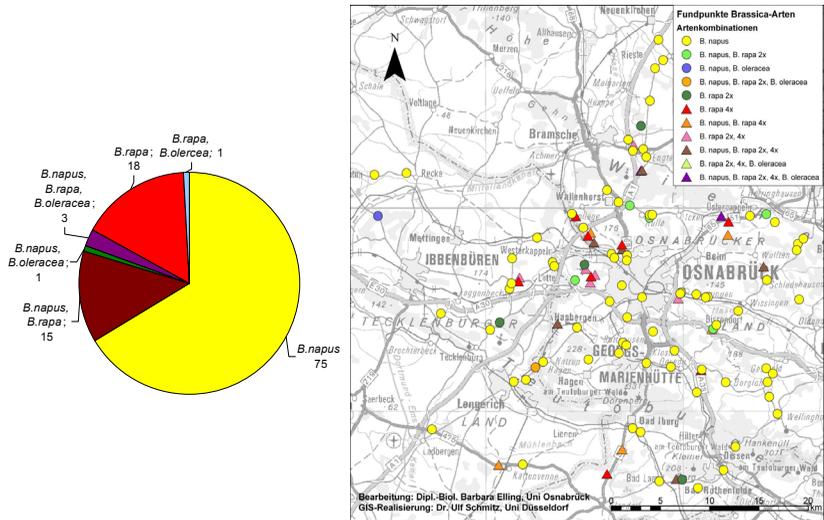


Abbildung 18: Artenkombinationen aller 113 in den Jahren 2004 bis 2008 kartierten *Brassica*-Bestände. Links: Anteil der Artenkombinationen an der Gesamtzahl der Bestände, rechts: Arten- und Zytotypenkombinationen der einzelnen *Brassica*-Bestände.

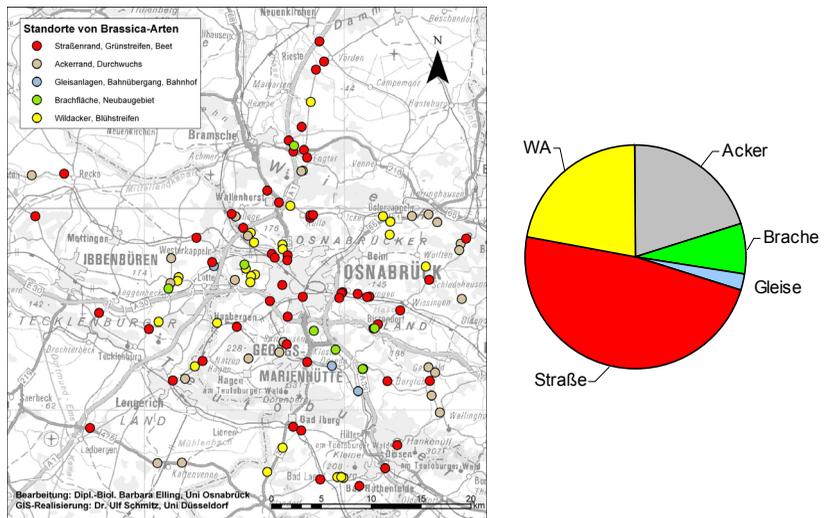


Abbildung 19: Standorte aller 2004-2008 kartierten *Brassica*-Populationen. Links: Standorte der einzelnen *Brassica*-Populationen. Rechts: Anteil der Standorttypen an der Gesamtzahl der Standorte. WA: Wildacker

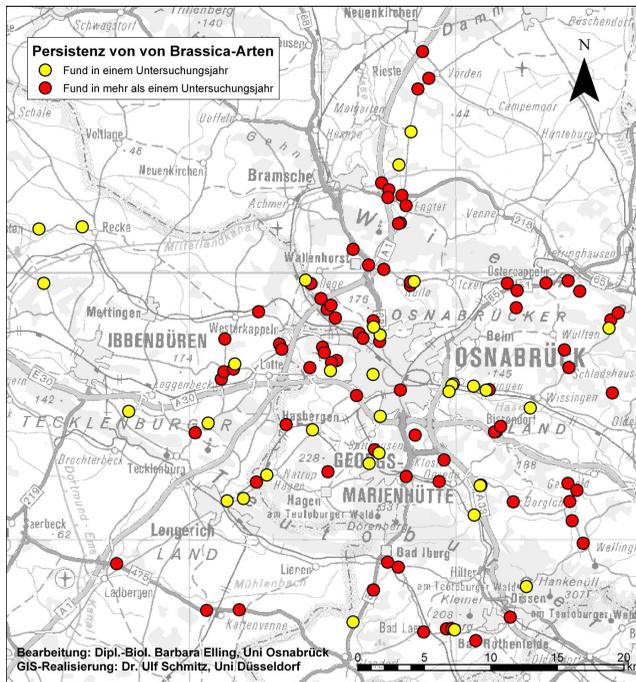


Abbildung 20: Persistenz aller 2004-2008 kartierten *Brassica*-Bestände. Gelb: Fund in nur einem einzigen Untersuchungsjahr, rot: Fund in mehr als einem Untersuchungsjahr.

Kleine rotbraune Samen, entsprechend der kultivierten Ölform des RübSENS (*B. rapa* ssp. *oleifera*), konnten bei den diploiden RübSENSorten der Wildäcker beobachtet werden und wurden auch in diploiden verwilderten RübSENSpopulationen (z.B. Pop18: Wegrand, Pop19: Brache, Pop219, Pop279: Feldrand) gefunden. Die tetraploiden Sorten und die tetraploiden verwilderten Populationen besitzen schwarzbraune Samen, welche deutlich größer sind als die der diploiden RübSENS. Ausschließlich in den diploiden, verwilderten RübSENSindividuen des Mischbestandes Pop54 (Ackerrand, bis 2008 persistent) konnten kleine, schwarze Samen gefunden werden, wie sie für die Wildform des RübSENS (*B. rapa* ssp. *campestris*) zu erwarten sind. Dies ist der erste Hinweis auf indigene Bestände der wilden Subspezies *campestris* in Südwest-Niedersachsen. In Population 54 kamen im Jahr 2004 Raps und RübSENS in einem kleinen Bestand (je ca. 10 Individuen) als Unkraut am Rand eines Getreidefeldes vor. 2005 und 2008 wurden am

selben Ackerrand je ca. 50 Rübsen gefunden, während das Feld mit Raps bestellt war.

Neben Raps, Rübsen und Kohl wurden 16 weitere Arten aus den Brassicaceen an denselben Standorten gefunden: *Alliaria petiolata* (M. BIEB.) Cavara et Grande, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., *Barbarea vulgaris* W.T. AITON, *Capsella bursa-pastoris* (L.) MEDIK., *Cardamine hirsuta* L., *Cardamine pratensis* L., *Diplotaxis muralis* (L.) DC., *Erysimum cheiranthoides* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Raphanus sativus* L., *Sinapis alba*, L., *Sinapis arvensis* L., *Sisymbrium altissimum* L., *Sisymbrium irio* L., *Sisymbrium officinale* (L.) SCOP. und *Thlaspi arvense* L.. Mischbestände zwischen *Brassica* und den verwandten Gattungen *Diplotaxis*, *Raphanus* und *Sinapis* sind im Hinblick auf intergenerische Hybridisierungen von besonderem Interesse (*Diplotaxis*: ein gleicher Fundort, aber nicht sympatrisch mit Raps; *Raphanus*: sympatrisch mit Raps an sechs Fundorten, davon einer mit Raps und *R. raphanistrum*; und *Sinapis*: sympatrisch an zehn Fundorten, Abbildung 36, Tabelle 7.1 im Anhang B).

3.5 Durchflusszytometrie aller untersuchter Arten

Zu Vergleichszwecken wurde der relative DNA-Gehalt von Raps-, Rübsen- und Kohlsorten bestimmt. Insgesamt wurden 61 Individuen aus 17 Rapsorten, 13 Individuen aus 13 Kohlsorten, zwölf Individuen aus sechs diploiden und 40 Individuen aus zwei tetraploiden Rübsensorten gemessen. Aus den relativen DNA-Gehalten der untersuchten *Brassica*-Sorten im Verhältnis zu *P. sativum* (=1s) wurden Mittelwerte und Spannweiten für die Arten berechnet (Tabelle 3.7). Diese dienen als Vergleichswerte zur Bestimmung der kartierten Individuen und der Nachkommen der Kreuzungsversuche.

Tabelle 3.7: Relative DNA-Gehalte der untersuchten *Brassica*-Sorten und Rübsen-Zygotypen. 4x: tetraploid, 2x: diploid, Interner Standard: *P. sativum* (=1s)

	Anzahl der Sorten	Anzahl der Individuen	Mittelwerte	Standard-abweichung	Minimum	Maximum
<i>B. napus</i>	17	61	0,314s	0,007s	0,299s	0,333s
<i>B. oleracea</i>	13	13	0,179s	0,003s	0,174s	0,187s
<i>B. rapa</i> 2x	6	12	0,134s	0,003s	0,129s	0,140s
<i>B. rapa</i> 4x	2	40	0,266s	0,006s	0,254s	0,280s

Außerdem wurden exemplarisch relative DNA-Gehalte der nah verwandten Arten *Diplotaxis muralis* (n=3), *Raphanus sativus* (n=8), *R. raphanistrum* (n=4), *Sinapis alba* (n=3) und *S. arvensis* (n=8) bestimmt. Der relative DNA-Gehalt eines Individuums von *B. nigra* (gesammelt am Rhein bei Düsseldorf) wurde ebenfalls gemessen.

Die Verhältnise der gemessenen relativen DNA-Gehalte der Arten zueinander können mit den Verhältnissen der Arten zueinander in anderen Studien (als absolute DNA-Gehalte) verglichen werden (Tabelle 3.8).

Die Chromosomenzahlen aller Arten wurden gegen die jeweiligen Mittelwerte des relativen DNA Gehaltes aufgetragen und eine Regressionsgerade ermittelt (Abbildung 21). Innerhalb des Verwandtschaftskreises lassen sich Ploidiestufen (2x, 4x) klar trennen. Innerhalb einer Ploidiestufe ist das Verhältnis zwischen Chromosomenzahl und relativem DNA-Gehalt hingegen nicht linear, sondern hängt stark von der individuellen Größe der Chromosomen ab (Tabelle 3.8). Ein gutes Beispiel liefern die Eltern von

Tabelle 3.8: Relative DNA-Gehalte der neun untersuchten Arten. 2n: Chromosomenzahl, N: Anzahl der Messungen, int. Std.: interner Standard, SD: Standardabweichung. Die Literaturwerte stammen aus *Johnston et al. (2005) und **Bennett & Leitch (2004).

Art	Ploidie 2n=		N	Relativer DNA-Gehalt	SD	Literaturwerte für die absolute DNA-Gehalte */** [pg]
interner Standard: <i>Pisum sativum</i>	2x	14	int. Std.	1s	-	k.A./ 9,75
<i>Brassica napus</i>	4x	38	61	0,314s	0,007s	2,31/ 2,3
<i>Brassica oleracea</i>	2x	18	13	0,179s	0,003s	1,42/ 1,55
<i>Brassica rapa</i> 2x	2x	20	12	0,134s	0,003s	1,08/ 1,15
<i>Brassica rapa</i> 4x	4x	40	40	0,266s	0,006s	k.A./ k.A.
<i>Diplotaxis muralis</i>	4x	42	3	0,338s	0,005s	k.A./ k.A.
<i>Raphanus raphanistrum</i>	2x	16	4	0,135s	0,003s	k.A./ k.A.
<i>Raphanus sativus</i>	2x	18	6	0,147s	0,006s	1,17/ 1,1
<i>Sinapis alba</i>	2x	24	3	0,133s	0,008s	1,13/ 1,0
<i>Sinapis arvensis</i>	2x	18	9	0,146s	0,009s	k.A./ 0,75
<i>Brassica nigra</i>	2x	16	1	0,155s	-	k.A./ 1,55

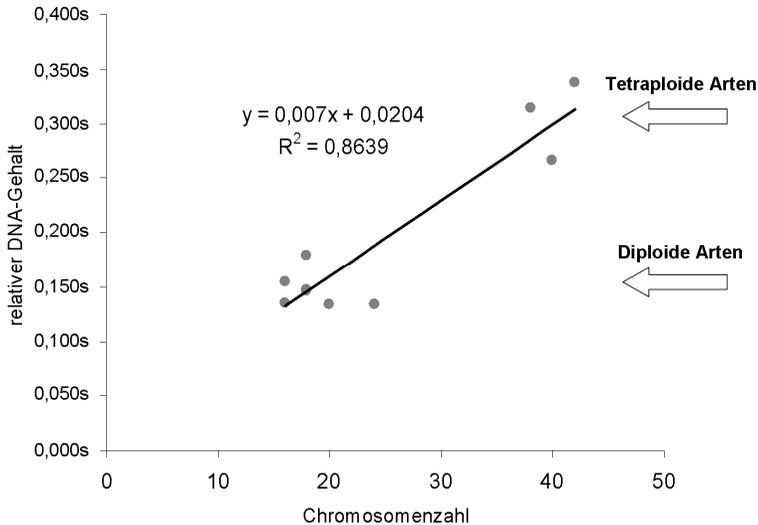


Abbildung 21: Lineare Regression der Chromosomenzahlen aller neun untersuchten Arten aus der *Brassica*-Verwandschaft gegen den mittleren relativen DNA Gehalt (interner Standard *P. sativum* =1s).

Raps: Im Vergleich liegt der relative DNA-Gehalt des C Genoms von Kohl ($n=9$) nach den Messungen 33,6% über dem des A-Genom des Rübens ($n=10$). Das C-Genom von *B. nigra* ($n=8$) enthält 15,7% mehr DNA als das A-Genom des Rübens.

3.6 Identifizierung potenzieller Hybride

3.6.1 Durchflusszytometrie

Aus den Kartierungen im Osnabrücker Land wurden insgesamt 399 *Brassica*-Individuen (Blattmaterial vom Standort und Nachzuchten aus Saatgut) durchflusszytometrisch untersucht. Zudem wurde im Freilandversuch mit Unkrauttraps (Koller 2007, unveröffentlicht) Blattmaterial von Nachkommen aus drei Mischbeständen (91 Individuen von 18 Mutterpflanzen) untersucht. Die Individuen sollen den *Brassica*-Arten und Hybriden zwischen den Arten zugeordnet werden, indem die Morphologie des Individuums und dessen relativer DNA-Gehalt mit den gemessenen minimalen und maximalen Messwerten der untersuchten Arten (Tabelle 3.7)

verglichen wird. Zunächst wurden aus den Mittelwerten der Arten und Rübsen-Zytotypen (Tabelle 3.7) Erwartungswerte für Hybride zwischen diesen berechnet (Tabelle 3.9). Vor allem Hybride zwischen Eltern unterschiedlicher Ploidiestufen unterscheiden sich deutlich von ihren Eltern in ihrem relativen DNA-Gehalt und können so detektiert werden. Unter Beteiligung unreduzierter Gameten der Eltern sind weitere Genomkombinationen und Ploidiestufen möglich. Auf einige dieser wird in Kapitel 3.11 im Zusammenhang mit tetraploiden *B. rapa* näher eingegangen.

Von den 399 untersuchten *Brassica*-Proben aus den Kartierungen konnten 348 (87%) aufgrund ihres relativen DNA-Gehaltes der gemessenen Spanne einer Art bzw. eines Zytotyps zugeordnet werden: 115 wurden Raps, neun Kohl, 112 diploidem Rübsen und 112 tetraploidem Rübsen zugeordnet. Weitere 46 entsprachen morphologisch einer der Arten, lagen aber außerhalb der für die Sorten gemessenen Spannweiten: Zwei morphologisch dem Raps entsprechende Pflanzen besaßen einen nur geringfügig von Raps abweichenden relativen DNA-Gehalt (0,298s). Siebzehn entsprachen dem diploiden Rübsen, 16 dieser lagen relativ nah an den für die

Tabelle 3.9: Mögliche Genomkombinationen unter Beteiligung reduzierter Gameten der Elternarten. 2x: diploid, 4x tetraploid. Angegeben sind die Mittelwerte für die Arten sowie die Erwartungswerte für die Hybriden (kursiv). Intertypische (zwischen Arten oder Zytotypen) Hybride sind grau hinterlegt.

♀	♂	reduzierter Gamet	Kohl CC 0,179	Rübsen 2x AA 0,134	Rübsen 4x AAAA 0,266	Raps AACC 0,314
		C	CC 0,179s	AC 0,157s	AAC 0,223s	ACC 0,247s
		A	AC 0,157s	AA 0,134s	AAA 0,200s	AAC 0,224s
		AA	AAC 0,223s	AAA 0,200s	AAAA 0,266s	AAAC 0,290s
		AC	ACC 0,247s	AAC 0,224s	AAAC 0,290s	AACC 0,314s

diploiden Sorten gemessenen Werte (13-mal zwischen 0,126s und 0,128s, dreimal 0,142s-0,146s). Ein Individuum aus einem gemischten Bestand von tetraploidem und diploidem Rübsen (Pop188) zeigt mit 0,118s einen deutlich niedrigeren DNA-Gehalt als für diploiden Rübsen zu erwarten ist. Von den 27 morphologisch dem tetraploiden Rübsen zugeordneten Pflanzen wiesen einige deutlich geringere Werte auf (0,242s-0,253s). Diese Werte liegen nahe dem Erwartungswert für einen triploiden Kohl-Raps-Hybriden (ACC, 0,247s, Tabelle 3.9), jedoch waren nur an einem der zwölf der betroffenen Fundorte Kohl und Raps gemeinsam anzutreffen.

In fünf Fällen (Werte zwischen 0,222s und 0,227s) wurden relative DNA-Gehalte gemessen, wie sie für triploide Raps-Rübsen-Hybride zu erwarten sind (Erwartungswert AAC: 0,224s, Tabelle 3.9). Eine Pflanze stammt aus der Population 219. Vier Pflanzen entstammen dem Saatgut einer einzigen Mutterpflanze der Population 54. In beiden Populationen sind sowohl Raps als auch diploide Rübsen präsent. Im Freilandversuch von Koller (2007, unveröffentlicht) fiel ein weiterer Nachkomme derselben Mutterpflanze aus Population 54 aufgrund seines relativen DNA-Gehaltes von 0,221s als triploider Hybrid auf. Insgesamt wurden von der Mutterpflanze 54-5 neun Nachkommen untersucht. Fünf waren triploid (56% der Nachkommen), vier entsprachen diploidem Rübsen.

3.6.2 Mikrosatelliten-Untersuchungen

Die Mikrosatellitenanalysen wurden wie in Kapitel 2.5 beschrieben durchgeführt. Insgesamt wurden 440 Individuen der Gattung *Brassica* (428 Individuen) und nahe verwandter Gattungen (12 Individuen) aus den Kartierungen sowie aus Sorten mit den vier Mikrosatellitenprimerpaaren untersucht. Manuell wurden artspezifische Banden zugewiesen, um potenzielle Hybride zwischen den Arten zu identifizieren.

Insgesamt wurden 434 Individuen mit den vier Mikrosatellitenprimerpaaren untersucht. Davon gehören 422 zu den drei *Brassica*-Arten *B. napus*, *B. rapa* und *B. oleracea*, und 12 Individuen gehören zu anderen Brassicinae. Die Individuen entstammen entweder aus den Kartierungen (Tabelle 7.1 im Anhang B) oder aus Sorten (Tabelle 7.2 im Anhang C).

In Raps (insgesamt 217 Individuen aus 12 Sorten mit 80 Individuen sowie aus 16 reinen Rapspopulationen mit 137 Individuen, siehe Kapitel 3.3) konnten insgesamt 94 Allele über die sechs Loci amplifiziert (Na12E06a: 14 Allele, Na12C08: 28, Na12C06: 22, Na12E01: 30 Allele). Alle Loci und Allele sind polymorph. Nullallele (kein amplifiziertes Produkt, z.B. aufgrund von Mutationen in der Primerbindestelle oder fehlendem Locus) sind in drei Primerpaaren sichtbar, allerdings jeweils nur in einzelnen Individuen: Nullallele konnten nicht bei Na12E06a, in 2 Individuen bei Na12C08, in 2 Individuen bei Na12C06 und in 7 Individuen bei Na12E01 detektiert werden.

Es wurden insgesamt 103 Individuen aus Rübensorten und reinen Rübsenpopulationen molekular untersucht (Tabelle 3.10). Darunter waren 29 Individuen aus sechs diploiden und 19 Individuen aus zwei tetraploiden Sorten. Außerdem wurden 18 diploide und 37 tetraploide Individuen aus den Kartierungen untersucht. Insgesamt wurden 51 Allele verschiedener Länge gefunden. Die Primerpaare Na12E06a und Na12C08 amplifizieren keine Allele in Rübsen, Na12C06 zeigt 14, Na12E01: 37 Allele. Allerdings zeigten bei Na12C06 78% und bei Na12E01 30% der Individuen kein Fragment (Nullallele). Dies schränkt die Verwendbarkeit der Primerpaare in Rübsen stark ein.

In Kohl (11 Individuen aus 11 Sorten) wurden insgesamt 33 Allele (8, 16, 1, 8) gefunden. Allerdings amplifizierte das Primerpaar Na12C06 nur in einem Individuum ein Allel, 10 zeigten Nullallele. Primerpaare Na12E01 und Na12C08 zeigten in je einem Individuum ein Nullallel.

Die Primerpaare amplifizierten keine Allele in den nah verwandten Arten *Raphanus raphanistrum* (2 Individuen), *R. sativus* (2), *Sinapis alba* (1), *S. arvensis* (4), *Diplotaxis muralis* (2) und *Brassica nigra* (1).

Tabelle 3.10: Amplifizierte Fragmentzahl durch die Mikrosatelliten-Primerpaare in den Arten

Primerpaar	Fragmente pro Primerpaar	Fragmente pro Individuum	Individuen mit Nullallelen
<i>Brassica napus</i> (N=217)			
Na12E06a	14	1-2	0
Na12C08	27	0-4	2
Na12C06	22	0-4	2
Na12E01	24	0-3	7
<i>Gesamt</i>	<i>87</i>		
<i>Brassica rapa</i> (N=103)			
Na12E06a	0	0	103
Na12C08	0	0	103
Na12C06	14	0-3	80
Na12E01	37	0-4	31
<i>Gesamt</i>	<i>51</i>		
<i>Brassica oleracea</i> (N=11)			
Na12E06a	8	1-2	0
Na12C08	16	0-4	1
Na12C06	1	0-1	10
Na12E01	8	0-2	1
<i>Gesamt</i>	<i>33</i>		

Gemischte Bestände von Raps und Rübsen

91 Individuen aus vier Mischbeständen (Pop54: 40 Individuen, Pop56: 36, Pop87: 10, Pop219: 5) aus Raps und Rübsen (diploid und/oder tetraploid) wurden untersucht. Zunächst fand eine morphologische und durchflusszytometrische Zuordnung der Individuen zu den Arten statt. Anschließend wurden die Allele der Individuen mit denen verglichen, die in Raps bzw. Rübsen (jeweils Sorten und reine Populationen der beiden Arten) gefunden wurden. Allele, die in mehr als einem Individuum in nur einer der beiden Arten auftraten, wurden als artspezifische Allele gewertet. Das Auftreten von artspezifischen Raps-Allelen in Individuen der Mischbestände, die aufgrund ihres DNA-Gehaltes dem Rübsen zugeordnet wurden, gab einen Hinweis auf Hybridisierung bzw. Introgression. Insgesamt konnten 49 artspezifische Rapsallele (Na12E06a: 13 Allele, Na12C08: 22, Na12C06: 10, Na12E01: 4) gefunden werden, die in mehr als einem Rapsindividuum auftraten. In

Rübsen konnten 11 solche Allele (Na12C06: 2, Na12E01: 9), für Kohl ein Allel (Na12C08) gefunden werden. Drei Allele waren für Kohl und Raps (C-Genom) spezifisch. Insgesamt waren somit etwa die Hälfte der 130 in den Sorten und reinen Populationen gefundenen Allele zur Artdifferenzierung tauglich. Die andere Hälfte kam entweder nur in einzelnen Individuen, ausschließlich in Kohl, oder sowohl im A- als auch im C-Genom vor. Von den artspezifischen Allelen konnten 17 (15 Raps-, ein Raps-Kohl-, ein Rübsenallel) in Individuen gefunden werden, die nach Morphologie und Durchflusszytometrie nicht der entsprechenden Art angehören.

Von den drei untersuchten Beständen aus Raps und diploiden Rübsen war einer (Pop87, 10 Individuen) unauffällig. In Population 54 (40 Individuen) wurden triploide Nachkommen (54-5.11 mit 3 Rapsallelen) sowie ein Rübsennachkomme mit Rapsallele gefunden. In Population 219 wurde ein etablierter Triploider (219-5 mit 3 Raps- und ein Raps-Kohl-Allel) sowie zwei Rübsenpflanzen mit Rapsallelen detektiert (drei Auffällige von fünf untersuchten). Besonders auffällig ist Population 56, aus der 36 Individuen molekular untersucht wurden. Hierbei handelt es sich um einen Wildacker, der schon 2003, also vor Beginn der Untersuchung Bestand hatte (Bleeker persönliche Mitteilung). Tetraploide Rübsen waren hier deutlich häufiger als diploide. In 12 von 20 untersuchten tetraploiden Rübsen wurden 1-4 Rapsmerkmale gefunden. Zwei von drei diploiden Rübsen zeigten je ein Rapsallel, ebenso wie zwei von elf Rapspflanzen einen Rübsenmarker zeigten. Weitere triploide F_1 -Hybride wurden nicht gefunden.

3.7 Charakterisierung der triploiden F_1 -Hybride

3.7.1 Morphologie

Neun Nachkommen von Mutterpflanze 5 aus Population 54 wurden untersucht, fünf davon waren triploid. Die vier diploiden Nachkommen zeigten ausschließlich morphologische Rübsenmerkmale. Die triploiden Nachkommen zeigten bewachste oder unbewachste juvenile Blätter (beide Eltern), meist nicht stängelumfassende adulte Blätter (Rapsmerkmal, Abbildung 22), und Blütenstände wie Raps zum Teil aber mit kleineren Blüten als Raps.



Abbildung 22: Zwei Nachkommen der Population 54 von Mutterpflanze 5 aus dem Freilandversuch mit Unkrauttraps. Nachkomme 54-5.1 (diploid) weist ausschließlich morphologische Rübsenmerkmale auf, während Nachkomme 54-5.3 eine Rapsmorphologie zeigt, triploid ist und aus interspezifischer Hybridisierung hervorgegangen ist.

3.7.2 Pollenfertilität

Die Pollenfertilität von drei triploiden Nachkommen aus den Kartierungen wurde wie in Kapitel 2.6 beschrieben bestimmt und mit den potenziellen Eltern *B. rapa* und *B. napus* verglichen. Die Pollenfertilität der drei untersuchten triploiden Hybride liegt mit durchschnittlich 58,0% deutlich niedriger als die der potenziellen Eltern Raps und Rübsen (Tabelle 3.11).

Tabelle 3.11: Pollenfertilität von Raps, diploidem Rübsen und triploiden Raps-Rübsen-Hybriden

Art	N	Mittel [%]	SD [%]g	Maximum [%]	Minimum [%]
Raps	5	97,7	2,1	99,8	94,8
Rübsen 2x	5	95,1	3,9	98,3	88,8
Hybride 3x	3	58,0	11,2	69,8	47,4

Teil 3: Tetraploider Rübsen

3.8 Kartierungen von tetraploiden Rübsen 2004-2008

Tetraploider Rübsen entspricht in seiner Morphologie und den art-spezifischen Merkmalen dem diploiden Rübsen, unterscheidet sich jedoch von diesem in der Blütengröße (Abbildung 23, Abbildung 24). Die morphologische Zuordnung wurde mittels Durchflusszytometrie überprüft. Nach diesen Untersuchungen wurde tetraploider Rübsen während der Kartierungen im Osnabrücker Land an 28 verschiedenen Standorten aufgefunden (Tabelle 7.1 im Anhang B). Wildäcker waren die häufigsten Standorte tetraploider Rübsen (22), aber verwilderte Populationen traten auch an Ackerrändern (2), Brachflächen (2) und Straßenrändern (2) auf (Abbildung 25). An acht Fundorten kam tetraploider Rübsen als einzige *Brassica*-Art vor, die restlichen 20 Fundorte waren mit gemischten Beständen aus tetraploidem Rübsen und diploidem Rübsen (7), tetraploidem Rübsen und Raps (5) und tetraploidem Rübsen, diploidem Rübsen und Raps (8) besiedelt. In drei dieser Bestände konnte außerdem Kohl gefunden werden. Gemischte Bestände aus tetraploidem Rübsen und diploiden Rübsen oder Raps fanden sich vor allem auf Wildäckern und Blühstreifen, häufig zusammen mit weiteren Arten aus den Brassicinae (Abbildung 26, Tabelle 3.12).

Tabelle 3.12: Populationen mit tetraploidem Rübsen 2004-2008

	2004	2005	2006	2007	2008
<i>Bestände mit tetraploidem Rübsen gesamt</i>	6	10	14	18	10
davon sympatrisch mit diploidem Rübsen	5	6	5	8	6
davon sympatrisch mit Raps	1	4	8	12	6

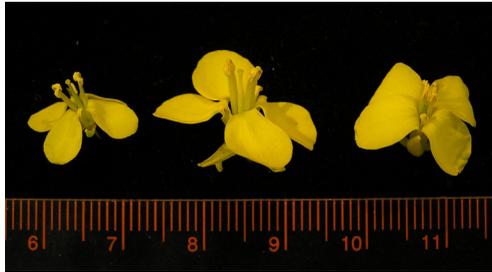


Abbildung 23: Blütengröße von diploidem Rübsen (links), tetraploidem Rübsen (Mitte) und Raps (rechts).



Abbildung 24: Morphologische Merkmale von Raps und tetraploiden Rübsen. Links: Stängel von Raps mit nicht stängelumfassend gehörten Blättern, Mitte: Blütenstände von Raps (links) und tetraploidem Rübsen (rechts), rechts: Stängel von tetraploidem Rübsen mit stängelumfassender Öhrung.



Abbildung 25: Verwilderter tetraploider Rübsen. Links: Tetraploider Rübsen am Ackerrand (Pop264, 2007), rechts: tetraploider Rübsen als Unkraut (Osnabrück Pye 2008).

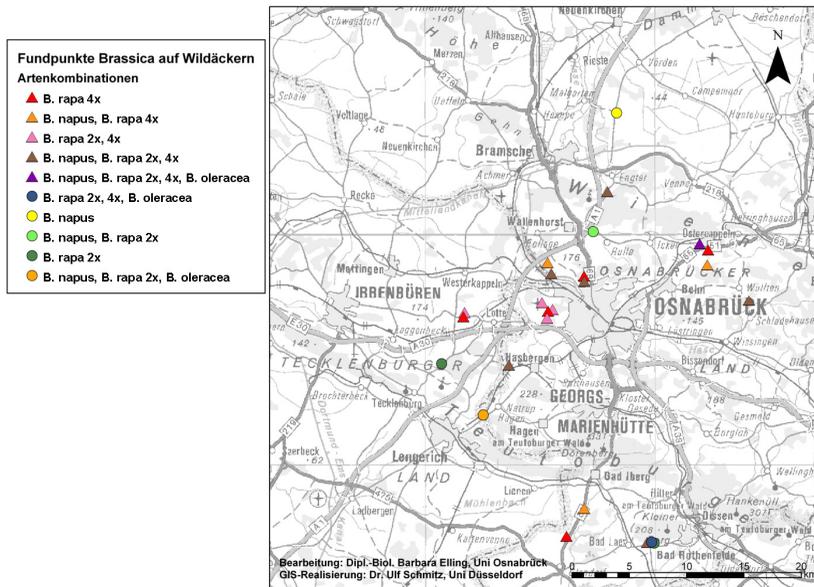


Abbildung 26: Artenkombinationen der Wildäcker und Blühstreifen im Untersuchungsgebiet 2004-2008

3.9 Vorversuch: Kreuzungen mit tetraploiden Rübsen

Im Vorversuch konnte für alle Bestäubungen unter Beteiligung tetraploider Rübsen ein Samenansatz beobachtet werden (Tabelle 3.13). Ein Vergleich zwischen den Ergebnissen der Knospenbestäubung (bud pollination) und Bestäubung bei geöffneten Blüten sowie zwischen inter- und intra-spezifischen Kreuzung oder der Richtung der Kreuzungen erscheint aufgrund der geringen und variierenden Zahl der Bestäubungen und resultierenden Hybride nicht sinnvoll. Alle 15 normal entwickelten Samen keimten, aber nur sechs Keimlinge entwickelten sich zu adulten Pflanzen.

Tabelle 3.13: Ergebnisse der Vorversuche bei Kreuzung von tetraploidem Rübsen mit Raps und diploiden Rübsen. a) Bud pollination (bus poll.), b) Bestäubung geöffneter Blüten, r4: tetraploider *B. rapa*, r2: diploider *B. rapa*, n: Raps. Erwartete Genomzusammensetzung unter der Beteiligung reduzierter elterlicher Gameten.

♀ × ♂	a) Kreuzung mit bud poll. Samen	a) Schoten mit norm. Blüten	b) Kreuzungen mit geöffneten Blüten	b) Schoten mit norm. Samen	Samen gesamt	Keimlinge	Adulte Hybride	Labornamen der Nachkommen (FC, Pollenvitalität)	Erwartete Genomzusammensetzung
n × r4	27	2	12	1	6	6	1	H5 (0,306s, 85,1%)	AAAC
r4 × n	24	3	7	0	3	3	2	H1 (0,282s, 88,0%) H7 (0,266s, 72,2%)	AAAC
r2 × r4	8	1	-	-	5	5	2	H3 (0,270s, 98,3%) H4 (0,268s, 96,9%)	AAA
r4 × r2	9	1	4	0	1	1	1	H2 (0,190s, 39,9%)	AAA

3.9.1 Interspezifische Hybride

Die gemessenen relativen DNA-Gehalte der Nachkommen wurden mit den Erwartungswerten des relativen DNA-Gehaltes für Hybride verglichen (eine genaue Beschreibung der Vorgehensweise findet sich in Kapitel 3.11.1.2 und Tabelle 3.16). Der Erwartungswert für tetraploide Hybride (Genomzusammensetzung AAAC) aus Raps (AACC) und tetraploiden Rübsen (AAAA) liegt bei 0,290s.

Einer der potenziellen Hybriden aus Raps und tetraploidem Rübsen (H7) wies einen relativen DNA-Gehalt aus, wie er für einen intraspezifischen tetraploiden Rübsen (AAAA) zu erwarten wäre. Zwei (H1, H5) zeigten vom Erwartungswert für tetraploide Hybride (AAAC) nach oben und unten abweichende relative DNA-Gehalte. In ihrer Morphologie wiesen die letzteren beiden einzelne Merkmale des potenziellen Vaters Raps auf (bewachsene Blätter bzw. nicht-stängelumfassende Öhrung der Blätter), einer der beiden zeigte eine stark verlangsamte juvenile Entwicklung. Alle drei Nachkommen zeigten eine hohe Pollenfertilität zwischen 72,2-88%.

3.9.2 Rübsen-Zytotypen

Der Erwartungswert des relativen DNA-Gehaltes für triploide Rübsen (AAA) liegt bei 0,200s, für intraspezifische tetraploide Rübsen (AAAA) bei 0,266s. Ein Nachkommen der Kreuzungen der Rübsenzytotypen war triploid, wie es bei reduzierten elterlichen Gameten zu erwarten wäre. Zwei Nachkommen waren tetraploid und entstanden vermutlich aus unreduzierten Gameten des diploiden, mütterlichen Elters. Während der triploide Nachkomme eine reduzierte Pollenfertilität zeigte (39,9%, H2), wiesen die beiden Tetraploiden hohe Pollenfertilitäten von 96,9 bzw. 98,3% (H3, H4) auf. Die Hybride zwischen den Rübsenzytotypen zeigten jeweils die Blütengröße des väterlichen Elters.

3.10 Hauptversuch: Kreuzungen mit tetraploiden Rübsen

Zur besseren Übersicht sind die verschiedenen Kreuzungstypen (z.B. $n \times r2$ und reziprok $r2 \times n$) in diesem Abschnitt einheitlich farbig gekennzeichnet. Tabelle 3.14, Abbildung 27 und Tabelle 7.9 (Anhang G) stellen die zentralen Ergebnisse der Arbeit zusammen. Eine detaillierte Auswertung ist in der Arbeit von Maren Hochkirch (geb. Müller 2007 unveröffentlicht) nachzulesen.

Insgesamt erscheint die Anzahl normal entwickelter Samen pro Kreuzung (Abbildung 27, B) als ein gutes Maß, um den Erfolg von Kreuzungen zu messen, da sie im Gegensatz zum Schotenansatz den Beitrag der Kreuzung zur nächsten Generation mit berücksichtigt. Bei den innerartlichen Kreuzungen erwies sich Raps mit 9,33 Samen pro Kreuzung am erfolgreichsten, während die selbstinkompatiblen Rübsenzytotypen nur bei einem Viertel (diploider Rübsen) bzw. der Hälfte (tetraploider Rübsen) der Kreuzungen überhaupt Schoten ansetzten. Diese enthielten verglichen mit Raps eine signifikant geringere Samenzahl (0,5 bzw. 1,2 Samen pro Kreuzung). Vermutlich ist dies auf die geringe Zahl an Mutterpflanzen damit Genotypen der selbstinkompatiblen Art zwischen diesen zurückzuführen. Aus allen Hybridkreuzungen (Raps \times Rübsen) resultierten normal entwickelte Samen. Es entstanden unter Beteiligung von diploidem Rübsen im Mittel deutlich mehr Samen pro Kreuzung (1,95) als zwischen tetraploidem Rübsen und Raps (0,37). Raps als Mutterpflanze war bei Hybridisierungen

Tabelle 3.14: Anzahl der Kreuzungen, Schoten und Samen der verschiedenen Kreuzungstypen. n: Raps, r2: diploider Rübsen, r4: tetraploider Rübsen.

♀×♂	n×n	r2×r2	r4×r4	n×r2	r2×n	n×r4	r4×n	r2×r4	r4×r2	gesamt
Kreuzungen	84	16	55	67	67	136	110	66	54	655
Schoten	51	4	28	29	10	56	24	10	5	217
Samen	784	8	66	239	22	68	27	7	3	1224

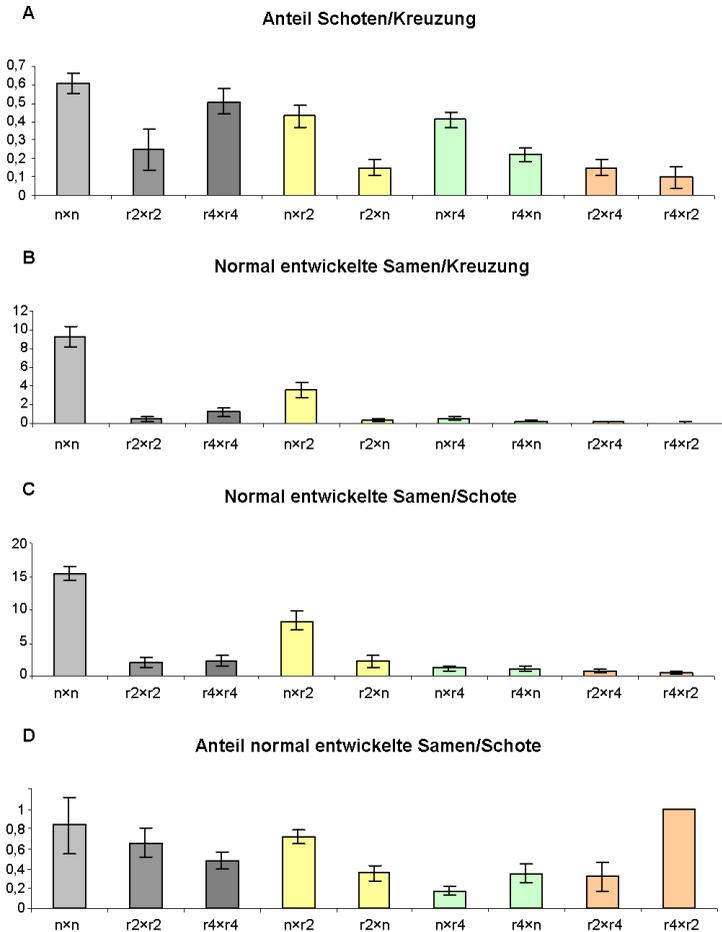


Abbildung 27: Graphische Darstellung Ergebnisse der Kreuzungen (Tabelle 7.9). Angegeben sind die Mittelwerte für die einzelnen Kreuzungstypen und der zugehörige Standardfehler des Mittelwertes. A) Anteil Schoten pro Kreuzung, B) Anzahl normal entwickelter Samen pro Schote, C) Anzahl der normal entwickelten Samen pro Kreuzung und D) Anteil normal entwickelter Samen pro Schote.

erfolgreicher als Raps als Pollendonator. Wenn Raps als Pollendonator fungierte, setzten beide Rübsenzytotypen geringe Schoten- und Samen-zahlen an. Es wurden signifikante reziproke Unterschiede beobachtet, wenn sich die Ploidie der Kreuzungspartner unterschied: Hybridisierungen zwischen diploidem Rübsen und Raps waren erfolgreicher, wenn Raps als Mutterpflanze fungierte (3,57 vs. 0,33 Samen pro Kreuzung). Kreuzungen zwischen den beiden Rübsenzytotypen waren in beide Richtungen wenig erfolgreich (0,11 bzw. 0,06 Samen pro Kreuzung) und unterschieden sich nicht signifikant voneinander.

3.11 Freilandversuch mit tetraploiden Rübsen

Im Freiland blühten erste Rübsenpflanzen 126 Tage nach Aussaat. Erste Rapspflanzen blühten 138 Tage nach Aussaat. Die Blühphasen von tetraploidem Rübsen und Raps überschneiden sich somit für etwa drei Wochen (maximal 26 Tage). Bis zum 09.07.2006 (164 Tage nach Aussaat) hatten die zentralen Rübsenpflanzen ihre Blühphase abgeschlossen. Trotz großen Schädlingsbefalls (v.a. *Meligethes aeneus*, dt. Rapsglanzkäfer, *Ceutorhynchus assimilis*, dt. Kohlschotenrüssler, *Dasineura brassicae*, dt. Kohlschotengalmücke) konnten an den meisten Pflanzen Anfang August Schoten mit drei oder mehr Samen geerntet werden (im Mittel 9,0, +/- SD = 6,0 Samen pro Schote, max. 26). Insgesamt wurden 2207 Samen geerntet. Von den 709 ausgesäten Samen keimten 530 (75%) nach 3-14 Tagen (Abbildung 28). Dreizehn Keimlinge starben binnen weniger Tage, sodass 517 Nachkommen für weitere Untersuchungen zur Verfügung standen. Die Anzahl der Nachkommen zwischen den Kreisen variierte zwischen 12 in Kreis G und 51 in Kreis P (Tabelle 7.10 im Anhang H).

3.11.1 Identifizierung und Charakterisierung der Hybride

Um zwischen intra- und interspezifischen Nachkommen differenzieren zu können, wurden morphologische Merkmale, Ploidielevel und molekulare Merkmale untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7.10 (Anhang H) detailliert für die einzelnen Mutterpflanzen aufgeführt.

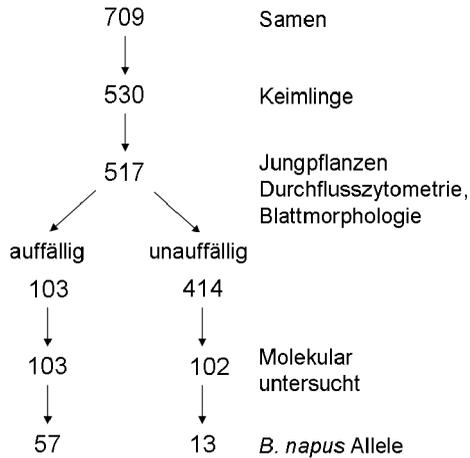


Abbildung 28: Diagramm des Vorgehens und der Ergebnisse der Untersuchung.

3.11.1.1 Morphologie

Blattmorphologische Merkmale der 517 Jungpflanzen wurden im 4-6 Blatt Stadium dokumentiert. Insgesamt fielen 45 der Nachkommen durch ein oder mehrere rapspezifische Merkmale auf: zwölf Pflanzen hatten dunkelgrüne Blätter, 14 Pflanzen hatten keine oder nur sehr wenige Haare auf den Blättern und 28 Pflanzen hatten bewachste Blätter. Alle auffälligen Pflanzen wurden molekular untersucht. Die anderen Nachkommen glichen den tetraploiden Rübsen-Mutterpflanzen. In den Kreisen C, H, M und O wurden keine Nachkommen mit Rapsmerkmalen der Blattmorphologie gefunden, während die Kreise K und P mit zehn bzw. neun Pflanzen die höchste Anzahl an Nachkommen mit Rapsmerkmalen zeigten (Tabelle 7.10 im Anhang H).

3.11.1.2 Durchflusszytometrie

Die relativen DNA-Gehalte wurden im Verhältnis zum internen Standard *P. sativum* (=1s) gemessen. Raps (AACC) hat einen relativen DNA-Gehalt von 0,314s (+/- SD = 0,006s, Tabelle 3.15). Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Rapsorten gefunden werden ($P = 0,295$). Tetraploider Rübsen hat einen relativen DNA-Gehalt von 0,266s

Tabelle 3.15: Relative DNA-Gehalte der verwendeten Raps- und tetraploiden Rübsensorten. Interner Standard: *P. sativum* (=1s).

Art	Sorte	N	Mittel	+/- SD	Min.	Max.
<i>B. napus</i>	Smart	20	0,315s	0,005s	0,306s	0,328s
	Talent	20	0,313s	0,007s	0,299s	0,324s
	<i>Gesamt</i>	40	0,314s	0,006s	0,299s	0,328s
<i>B. rapa</i>	Buko	20	0,267s	0,007s	0,256s	0,280s
	Perko	20	0,265s	0,006s	0,254s	0,276s
	<i>Gesamt</i>	40	0,266s	0,006s	0,254s	0,280s

(+/- SD = 0,006s), ohne signifikante Unterschiede zwischen den beiden Sorten (P=0,507). Raps und tetraploider Rübsen lassen sich klar durch ihren relativen DNA-Gehalt voneinander trennen (P<0,001). Der geringste bei tetraploidem Rübsen gemessene Wert (0,254s) und der höchste Wert (0,280s) wurden als Spanne für tetraploiden Rübsen verwendet.

Eine Fremdbestäubung und erfolgreiche Befruchtung des selbstinkompatiblen Rübsens durch einen Rübsen eines benachbarten Kreises führt zu intraspezifischen Rübsen-Nachkommen. Wird jedoch eine zentrale Rübsenpflanze durch den umgebenden Raps bestäubt und es entwickelt sich ein Nachkomme, ist dieser hybridogenen, interspezifischen Ursprungs. In diesem Fall und wenn beide Arten normale, reduzierte Gameten beisteuern, wird der resultierende Hybrid wie die Eltern tetraploid sein und eine Genomzusammensetzung von AAAC (2n=39) aufweisen. Ein Erwartungswert für diesen Hybriden lässt sich aus den gemessenen Mittelwerten für die Elternarten abschätzen:

$$\frac{1}{2} B. rapa_{AAAA} + \frac{1}{2} B. napus_{AACC} = \text{Hybrid}_{AAAC} = \frac{1}{2} * 0,314s + \frac{1}{2} * 0,266s = 0,290s$$

Erwartungswerte für alle potenziellen Nachkommen aus reduzierten und unreduzierten Gameten der Elternarten sind in Tabelle 3.16 und Abbildung 29 angegeben.

Die 517 untersuchten F₁-Nachkommen zeigten eine weite Spanne an relativen DNA-Gehalten zwischen 0,239s - 0,464s (Abbildung 29 und Abbildung 30). Die Mehrheit von 433 Individuen (83,8%) zeigte relative

DNA-Gehalte innerhalb der für tetraploiden Rübren gemessenen Spanne (zwischen 0.254s und 0.280s). Insgesamt zeigten 84 Pflanzen von tetraploidem Rübren abweichende Werte und wurden in die molekularen Untersuchungen aufgenommen. Die Anzahl der Nachkommen mit von tetraploiden Rübren abweichenden relativen DNA-Gehalten variierte zwischen den Kreisen. Während in Kreis M kein Nachkomme einen auffälligen relativen DNA-Gehalt zeigte, wurden in Kreis K 18 auffälligen Nachkommen gefunden (Tabelle 7.10 im Anhang H). Zusammen genommen hatten 23 kleinere Werte als tetraploider Rübren, 61 zeigten größere Werte als für eine intraspezifische Kreuzung reduzierter Gameten erwartet worden waren (Abbildung 30). Vier Pflanzen hatten den relativen DNA-Gehalt von Hexaploiden.

Tabelle 3.16: Erwartungswerte des relativen DNA Gehaltes für Nachkommen unterschiedlicher Ploidiestufen aus reduzierten und unreduzierten Gameten der Elternarten. Interner Standard *P. sativum* =1s.

Mütterlicher Gamet	Väterlicher Gamet	Resultierende Genomkombination	Ploidielevel	Erwartungswerte des mittlereren relativen DNA Gehaltes	+/- SD	Spanne Mittel +/- SD
				Interspezifische Hybride		
tetraploider <i>B. rapa</i>	Raps					
AA	AC	AAAC	4x	0,290s	0,006s	0,284s-0,296s
AA	AACC	AAAACC	6x	0,447s	0,009s	0,438s-0,456s
AAAA	AC	AAAAAC	6x	0,423s	0,009s	0,414s-0,432s
AAAA	AACC	AAAAAACC	8x	0,580s	0,012s	0,568s-0,592s
				Intraspezifische Nachkommen		
tetraploider <i>B. rapa</i>	tetraploider <i>B. rapa</i>					
AA	AA	AAAA	4x	0,266s	0,006s	0,260s-0,272s
AA	AAAA	AAAAAA	6x	0,399s	0,010s	0,389s-0,409s
AAAA	AA	AAAAAA	6x	0,399s	0,010s	0,389s-0,409s
AAAA	AAAA	AAAAA AAA	8x	0,532s	0,013s	0,519s-0,545s

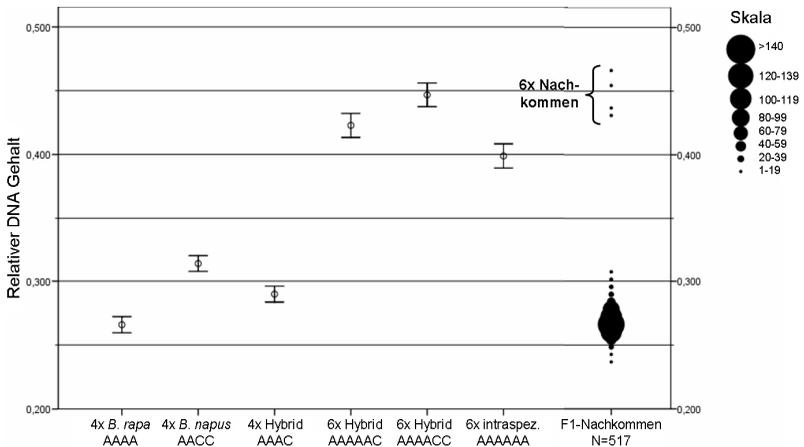


Abbildung 29: Beobachtete relative DNA Gehalte für tetraploiden Rübsen und Raps (Mittelwerte +/- Standardabweichung), Erwartungswerte für verschiedene Hybride der beiden Arten und intraspezifische Rübsen-Nachkommen aus reduzierten und unreduzierten Gameten (Mittelwerte +/- Standardabweichung), sowie Verteilung der relativen DNA-Gehalte der 517 F₁-Nachkommen, unter denen sich 4 hexaploide Pflanzen befinden. Die Punktgröße gibt die Anzahl der Individuen pro Größenklasse an (Aufteilung der Nachkommen in 51 Klassen). Interner Standard: *P. sativum* =1s.

Relative DNA-Gehalte der F1 Nachkommen

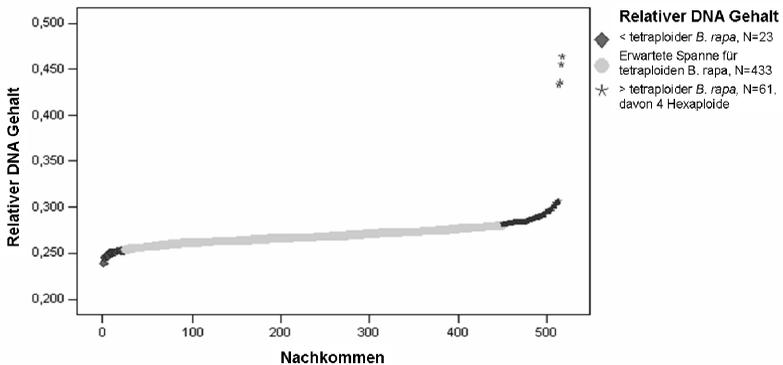


Abbildung 30: Spanne der relative DNA-Gehalte der Nachkommenschaft von tetraploiden Rübsen (517 Pflanzen), Nachkommen innerhalb der Spanne von tetraploiden *B. rapa* in hellgrau markiert (N=433), davon abweichende Nachkommen in schwarz (N=84). Interner Standard *P. sativum* =1s.

3.11.1.3 Mikrosatelliten-Untersuchungen

In einem ersten Schritt wurden 26 Individuen der beiden Rapsorten und 24 Individuen der beiden Rübsensorten analysiert, um artspezifische Rapsmarker zu identifizieren. Fünfundzwanzig Allele wurden detektiert, die ausschließlich in den untersuchten Rapsorten und nicht im tetraploiden Rübsen vorkamen (Na12E06a: 6 Rapsallele, Na12C08:11 and, Na12E01: 8).

Von den Nachkommen zeigten 103 Pflanzen morphologische Rapsmerkmale (45) und/oder von tetraploidem Rübsen abweichende relative DNA-Gehalte (84). Diese wurden in die molekularen Untersuchungen aufgenommen. Weitere 102 zufällig ausgewählte Pflanzen aus den 414 verbleibenden Nachkommen ohne Auffälligkeiten wurden ebenfalls untersucht. Somit wurden insgesamt 205 Nachkommen untersucht (Abbildung 28).

Siebzig Hybride konnten unter den 205 untersuchten Nachkommen aufgrund des Vorhandenseins von Rapsallelen nachgewiesen werden (Abbildung 28 und Abbildung 31). Zwischen einem und sechs Allelen waren pro Hybrid vorhanden. Zwischen den Kreisen variierte die Zahl der Nachkommen mit Rapsallelen. In den Kreisen H, M, N und O konnten keine Nachkommen mit Rapsallelen gefunden werden, während in den Kreisen P und K 18 bzw. 19 Pflanzen molekulare Rapsmarker zeigten (Tabelle 7.10 im Anhang H). Auch unter den 102 zufällig ausgewählten unauffälligen Pflanzen konnten 13 Hybride identifiziert werden (12,7%, Abbildung 31). Rapsallele zusammen mit morphologischen Rapsmerkmalen konnten in 31 Pflanzen gefunden werden (Abbildung 31). Von den 84 Pflanzen mit relativen DNA-Gehalten außerhalb der Spanne von tetraploiden Rübsen hatten 50 Rapsallele (Abbildung 31).

Fünfunddreißig Nachkommen zeigten relative DNA-Gehalte innerhalb des Mittelwertes \pm SD des tetraploiden AAAC Hybriden. Von diesen wiesen 27 auch Rapsallele auf. In drei der vier Hexaploiden konnten Rapsallele detektiert werden.

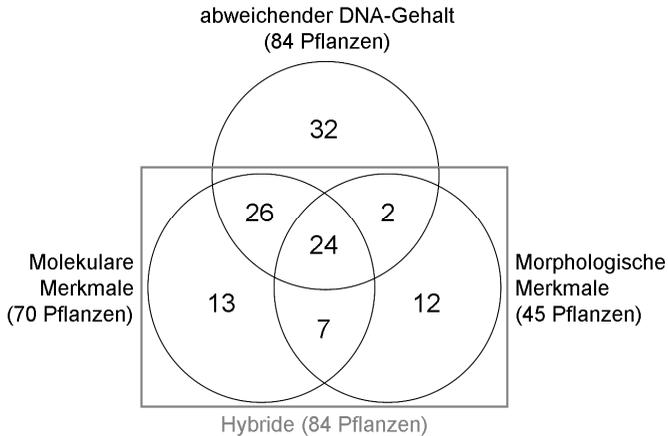


Abbildung 31: Anzahl der Nachkommen mit morphologischen Rapsmerkmalen, Rapsallelen in den Mikrosatellitenanalysen und von tetraploidem Rübsen abweichenden relativen DNA Gehalten. Zur Abschätzung einer Hybridisierungsrate wurden die Ergebnisse der morphologischen und molekularen Untersuchungen kombiniert (84 Pflanzen, grauer Kasten).

3.11.1.4 Pollenfertilität der Hybride

Die Hälfte der 70 Hybride (mit Rapsallelen in den Mikrosatellitenuntersuchungen) wurden hinsichtlich ihrer Pollenfertilität untersucht. Alle 35 zeigten zahlreiche färbare Pollenkörner (Abbildung 32). Die Pollenfertilität der Hybride lag im Mittel bei 82,5% (+/- SD = 12,0%) und reichte von 43,8% bis zu 98,8% (Tabelle 3.17). Die Pollenviabilität der Elternarten lag für den tetraploiden Rübsen im Mittel bei 97,6% (+/- SD = 2,1%, Tabelle 3.17) und für Raps im Mittel bei 97,7% (+/- SD = 2,1%). Damit ist die Pollenfertilität der Elternarten signifikant höher als die der Hybriden ($P < 0,001$). Dennoch lag die Pollenfertilität von neun der 35 Hybriden in derselben Höhe wie die von Raps und tetraploidem Rübsen (über 95%), 20 von 35 besitzen Pollenfertilitäten über 80%. Unter den hexaploiden Nachkommen wurde eine hohe mittlere Pollenfertilität beobachtet (94,3% +/- SD = 3,6%, zwischen 90,3% und 97,2%).

Tabelle 3.17: Pollenfertilität von Raps, tetraploidem Rübsen und den Hybriden (mit Rapsallelen) aus dem Freilandversuch.

Art	N	Mittel [%]	SD [%]	Maximum [%]	Minimum [%]
Raps	5	97,7	2,1	99,8	94,8
Rübsen 4x	5	97,6	2,1	99,9	95,3
Hybride	35	82,5	12,0	98,8	43,8

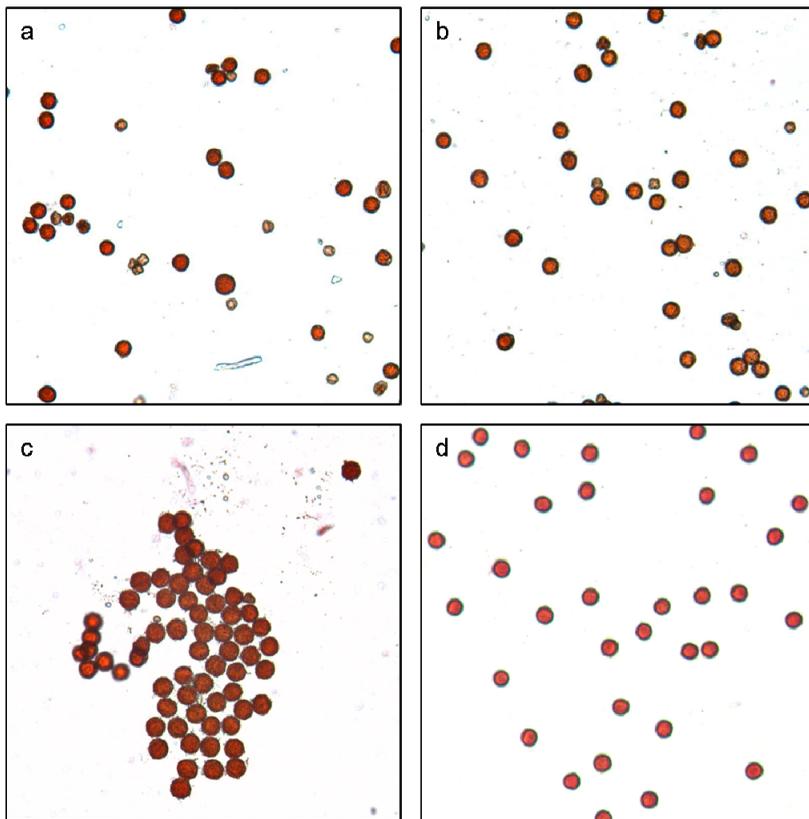


Abbildung 32 a-d: Pollenfärbung mit Karminessigsäure von Hybriden und tetraploidem Rübsen. a: Hybrid Ko02I, FC: AAAC-Hybrid, Morphologie: Blätter bewachst, SSR: mit Rapsallelen, Pollenfertilität: 62%. b: Hybrid Jo01III, FC: AAAC-Hybrid, Morphologie: Blätter bewachst, SSR: mit Rapsallelen, Pollenfertilität: 81%. c: Hybrid Pp14I, FC: hexaploid, Morphologie: juvenile Blätter mit ausschließlich Rapsmerkmalen, SSR: mit Rapsallelen, Pollenfertilität: 97%. d: tetraploider Rübsen (Sorte Perko), Pollenfertilität: 98%

4 Diskussion

Das Ziel der Arbeit bestand darin, für den Raum Osnabrück (Teil 1) das Überdauerungspotenzial verwilderter Rapspopulationen und ihre genetische Variabilität, Teil 2) das Auskreuzungspotenzial von Raps in nahe Verwandte und dabei im Speziellen (Teil 3) das Auskreuzungspotenzial von Raps und tetraploiden Rübsen zu untersuchen.

Die folgende Diskussion gliedert sich in die Methodendiskussion und anschließend in die Diskussion der Ergebnisse der drei Versuchsteile in Bezug auf die Ausgangsfragen (Kapitel 1.4). In einem abschließenden Kapitel (Teil 4) sollen die Ergebnisse der vorliegenden Studie in den umfassenderen Kontext von Genfluss zwischen Kulturpflanzen und wilden Verwandten gestellt werden. Die möglichen evolutionären Folgen von Hybridisierungen sollen beleuchtet und abschließend hinsichtlich des möglichen Anbaus von transgenem Raps diskutiert werden.

Methodendiskussion

4.1 Methode: Kartierungen im Raum Osnabrück

Die Kartierung der *Brassica*-Populationen erfolgte im ersten Jahr (2004) mehr oder weniger zufällig vor allem entlang von Verkehrswegen zwischen April und Juli. Nah verwandte, potenzielle Kreuzungspartner von Raps wurden zumeist an Fundorten kartiert, an denen auch Raps gefunden wurde, und durch Zufallsbeobachtungen ergänzt. Die Blütezeiten wurden im Rahmen der Kartierungen nur zeitlich punktuell aufgenommen. Eine flächendeckende und dauerhafte Kartierung konnte aufgrund des damit verbundenen personellen und zeitlichen Aufwandes nicht durchgeführt werden. In den folgenden Jahren wurden vermehrt Mischbestände verschiedener Arten hinzugenommen, sodass reine Rapspopulationen ab 2005 im Verhältnis der Arten unterrepräsentiert sind. Für das Untersuchungsgebiet ist es deshalb nicht möglich, die Häufigkeit von *Brassica*-Populationen oder einzelner Arten bzw. die Verteilung im Bezug auf Rapsanbaugebiete quantitativ zu bewerten. Im Großraum Bremen konnte außerhalb der Anbaugebiete etwa eine verwilderte Rapspopulation pro Quadratkilometer nachgewiesen werden (Menzel 2006).

Da insgesamt punktuell kartiert wurde, kann keine Aussage darüber gemacht werden, wie sich die Populationen im Einzelnen über den Jahresverlauf entwickeln und wann einzelne Populationen oder Flächen von Störungen betroffen sind. Viele Populationen wurden im Jahresverlauf z.B. durch Pflegemaßnahmen zerstört. Wenn solche Störungen nach der Blüte stattfinden, können die Populationen zumindest als Pollenquellen dienen. Viele Pflanzen treiben nach Verletzungen erneut aus, blühen und fruchten. Oftmals finden Pflegemaßnahmen während der Samenreife statt (z.B. Mähen der Straßenrandstreifen). Populationen, die bei Begutachtung der Samenreife fehlten, könnten in einigen Fällen trotzdem einen Samenbeitrag geleistet haben, wenn die Störung ausreichend spät erfolgte.

4.2 Methode: Durchflusszytometrie

Die Durchflusszytometrie ist eine günstige und schnelle Methode, um relative DNA-Gehalte zu messen. Die Messdaten sind gut reproduzierbar. Durchflusszytometrie wurde in zahlreichen Studien erfolgreich angewendet, um den Ploidiegrad in der Gattung *Brassica* zu ermitteln (Warwick et al. 2003, Allainguillaume et al. 2006, Warwick et al. 2008).

Die Methode beruht auf einer Fluoreszenzfärbung der DNA. In der vorliegenden Studie wurde der Farbstoff DAPI verwendet, welcher bevorzugt an AT-reiche Regionen von doppelsträngiger DNA bindet. Aufgrund der Basenpräferenz des Farbstoffes sind DAPI-Messungen weniger geeignet als interkalierende Farbstoffe (Ethidiumbromid, PI), um absolute DNA-Gehalte mittels Durchflusszytometrie zu bestimmen (Doležel et al. 1998). Deshalb wurden in der vorliegenden Studie ausschließlich relative DNA-Gehalte im Verhältnis zum internen Standard *Pisum sativum* miteinander verglichen. Die Genomgröße innerhalb der Art *P. sativum* ist konstant (Greilhuber & Eber 1994, Baranyi & Greilhuber 1996). Erbse wird als Standard für durchflusszytometrische Messungen empfohlen (Marie & Brown 1993, Bennett & Leitch 1997, Doležel et al. 1998, Johnston et al. 1999). Unterschiedliche absolute Werte für die Genomgröße von Erbse (z.B. $2C=8,37$ pg nach Marie & Brown 1993, $8,75$ pg nach Doležel et al. 1998, $9,56$ pg nach Johnston et al. 1999, bzw. $9,75$ pg nach Bennett & Leitch 2004), beruhen auf unterschiedlichen Messmethoden und sind stark von der Qualität der Kalibrierung des primären Standards abhängig.

4.3 Methode: Mikrosatelliten-Untersuchungen

In den letzten Jahrzehnten fanden in ökologischen und evolutionären Fragestellungen auf Populations- oder Artniveau zunehmend molekulare Fingerprints wie zum Beispiel AFLPs (eng. amplified fragment length polymorphisms), Mikrosatelliten (SSR, engl. simple sequence repeats), ISSR (engl. inter sequeze simple repeats) und andere Methoden Verwendung. Im Kontext der invasiven Pflanzenarten konnten mit Hilfe molekularer Marker Quellen (Herkünfte) fremder Arten identifiziert und intraspezifischer und interspezifischer Genfluss zwischen heimischen und fremden Taxa analysiert werden (Beispiele aus den Brassicaceae: Bleeker and Hurka 2001: *Rorippa*, Bleeker et al. 2008: *Cardamine*, Durka et al. 2005: *Alliaria*).

In der Gattung *Brassica* stehen bei der Anwendung molekularer Marker verschiedene Themenkomplexe im Vordergrund: Raps und Rübsen dienen als Modellarten für die aktuelle Kopplungsgruppenanalysen, basierend auf molekularen Fingerprint Methoden (Piquemal et al. 2005, Choi et al. 2007, Suabe et al. 2008) sowie zahlreiche DNA-Sequenzen in Datenbanken verfügbar sind (brassica.info). Zurzeit wird das A-Genom von *B. rapa* als erstes der Gattung komplett sequenziert (Multinational *Brassica* Genome Project). In der Züchtungsforschung finden molekulare Marker Anwendung, um funktionelle Gene zu identifizieren und Sorten und Varietäten zu charakterisieren (z.B. Rudolph 2001, Tommasini et al. 2003). Jørgensen et al. (2007) nutzten ISSR Marker, um das Vorhandensein von Verunreinigungen in zertifiziertem Saatgut nachzuweisen. Die Untersuchung von intra- und interspezifischem Genfluss ist in der Sicherheitsforschung an gentechnisch verändertem Raps ein wichtiges Themengebiet. In Studien mit gentechnisch veränderten Sorten werden in der Regel die gentechnischen Veränderungen als Markergene verwendet. Zusätzlich können auch andere Marker Anwendung finden. In Studien, in denen nicht mit GVOs (gentechnisch veränderten Organismen) gearbeitet wird, spielen molekulare Fingerprint-Methoden zum Nachweis von Genfluss und Hybridisierung eine entscheidende Rolle. SSRs und ISSRs wurden verwendet, um Ausfallraps, Volunäre nach dem Anbau, Saatgut aus dem Bodensamenspeicher und verwilderte Populationen Ursprungsorten zuzuordnen (Pascher et al. 2001, Bond et al. 2004, Jørgensen et al. 2007, Dietz-Pfeilstetter et al. 2006).

Hybridisierungen und Introgression zwischen Raps und Rübsen wurden mit verschiedenen molekularen Markern in Kombination mit Durchflusszytometrie analysiert und nachgewiesen (Allainguillaume et al. 2006, Warwick et al. 2003, Warwick et al. 2008). Ford et al. (2006) wiesen mit SSRs Introgression zwischen Raps und wildem Kohl nach. Auch zur Untersuchung von Hybridisierungen zwischen Raps und *Raphanus* wurden Fingerprint-Methoden erfolgreich angewendet (Warwick et al. 2003, Ammitzbøll & Jørgensen 2006). In der vorliegenden Studie wurden Mikrosatelliten als molekulare Marker verwendet, um intraspezifischen Genfluss in Unkrautrasppopulationen zu analysieren und Hybride zwischen Raps und Rübsen zu detektieren.

Mikrosatellitensequenzen kommen sowohl in Prokaryoten als auch in Eukaryoten vor und sind zahlreich im Genom und vor allem in nicht kodierenden Regionen vorhanden (Jarne & Lagoda 1996, Li et al. 2002). Sie bestehen aus kurzen Kern-Einheiten mit 1-6 bp, die sich mehrfach tandemartig wiederholen. Kerncodierte Mikrosatelliten werden biparental vererbt und besitzen ein bis wenige Loci mit vielen Allelen pro Locus. Aufgrund ihrer repetitiven Struktur ist eine Verlängerung oder Verkürzung dieser Sequenzen leicht möglich (im Vergleich zu Punktmutationen in proteinkodierenden Genen hohe Mutationsraten von 10^{-2} - 10^{-6} Ereignisse pro Locus und Generation, Schlötterer 2000, Li et al. 2002). Die hohe Mutationsrate beruht auf zwei Mechanismen. Einerseits können Mutationen durch ungleiches Crossing-over zwischen ähnlichen Sequenzen zustande kommen, andererseits kann es durch Versetzungsfehlpaarung (engl. slipped strand mispairing, Verrutschen bzw. Schlaufenbildung) eines mikrosatellitenhaltigen DNA-Stranges während der Replikation zur Verlängerung oder Verkürzung des Motivs um eine oder mehrere Einheiten kommen. Weber und May (1989) sowie Litt und Luty (1989) entdeckten etwa zeitgleich Polymorphismen in Mikrosatelliten und schlugen diese als molekulare Marker vor. Mikrosatelliten sind in Säugetieren zu Hunderttausenden vorhanden und hochgradig polymorph. Sie eignen sich deshalb sowohl als Marker zur Genkartierung als auch für Populationsuntersuchungen (Lagercrantz et al. 1993). In Pflanzen sind sie etwa 5-fach weniger häufig, aber ebenfalls hochpolymorph. Das häufigste Wiederholungsmotiv bei Pflanzen ist $(A)_n$, dann folgen $(AT)_n$ und $(GA)_n$. Dagegen

findet sich in Säugern am häufigsten das Dinukleotidmotiv (GT)_n, welches bei Pflanzen relativ selten ist (Lagercrantz et al. 1993, Jarne & Lagoda 1996, Schlötterer 2000). Auch wenn Mikrosatelliten in der Regel als neutrale Marker betrachtet werden, scheinen einige Einfluss auf die Chromatinorganisation zu haben oder an der Regulation von DNA Stoffwechselprozessen und Genenaktivitäten beteiligt zu sein (zusammengefasst in Li et al. 2002).

In *B. rapa* wurde das Vorkommen von Mikrosatelliten auf einen SSR pro 4,8 kb geschätzt und ist nicht rein zufällig verteilt (Hong et al. 2006, Hong et al. 2007). In nicht protein-kodierenden Bereichen sind SSRs häufiger als in kodierenden Regionen. In *B. rapa* wurden Mikrosatelliten gehäuft in 5' flankierenden Regionen von Genen und in genreichen Regionen gefunden. Trinucleotide sind insgesamt die häufigste Form (34%) und dominieren vor allem in Exons. Nach reinen (A)_n-Motiven (28,8%) sind (GA)_n (15,4%) und (AT)_n- (13,7%) die häufigsten Wiederholungsmotive in Rübsen. (GA)_n Motive wurden in der vorliegenden Studie verwendet. Sie treten vermehrt in 5'-flankierenden Genregionen auf (Hong et al. 2007). Für *Brassica* waren zunächst wenige Mikrosatellitenloci bekannt und zugänglich (Uzunova & Ecke 1999, Vargese et al. 2000, Pascher et al. 2001, Lowe et al. 2002), mittlerweile ist ihre Zahl vor allem durch die Veröffentlichung von Lowe et al. (2003) in die Hunderte frei verfügbarer Primersequenzen gestiegen (brassica.info).

Aufgrund des Mutationsmechanismus von Mikrosatelliten unterscheiden sich die meisten amplifizierten Fragmente in ihrer Länge genau um ein Vielfaches des Mikrosatellitenmotives. Längenunterschiede können aber auch durch Mutationen in den flankierenden Bereichen zustande kommen und zu abweichenden Fragmentgrößen führen. Sequenzierungen sind die einzige Möglichkeit, die Herkunft einer Längenänderung zu ergründen. Trotz dieser Einschränkung wurde in den Untersuchungen angenommen, dass Fragmente gleicher Länge gemeinsamen Ursprungs (homolog) sind. Da Fragmentlängen beobachtet wurden, die von einem Vielfachen des Mikrosatellitenmotivs abweichen, konnte nicht mit dem speziell für Mikrosatelliten entwickelten Mutationsmodell gearbeitet werden.

Die ausgewählten Mikrosatellitenprimerpaare wurden aus Raps isoliert (Lowe et al. 2003) und für die Untersuchung von Rapsorten und Unkrautraps von Pascher et al. (2001) verwendet. Das Set aus vier Primerpaaren amplifizierte zuverlässig polymorphe Fragmente in *B. napus* unter identischen Reaktionsbedingungen, die sich (trotz Stotterbanden in Na12E01) gut auswerten ließen. Die Fragmentgrößen stimmten mit den Literaturwerten (Pascher et al. 2001, Lowe et al. 2003) gut überein. Nur sehr wenige Nullallele (fehlende Amplifikate) konnten in vereinzelt Rapsindividuen aufgedeckt werden (max. in 3,2% der untersuchten Individuen, Tabelle 4.1). Nullallele waren nicht in den Rapsorten präsent, traten aber in einigen verwilderten Rapspopulationen auf. Die Mikrosatellitenloci verhielten sich in Raps nicht einheitlich. Während einige Sorten zwei Fragmente zeigten, wurden in anderen multiple Fragmente amplifiziert (vergl. auch Bond et al. 2004, Rudolph 2001, Pascher et al. 2001). In vergleichbaren Studien wurden Nullallele in ca. 10% (Bond et al. 2004) der Primerpaare gefunden, von Rudolph (2001) sogar in 34% der Primerpaare bzw. in 52% der polymorphen Primerpaare. Während Rudolph (2001) nur bei 15% der Primerpaare mehr als zwei Allele beobachtete, waren multiple Bandenmuster bei Bond et al. (2004) häufiger (ca. 26% der Primerpaare), und Plieske und Struss (2001) fanden sogar durchschnittlich vier Allele pro Mikrosatellitenprimerpaar in Raps. Für zwei der Primerpaare (Na12C08, Na12C06) passen die Fragmentzahlen mit bis zu vier Allelen pro Individuum nicht zu der Angabe, dass die Primerpaare nur einen Locus amplifizieren würden (Lowe et al. 2003). Werden mehr als zwei Allele amplifiziert, muss mehr als ein Locus vorhanden sein. In Fällen in denen Primerpaare mehrere Loci amplifizieren ist es schwierig zuzuordnen, welche Bande in wie vielen Kopien vorliegt. Dieses ist ein typisches Problem in polyploiden Arten. Raps besitzt sowohl weitreichende Homologien zwischen dem A- und C-Genom, als auch Duplikationen innerhalb der Genome, die multiple Fragmente bedingen können. Allelfrequenzen können allerdings nur berechnet werden, wenn eine genaue Zuordnung der Allele zu einem Locus (kodominante Auswertung) möglich ist (Bond et al. 2004). Mehrere Tatsachen machten eine kodominante Auswertung unmöglich: die vorliegenden Nullallelen, die allotetraploide Struktur des *B. napus* Genom mit in weiten Teilen homologen A- und C-Genomen, Probleme bei der Zuordnung der Banden zu den einzelnen Loci (Na12E06a, Na12E01) und

die Tatsache, dass zum Teil mehr Allele amplifiziert wurden, als für einen Locus erwartet wurden.

Eine Auswertung als Allelphänotypen (Becher et al. 2000) vermeidet Fehlansagen, die durch eine falsche Zuordnung von Allelen zu Genotypen entstehen könnten. Die Auswertung erfolgte deshalb, wie auch in anderen Studien von Mikrosatelliten in Raps, analog zu dominanten Markern (Pascher et al. 2001, Bond et al. 2004). Es wurden nur solche Methoden verwendet, die für dominante Marker wie AFLPs legitim sind und nicht darauf basieren, dass sich die Loci im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht befinden.

Alle vier Primerpaare amplifizieren vergleichsweise allelreiche Mikrosatellitenloci (siehe Tabelle 4.1, vergleiche Rudolph 2001: polymorphe Loci mit durchschnittlich nur 3,7, maximal 11 Allele). In Raps lagen die beobachteten Allelzahlen für drei der Primerpaare höher und für einen niedriger als die von Pascher et al. (2001) beobachteten Zahlen (Tabelle 4.1). Viele der gefundenen Allele kamen nur in den verwilderten Populationen vor und waren dort nur in wenigen Individuen zu finden. Diese seltenen Allele erschweren die Zuordnung zu Ausgangssorten, da ihr Ursprung nicht bekannt ist.

In dieser Studie wurde mit einem sehr kleinen Markersset, bestehend aus vier Mikrosatellitenprimerpaaren, welche sechs Loci im allotetraploiden Raps-genom amplifizieren, gearbeitet. Trotzdem waren diese ausreichend, um generelle Aussagen über die Variabilität von Rapsorten und verwilderten Rapspopulationen zu treffen, sieben *B. napus* Sorten voneinander zu differenzieren und eine Zuordnung verwilderter Individuen zu diesen Sorten zu erreichen. Mit einem etwas größeren (7 Primerpaare), aber in weiten Teilen übereinstimmenden Markersset konnten Pascher et al. (2001) in dominanter Auswertung 19 Kultursorten voneinander trennen. Bei Pascher et al. (2001) gruppieren nur wenige Individuen aus verwilderten Rapspopulationen mit den Sorten, der Großteil bildete eine separate Gruppe, die sich nicht zu Ausgangssorten zurückführen ließ. Diese verwilderten Populationen zeigten zusätzliche Allele (Pascher et al. 2001), wie sie auch bei den im Osnabrücker Land gesammelten verwilderten Rapspopulationen beobachtet wurden.

Für die Analyse der Verwandtschaftsverhältnisse von Rübsen waren die verwendeten Primerpaaren nicht geeignet. Zwei Primerpaare (Na12C06, Na12E01) zeigten in 30% bzw. 78% Rübsen-Individuen Nullallele, die eine kodominante Auswertung verboten. Die beiden anderen Primerpaare amplifizierten gar keine Allele in Rübsen (Na12E06a, Na12C08), obwohl für ersteren ein A-genomischer Locus in Raps bekannt ist (Lowe et al. 2003). Diese Beobachtung steht im Gegensatz zu den Untersuchungen von Pascher et al. (2001), die zumindest schwache Amplifikate in einigen der Rübsenpflanzen erfassten. Auch für Kohl wichen die Ergebnisse von denen von Pascher et al. (2001) ab, welche für Na12C08 und Na12C06 keine Allele in Kohl nachweisen konnten. In den vorliegenden Untersuchungen amplifizierte Na12C08 16 Allele und Na12C06 ein Allel in den untersuchten Kohlsorten. Die dokumentierten Amplifikate in Kohl für Na12C08 passen auch gut zur C-genomischen Lokalisation des Mikrosatelliten in Raps (Lowe et al. 2003). Allerdings konnten in dieser Studie bis zu vier Allele pro Kohl-individuum nachgewiesen werden, was auf einen duplizierten Locus hindeutet. Auch in einigen Rapspflanzen wurden mehr als zwei Fragmente detektiert, die diese Theorie stützen.

Insgesamt konnten Abweichungen zu den Ergebnissen von Pascher et al. (2001) in der Zahl der Allele pro Individuum und im Vorhandensein von Fragmenten in den untersuchten Arten beobachtet werden. Ein Grund hierfür können die unterschiedlichen PCR-Bedingungen (MgCl₂-Konzentration, DMSO, Annealingtemperatur) sein, die die Spezifität der Primer verändern und damit die Fragmentzahl beeinflussen können, wenn zwei Loci mit nahezu, aber nicht komplett identischen Primerbindesequenzen vorliegen.

Zur Detektion der Introgression von Rapsgenen in Rübsen eigneten sich die Marker zumindest teilweise recht gut, da sie sicher in Raps amplifizierten und so artspezifische Allele für Raps identifiziert werden konnten. Für den Nachweis von Genfluss in die reziproke Richtung waren sie hingegen ungeeignet. In Studien, die die Hybridisierung zwischen zwei Arten untersuchen, sind kleine Markerzahlen durchaus üblich. Ford et al. (2006) verwendeten vier A-genomische Mikrosatelliten, um Introgression von Raps in *B. oleracea* nachzuweisen. Bei der Untersuchung des Genflusses von Raps in tetraploiden Rübsen wäre es allerdings vorteilhaft und einfacher gewesen, reine väterliche Marker (bei Raps als potenzieller Vater am

günstigsten C-genomische Marker) zu verwenden. In diesem Fall hätte die aufwendige Laserdetektion der genauen Fragmentgrößen sogar unterbleiben können und eine Auftrennung auf Agarosegelen hätte ausgereicht, um das Auftreten von Fragmenten in Hybriden nachzuweisen. Die Untersuchungen an tetraploiden Rübsen zeigten zudem, dass es für die genaue Berechnung von Hybridisierungsraten entscheidend ist, die gesamte Variabilität des potenziellen Pollendonors zu erfassen, da ansonsten die Gefahr besteht, dass die Hybridisierungsrate unterschätzt wird. Die verwendeten Loci erwiesen sich als sehr allelreich. Nicht zugeordnete Allele in der Nachkommenschaft von tetraploidem Rübsen deuteten darauf hin, dass die Stichprobe der Referenzpflanzen nicht ausreichend umfangreich gewählt wurde (Kapitel 4.12.1.3). Für den Nachweis von Hybridisierungen eignen sich folglich monomorphe und möglichst homozygote Loci, die nur im väterlichen, nicht aber im mütterlichen Elter amplifizieren, am besten, da sie zu eindeutigen Ergebnissen führen. Neben Mikrosatelliten können auch andere Markersysteme, wie

Tabelle 4.1: Erwartungswerte und Beobachtungen der Mikrosatellitenuntersuchungen. Erw.: erwartet, Beob: beobachtet, #bei kartierten Loci ist die Kopplungsgruppe in Raps und die Distanz auf dieser in Zentimorgan angegeben. ¹ Lowe et al. 2003, ² Pascher et al. 2001.

Name	Loci (kartiert Raps [#] , ¹)	Erw. Größe Raps ^{1/2} [bp]	Beob. Größen Raps, Rübsen, Kohl [bp]	Erw. Allel-zahl in Raps ²	Beob. Allelzahl Raps (N=217) / Rapssorten (N=80)	Beob. Allelzahl Rübsen (2x, 4x, Kohl N=103)	Beob. Allelzahl Rübsen (N=11)	Nullallele Raps/ Rübsen/ Kohl [%]
Na12E06a	2	105/ (9- 64,4; 105-141 15- 41)	101-132	11	14/ 6	0	8	0/ 100/ 0
Na12C08	1	333/ (11- 72,9) 255-348	258-387	19	27/ 13	0	16	0,9/ 100/ 9,1
Na12C06	1	204/ (1- 83,7)206-226	191-240	14	22/ 14	14	1	0,9/ 77,7/ 90,9
Na12E01	2	244/ nicht kartiert 195-230, 232-330	212-315	14 + 27	24/ 16	37	8	3,2/ 30,1/ 9,1
Gesamt	6			85	87	51	33	

SNPs, Chloroplastenmarker, aber auch dominante Fingerprintmethoden solche Merkmale liefern. Auf diesem Wege haben Gammon et al. (2007) mit einem einzigen Mikrosatellitenmarker Hybridnachkommen zwischen *Fallopia japonica* (Mutterpflanze, kein Amplifikat) und *F. sacchalinensis* bzw. *F. ×bohmica* (potenzielle Pollenspender, Amplifikate vorhanden) bestätigen können. Die Einschränkungen in der Auswertung, die durch das verwendete Markersset bedingt waren, zeigen, wie entscheidend eine gute Vorauswahl der Marker hinsichtlich des Polymorphiegrads, der individuellen Variabilität, der genomischen Lokalisation, der Anzahl der Loci und der Amplifikation in den verwendeten Arten ist und dass die Tauglichkeit für jede einzelne Fragestellung neu bewertet werden muss.

Teil 1: Untersuchungen an Unkrautraps

Die Untersuchungen an Unkrautraps zeigen, dass zahlreiche verwilderte Rapspopulationen im Untersuchungsgebiet Raum Osnabrück über mehrere Vegetationsperioden am selben Standort persistieren und somit als Trittsteine für Genfluss dienen können. Zwischen den Individuen verwilderter Populationen bestand eine große Variabilität in phänotypischen Merkmalen wie dem Blühbeginn. Die genetische Variabilität der Unkrautpopulationen war höher als die angebauter Rapsorten und zeigt, dass die Verwilderung und Ausbreitung von Raps außerhalb des Anbaus nicht zwangsläufig mit genetischen Flaschenhals-Effekten (engl. bottleneck effects) verbunden ist. Die entscheidenden Quellen für genetische Variation in Unkrautpopulationen bildeten wiederholte Einschleppungen von Sorten und intraspezifische Hybridisierungen zwischen diesen. Diese Erkenntnisse unterstreichen das evolutionäre Potenzial von Unkrautrapspopulationen und müssen in Verfahren zur Regulierung der Koexistenz von transgenem und konventionellem Raps innerhalb einer Region berücksichtigt werden.

4.4 Ausbreitungs-, Überdauerungspotenzial und Unkrauteigenschaften

4.4.1 Ist Unkrautraps etabliert oder ephemeral?

In natürlichen Habitaten ohne Störungen kommt es mit fortschreitender Sukzession zur Verdrängung von annuellen, primären Kolonisierern (wie *Brassica*), zuerst durch intermediäre und schließlich durch Klimax-Arten. Die konkurrenzschwachen *Brassica*-Arten werden dabei zunächst durch mehrjährige Gräser ersetzt. Einige natürlichen Standorte (Flussufer, Trampelpfade oder Klippen), aber auch semi-natürliche und anthropogene Standorte (z.B. Straßenränder, Brachen, Bahngleise, Agrarhabitate) sind durch regelmäßige Störungen geprägt. Sie bieten Primärbesiedlern ein Umfeld, in dem diese durchgehend präsent sein können. Je nach Störungsintensität und -zeitpunkt können Populationen ephemeral, dauerhaft oder intermittierend auftreten.

Zahlreiche verwilderte Rapspopulationen wurden in Deutschland und anderen Rapsanbaugebieten beobachtet, häufig in Agrarhabitaten wie Feldrändern und Ackerbrachen, sowie Volontäre nach dem Anbau, aber ebenso in seminatürlichen, ruderalen Habitaten wie Straßenrändern, Grünstreifen, Bauland, Neubaugebieten, städtischen Brachen, Bahnlinien und in Hafenbereichen (Pessel et al. 2001, Menzel 2006, Pivard et al. 2008).

Unkrautrapspopulationen sind im Osnabrücker Land häufig aber nicht gleichmäßig in der Landschaft verteilt. Die meisten Populationen wurden entlang linearer Strukturen wie Straßen- und Feldrändern gefunden und verdeutlichen, dass der Hauptausbreitungsmechanismus von Raps Samenverluste während Ernte und Transport ist (Abbildung 33). Durch Untersuchung des Sameneintrages in Autobahntunneln konnten von der Lippe und Kowarik (2007a, 2007b) erst kürzlich die bedeutende Rolle von Fahrzeugen an der Fernausbreitung von invasiven Arten und Kulturpflanzen – darunter Raps – zeigen.

Für die sekundäre Ausbreitung von Rapssamen entlang von Verkehrswegen scheinen Fahrzeuge allerdings eine geringere Bedeutung zu haben (Garnier et al. 2008). Aus ihren Versuchen schlossen Garnier et al. (2008), dass etwa 20% der Samen an Straßenrändern über wenige Meter sekundär ausgebreitet werden, während der Großteil an Ort und Stelle verbleibt.

Ausbreitungsraten für verwilderte Rapspopulationen an Straßenrändern wurden auf 1-4 m pro Jahr geschätzt bzw. auf 4-20 m pro Jahr, wenn einzelne Fernausbreitungsereignissen (durch z.B. das Mähen des Straßenrandes) mit einbezogen wurden.

Das Ausbreitungs- und Überdauerungspotenzial verwilderter Rapspopulationen werden kontrovers diskutiert, sind aber entscheidende Faktoren, um das Evolutionspotenzial und bei transgenem Rapsanbau die Wahrscheinlichkeit der Persistenz von Transgenen außerhalb des Anbaus beurteilen zu können. Ob verwilderte, nicht-transgener Raps-Populationen in Deutschland ephemere oder dauerhaft etabliert sind oder sich gar in Ausbreitung befinden, gilt als unsicher. Dafür ist zu klären, ob verwilderte Populationen hauptsächlich auf Samenverlusten von benachbarten Feldern und unbeabsichtigter Samenverschleppung bei Ernte oder Transport beruhen oder populationseigene Nachkommen bilden. Wegen der engen Verknüpfung von Habitaten und anthropogen gesteuerter Ausbreitung wurden verwilderte Rapspopulationen in der Regel als ephemere gedeutet, wobei wiederholter Sameneinträge den Erhalt von verwilderten Populationen trotz eines erhöhten Aussterbe-Risikos ermöglichen (Crawley & Brown 2004). Für Wisskirchen und Haeupler (1998) und FloraWeb ist Raps ein nicht-etablierter Neophyt, welcher nicht in der Lage ist, dauerhafte Populationen zu etablieren, die unabhängig von solchen Samen-Neueinträgen sind. Entsprechend sei die Relevanz von Unkrauttraps für (Trans-) Genfluss gering (Dietz-Pfeilstetter 2007).

In der Bioflor-Datenbank wird Raps als etablierten Neophyten geführt und an einigen Standorten wurden mehrjährige, beständige Vorkommen, welche regelmäßig Samen bilden, beobachtet (Haeupler et al. 2004, Breckling et al. 2003). Im Ruhrgebiet wurden dauerhaft eingebürgerte Vorkommen dokumentiert, welche in die Nachbarschaft expandieren (Loos et al. 2004). In Niedersachsen wurde beobachtet, dass sich Raps seit 1990 zunehmend entlang von Verkehrswegen ausbreitet (Garve 2007). Außerdem zeigen verschiedene Studien, dass die Dynamiken verwilderter Populationen nicht allein auf Sameneinträgen von außen beruhen, sondern persistente Samenbanken und Nachkommen aus lokaler Samenproduktion wichtige Faktoren für die langfristige Persistenz von verwilderten Populationen spielen können (Pessel et al. 2001, Jørgensen et al. 2007, Pivard et al. 2008).

Eine Voraussetzung für langfristig etablierte, selbsterhaltende Vorkommen von Unkrautraps ist die Bildung einer Diasporenbank, in der populations-eigene Samen überdauern können. Während Rapsamenbanken in Agrarbiotopen eingehend untersucht wurden (siehe Kapitel 4.14.2), gibt es bisher keine wissenschaftlichen Studien von Rapsamenbanken an ruderalen Standorten. Einen indirekten Hinweis auf das Vorhandensein einer Rapsamenbank an einem ruderalen Standort geben die Untersuchungen von Pessel et al. (2001). Basierend auf der Untersuchung chemischer Inhaltsstoffe und Isoenzymen konnte die Überdauerung von 0-Rapsorten in Unkrautrapspopulationen nachgewiesen werden, welche seit mehreren Jahren nicht mehr im Handel verfügbar waren. Einen indirekter Hinweis auf eine solche überdauernde Ruderalraps-Population mit Samenbank im Osnabrücker Raum liefert das wiederholte Auftreten von Individuen mit auffälliger Blütenfarbe in Population 59 (über fünf Jahre, intermittierend, Abbildung 34, Tabelle 7.5 im Anhang E).

Im Osnabrücker Land wurden während des Untersuchungszeitraumes auf 79,5% der Flächen in mindestens zwei Untersuchungsjahren Rapsbestände dokumentiert. Die Wiederfundrate betrug im Mittel 50% mit starken jährlichen Schwankungen. Vergleichbare Studien in Norddeutschland zeigen Wiederfundraten von 41% in einer vierjährigen Untersuchung (Dietz-Pfeilstetter et al. 2006) bzw. 14% im Folgejahr (Menzel 2006). Die hohen Wiederfundraten lassen sich schwer erklären, wenn wiederholte Neueinträge von Samen am identischen Standort als einzige Quelle angenommen werden. Pivard et al. (2008) haben mit Hilfe von statistischen Modellrechnungen (mixed logistic modelling approach) die wahrscheinlichste Quelle verwilderter Rapspopulationen, basierend auf einer vierjährigen Studie in Frankreich, identifiziert. Nach ihren Berechnungen sind 40% der verwilderten Populationen auf persistente Samenbanken als Quelle zurückzuführen, 10% beruhen auf direkten Nachkommen der verwilderten Populationen. In der Studie von Pivard et al. (2008) setzten 15% der Populationen reife Samen an. Im Osnabrücker Land zeigten zwischen 30-48,5% der Populationen eines Jahres reife Samen (Abbildung 33). Dies könnte auf ein höheres Potenzial zur Etablierung selbst erhaltender Populationen, die nicht von Neueintrag von Samen abhängig sind, hindeuten. Die Samen der verwilderten Populationen zeigten im Freiland-

versuch mit Unkrautraps Keimungsraten auf demselben hohen Niveau wie die verwendeten Rapsorten.



Abbildung 33: Persistenz durch Samenbildung gegenüber Ausbreitung durch Transportverlust. Links: Ernte von Schoten einer Rapspopulation in einem Beet am Straßenrand (Pop72). Rechts: (vermutlich) Rapskeimlinge durch (wahrscheinlich) Transportverlust am Straßenrand.



Abbildung 34: Population mit Rapsindividuen mit hellen und dunklen Blüten (Population 59). Hier: Wiederfund 2006 (persistent bis 2008).

4.4.2 Freilandversuch mit Unkrautraps: Unkrautpotenzial und phänotypische Variabilität

Baker (1965) diskutiert zahlreiche Eigenschaften, die zu einem erhöhten Unkrautpotenzial führen können. Hierzu gehören unter anderem ein schnelles Wachstum vom Keimling bis zur generativen Phase, eine hohe Produktion von langlebigen Samen mit diskontinuierlicher Keimung, Windbestäubung oder unspezialisierte Insekten als Bestäuber, Selbstkompatibilität, Nah- und Fernausbreitung, Anpassungen an Umweltstress (phänotypische Plastizität), hohe Toleranz wechselnden Umweltbedingungen gegenüber. Entsprechend sind typische Ackerunkräuter krautig, haben eine kurze Generationszeit, werden durch abiotische Vektoren ausgebreitet (Sakai et al. 2001). Pflanzen mit vielen dieser Eigenschaften sind wahrscheinlicher als Unkräuter erfolgreich, als solche mit wenigen. Raps hat im Vergleich zu anderen Kulturpflanzen wie Getreidearten eine kurze und unvollständige Domestikation von wenigen hundert Jahren erfahren und besitzt viele der Unkrautmerkmale seiner wilden Vorfahren, die ihn zu einem primären Kolonisierer offener Standorte machen (Breckling et al. 2003, Warwick & Stewart 2005, Hall et al. 2005).

Typische Unkrautmerkmale bei Raps sind die kleine Samen (mit sekundärer Dormanz), welche leicht (anthropogen) ausgebreitet werden, ein schnelles Wachstum, die hohe phänotypische Plastizität zur Anpassung an wechselnde Umweltbedingungen, die kurze Generationsdauer, die Fähigkeit zur Selbstbestäubung (gemischtes Befruchtungssystem), Anpassungen an unspezialisierte Bestäuber, eine hohe Reproduktionsfähigkeit und sich leicht öffnende Früchte, die zu großen Ernteverlusten beim Anbau und zum Erscheinen von Volontären (Ausfallraps) nach dem Anbau führen (Gressel 2005, Hall et al. 2005). Dennoch gingen im Laufe der Züchtungsgeschichte einige Merkmale seiner wilden Vorfahren verloren, darunter die Produktion von Glucosinolaten als Fraßschutz und die Bildung primär dormanter Samen, die zu einer gestaffelten Keimung und der Etablierung einer sehr langlebigen Samenbank führen (Rapssamenbank allerdings durch sekundäre Dormanz möglich). Durch die Züchtung wurde der Ertrag erhöht und die Inhaltsstoffe verändert (00-Raps fehlen neben Glucosinolaten auch Erucasäure). Züchterisch erwünscht ist die Vereinheitlichung der Bestände, so zum Beispiel ein synchrones Auflaufen, Blühen, Fruchten, Reifen und

eine einheitliche Wuchshöhe zur maschinellen Bearbeitung. Rapssorten müssen möglichst widerstandsfähig gegen Schäden (z.B. Winter- und Lagerungsschäden) und Krankheiten sein und auch unter nicht optimalen Bedingungen sichere Erträge liefern (durch hohe Regenerationsfähigkeit, Standfestigkeit, Winterhärte etc.) Entsprechend werden für jede Region optimal an die herrschenden Bedingungen (Boden, Klima usw.) angepasste Sorten gezüchtet und angeboten (Hall et al. 2005).

Im vergleichenden Freiland-Experiment ist es möglich, die Erblichkeit phänotypischer Merkmale gegen die Reaktionsnorm einzelner Ökotypen abzugrenzen. In diesem Fall wurde die Variation von phänotypischen Merkmalen (Blühbeginn) in Unkrautrapspopulationen mit der aktuell angebaute Rapssorten verglichen.

Nur einzelne der untersuchten Sorten zeigten eine kanalisierte Variation mit einen sehr uniformen Blühbeginn aller Individuen (Elektra). Innerhalb anderer Sorten war die Variabilität deutlich höher. Zwischen den verwilderte Populationen und den Rapssorten konnten keine signifikanten Unterschiede in der Variabilität des Blühbeginns gefunden werden. Jedoch unterschieden sich einzelne Unkrautrapspopulationen sowohl in der Variabilität innerhalb der Populationen als auch in den Eintrittsterminen signifikant voneinander. Eine größere Variabilität des Blühbeginns zwischen einzelnen Individuen innerhalb einer Unkrautpopulation lässt sich mit dem Vorhandensein mehrerer Genotypen oder verschiedener Sorten innerhalb der Population erklären. Das Vorhandensein mehrerer Sorten erhöht sowohl die phänotypische als auch die genetische Variabilität innerhalb der Populationen.

Die Eintrittstermine zwischen einzelnen Unkrautrapspopulationen und den getesteten Sorten unterschieden sich stark: Population 123 blühte nach Vernalisation parallel zum Sommerraps (entspricht den Beobachtungen der Kartierungen), während Population 105 deutlich später als die getesteten Winterrapssorten blühte. Population 90 kam unter den herrschenden Bedingungen im ersten Jahr gar nicht zur Blüte. Hier ist zu vermuten, dass die Vernalisation für diese Population nicht ausreichte. Die durchgeführte Vernalisation fand bei 5°C für 60 Tage statt, wobei die verwendete Klimakammer sich vor allem unter Lichtbedingungen bis ca. 10°C aufheizen kann. Je nach Sorte können die Vernalisationsansprüche zwischen 20 und 60 Tage bei 1 bis 4°C variieren (Diepenbrock 2006). Der höhere Vernalisationsanspruch könnte ein Hinweis auf eine alte Rapssorte als Quelle

sein (Fundort: Baugebiet, Überdauerung im Bodensamenspeicher wahrscheinlich). Die beiden Populationen 105 und 90 sind auch in den molekularen Analysen auffällig (Tabelle 7.5 im Anhang E) und können nicht auf aktuelle Sorten zurückgeführt werden.

Die Ergebnisse der Untersuchungen legen den Schluss nahe, dass einige Unkrautpopulationen einzelne Sorten reflektieren, welche im Blühbeginn den aktuell angebaute Winterappsorten entsprechen, während einzelne Populationen abweichende Merkmale zeigen, die Hinweise auf das Vorhandensein alter, ungetesteter Sorten liefern. Andere Populationen bestehen scheinbar aus Mischungen unterschiedlicher Genotypen bzw. Sorten. Diese Erklärungen werden durch die molekularen Untersuchungen gestützt (Kapitel 4.5).

Bis heute ist kaum untersucht, wie sich Ausfallpopulationen entwickeln, die sich über mehrere Generationen reproduzieren. Man würde erwarten, dass diese zunehmend in Unkrautmerkmale zurückfallen (= Dedomestizierung, Warwick & Stewart 2005). Dass evolutive Anpassungen an herrschende Umweltbedingungen in der Gattung *Brassica* sehr schnell, binnen weniger Generationen stattfinden können, zeigen die Versuche von Franks et al. (2007) und Franks und Weis (2008). Diese konnten binnen weniger Dürrejahre eine signifikante Änderung mehrerer Life-History Traits darunter der Blühzeitpunkt (früherer Blühbeginn) in natürlichen *B. rapa*-Populationen nachweisen.

4.5 Quellen für die genetische Variabilität verwilderter Rapspopulationen

4.5.1 Präadaptationen und evolutive Entwicklungen

Anpassungen, die kolonisierende und invasive Arten die Fähigkeit verleihen, erfolgreich ein neues Gebiet zu besiedeln, können bereits vor dem Erreichen des Gebietes vorhanden sein (Präadaptationen), oder sich erst danach evolutiv entwickeln (Brown & Marshall 1981). So konnte für *Capsella bursa-pastoris* gezeigt werden, dass der weltweite Erfolg auf mehrfachen Einschleppungen unterschiedlicher, genetisch differenzierter

und für das jeweilige neue Habitat präadaptierter Genotypen beruht (Neuffer & Hurka 1999, Hurka et al. 2003). Andere Arten entwickeln erst gewisse Zeit nach der ersten Einbringung in ein neues Gebiet (Lag-Phase) und oft erst nach mehrfachen Einschleppungen die Fähigkeit zur Ausbreitung (Baker 1965, Kowarik 1995). Als Reaktion auf das veränderte Selektionsregime im Invasionsgebiet können adaptive evolutive Veränderungen stattfinden (Sakai et al. 2001). Mehrfache Einschleppungen von genetisch differenzierter Individuen können die dafür notwendige Erhöhung der genetischen Variation liefern. Auch intra- und interspezifische Hybridisierungen können zur Entwicklung eines gesteigerten Invasionspotenzials führen (Ellstrand & Schierenbeck 2000, siehe auch Kapitel 4.15). Durch Flaschenhalseffekte, genetischer Drift, genetische Rekombination durch Kreuzungen kann eine genetische Differenzierung der eingeschleppten Populationen stattfinden (Bossdorf et al. 2005, Novak 2008).

Raps ist durch seine Unkrauteigenschaften präadaptiert an offene, störungsreiche Habitats und kann diese neu besiedeln. Die Bedeutung verwilderter Rapspopulationen beim Anbau transgener Rapsorten hängt davon ab, ob transgene Eigenschaften in verwilderten Populationen überdauern können. Verwilderte Rapspopulationen, die ausschließlich ephemere sind und auf Neueintrag von Samen beruhen, sollten sich genetisch nicht von aktuell angebauten Rapsorten unterscheiden. In diesem Fall wäre die Wahrscheinlichkeit der langfristigen Überdauerung von Transgenen in verwilderten Populationen als gering einzuschätzen. Eine höhere Wahrscheinlichkeit der Überdauerung von Transgenen und auch für den Genfluss zwischen Unkrautraps und nahen Verwandten besteht, wenn sich Unkrautpopulationen aus verschiedenen Quellen zusammensetzen, die miteinander kreuzen und persistente, selbst erhaltende Populationen bilden. Zudem ist eine Erhöhung der genetischen Variabilität eine Voraussetzung für evolutive Entwicklungen (siehe z.B. Genton et al. 2005), die in überdauernden, reproduzierenden Populationen z.B. zu einem erhöhten Unkrautpotenzial führen können.

4.5.2 Mehrfache Einschleppung verschiedener Sorten

Wiederholtes Einschleppen verschiedener Rapssorten wurde als wichtigste Quelle für die genetische Vielfalt verwilderter Rapspopulationen in Nordwest Deutschland identifiziert. Die genetische Vielfalt innerhalb bestimmter Populationen beruht auf der Beteiligung von bis zu vier verschiedenen Sorten. Bei der Betrachtung der Dynamiken verwilderter Rapspopulationen lassen sich zahlreiche Parallelen zu Studien ziehen, die die genetische Vielfalt von invasiven Arten untersuchen. Wiederholte Einschleppung (engl. multiple introductions) kann die genetische Vielfalt im Invasionsgebiet erhöhen (Novak & Mack 1993, Neuffer & Hurka 1999) und die Variation zwischen den verschiedenen Quellpopulationen in Variation innerhalb der eingeschleppten Populationen verwandeln (Kolbe et al. 2004, Genton et al. 2005). Folglich kann die genetische Variation in eingeschleppten Populationen (oder von verwilderten Populationen im Falle von Raps) höher sein als die der einzelnen Quellpopulationen (z.B. Rapssorten). Dies ist zunächst unabhängig davon, ob die einzelnen Individuen aus den unterschiedlichen Quellen sich miteinander kreuzen. Achtundfünfzig Prozent der verwilderten Individuen wurden den Sorten zugeordnet, mehr als ein Drittel davon zu der Sorte Smart (Tabelle 3.5), die auch nach Angaben der Landwirtschaftskammer Weser-Ems 2003 die im Untersuchungsgebiet am häufigsten angebaute Sorte war (Tabelle 7.2). Zweiundvierzig Prozent der verwilderten Individuen wurde bei der „Allocation“-Prozedur mit AFLPop nicht zugeordnet. Diese zeigten zahlreiche Allele, die nicht in den analysierten Rapssorten gefunden wurden. Beides könnte durch das Vorhandensein weiterer Rapssorten, welche nicht in den Versuch integriert wurden, erklärt werden. Insgesamt wurden in Deutschland im Jahr 2003 für den Anbau als Ölfucht, Futterpflanze und Zwischenfrucht 98 Rapssorten durch das Bundessortenamt zugelassen (Bundessortenamt 2003). Außerdem sind Nachkommen älterer Sorten zu erwarten, wenn diese im Bodensamenspeicher überdauert haben. Hierfür spricht auch, dass nur zwei der zusätzlichen Allele in den verwilderten Populationen durch den erweiterten Datensatz aus insgesamt 12 Rapssorten erklärt werden können. Die Mikrosatellitenanalysen von Bond et al. (2004) an Sortenraps und einer verwilderten, mehrjährig auftretenden Rapspopulation an einem Feldrand führten zu ähnlichen Resultaten. Nur ein kleiner Teil der Individuen der verwilderten Population ließ sich auf aktuell angebaute Sorten zurück führen

während der Rest eine eigene Gruppe bildete, die entweder aus einer weiteren, nicht getesteten Sorte bestand oder sich durch evolutive Entwicklungen differenziert hatte (Bond et al. 2004). Auch Ramsey et al. (2003) dokumentierten in Unkrautrapspopulationen Nachkommen einer 12 Jahre nicht angebauten Sorte, wiesen Genfluss nach und beobachteten unbekannte Genotypen.

Eine alternative Erklärung für die höhere genetische Vielfalt in Unkrautpopulationen im Vergleich zu Sorten und die hohe Zahl der nicht zugeordneten Individuen kann in der Züchtungsgeschichte der eingeschleppten Sorten liegen. Drei der am häufigsten im Untersuchungsgebiet angebauten Rapsorten (Talent, Artus, Mendel) sind Hybridsorten, welche sich meist durch besondere Vitalität und größere Samen in der kultivierten F_1 -Generation auszeichnen. Für die F_2 -Generation, die als Ernteverluste in Populationen außerhalb des Anbaus eingeschleppt wird, ist eine typischerweise erhöhte Variation und Merkmalsaufspaltung zu erwarten (Lynch & Walsh 1998).

4.5.3 Intraspezifische und interspezifische Hybridisierung

Intraspezifische Hybridisierungen können eine weitere Quelle der genetischen Vielfalt verwilderter Rapspopulationen darstellen. Hybridisierungen zwischen genetisch getrennten Populationen nach mehrfacher Einschleppung können zu einem relativ hohen Maß an Polymorphismen innerhalb einer Population führen (Ellstrand & Schierenbeck 2000, Kolbe et al. 2004). Hybriden zwischen den Sorten geben einen Hinweis darauf, dass verwilderte Rapspopulationen durch Nachkommen aus den eigenen Samen überdauern und somit unabhängig von Samen-Neueinträgen sein können. Eine alternative Erklärung für die Hybriden zwischen den Sorten innerhalb der verwilderten Populationen wäre Genfluss zwischen unterschiedlichen Rapsfeldern und anschließender Verlust der Hybridsamen während des Transportes.

Die Auflösung der Mikrosatelliten und die „Allocation“-Prozedur mit AFLPop erlaubt keine Auftrennung zwischen unterschiedlichen Hybridklassen (F_1 -, F_2 -, Rückkreuzungsgenerationen). Intensive Hybridisierungen und Genfluss zwischen den Ausgangssorten können weitere Erklärungen für die hohe

Rate an nicht zugeordneten Individuen innerhalb der verwilderten Populationen liefern.

Auch interspezifische Hybridisierungen können zur genetischen Vielfalt verwilderter Populationen beitragen. In den verwilderten Rapspopulationen wurde eine Reihe von Allelen (insgesamt 43) gefunden, die in keiner der untersuchten Sorten präsent waren. Es ist denkbar, dass diese aus nah verwandten Arten, z.B. *B. rapa*, stammen und mittels introgressiver Hybridisierungen in den Genpool der verwilderten Rapspopulationen gelangten. Dagegen spricht, dass von diesen nur neun auch in den untersuchten Rübsen gefunden wurden und Rübsen in nur zwei der untersuchten Rapspopulationen präsent war. In Kapitel 4.3 ist bereits diskutiert worden, dass das verwendete Markerset nicht geeignet war, um Genfluss von Rübsen zu Raps nachzuweisen, wohl aber um den umgekehrten Weg nachzuvollziehen. In anderen Gattungen der Brassicinae amplifizierte das verwendete Markerset gar keine Allele. Aus diesen Gründen ist introgressive Hybridisierungen als Quelle für die erhöhte genetische Vielfalt an den untersuchten Loci von Unkrautrops gegenüber den Kultursorten eher unwahrscheinlich. Nichtsdestotrotz finden Hybridisierungen zwischen Raps und Rübsen im Untersuchungsgebiet statt (siehe Kapitel 3.6). Das Potenzial von Raps zur interspezifischen Hybridisierung mit nahen Verwandten wird in den Teilen 2 und 3 der Diskussion ausführlich behandelt.

Zusammengenommen ergeben die beobachtete Persistenz der verwilderten Populationen im Untersuchungsgebiet, ihre hohe genetische Vielfalt und erste Hinweise auf Hybridisierungen zwischen Raps und Rübsen (Kapitel 3.6), dass verwilderte Rapspopulationen ein höheres evolutionäres Potenzial besitzen als vormals angenommen. Die Ergebnisse des Freilandversuches mit Unkrautrops zeigen, dass eine große Variation phänotypischer Merkmale in ökologisch wichtigen Eigenschaften wie dem Blühbeginn zwischen den Individuen bestehen. Mehrere aktuelle Studien deuten darauf hin, dass für viele Arten die Fähigkeit, auf natürliche Selektion zu reagieren, für den Invasionsprozess oft entscheidender ist als Präadaptation (Lee 2002, Bossdorf et al. 2005, Suarez & Tsutsui 2008). Die neuen Umweltbedingungen können zu drastischen Veränderungen der

Selektion führen und adaptive Evolutionsprozesse zur Folge haben (Sakai et al. 2001).

4.6 Unkrautraps als Trittstein für Genfluss?

Etablierte, verwilderte Rapspopulationen sind beim Anbau transgener Rapsorten ein Unsicherheitsfaktor, denn sie können zur Überdauerung von Transgenen außerhalb des Anbaus führen und damit die Regulation der Koexistenz von transgenem und konventionellem Raps innerhalb einer Region erschweren.

Knispel et al. (2007) zeigten, dass sich in kanadischen Unkrautrapspopulationen Individuen mit verschiedenen Herbizidresistenzen und nicht-resistente Individuen mischen. Intraspezifischer Genfluss zwischen Individuen mit unterschiedlichen transgenen Eigenschaften kann zu Volontären oder verwilderten Individuen mit mehreren transgenen Eigenschaften führen (engl. gene stacking, Hall et al. 2000, Beckie et al. 2003, Aono et al. 2006, Knispel et al. 2007). Mehrfachresistente Individuen sind in ihrer Fitness im Vergleich zu den einfachresistenten Sorten nicht oder nur wenig reduziert (Simard et al. 2005). Auch in den untersuchten verwilderten Rapspopulationen im Osnabrücker Land fand eine Vermischung verschiedener Sorten sowie intraspezifische Hybridisierungen zwischen diesen statt. Der Anbau von transgenem Raps in Norddeutschland würde somit binnen kurzer Zeit zu gemischten Volontär- und verwilderten Populationen von transgenem und konventionellem Raps und multiresistenten Individuen führen (siehe auch Modellierungen von GenEERA 2007). Erkenntnisse über die zu Grunde liegenden Mechanismen bei der Etablierung verwilderter Rapspopulationen sind eine Voraussetzung, um erfolgreiche Risikobewertungen zu erstellen, und von hoher politischer Relevanz (Breckling & Menzel 2004).

Teil 2: Potenzielle Kreuzungspartner

Mittels durchflusszytometrischer Messungen konnten die relativen DNA-Gehalte und Ploidiestufen für eine Reihe von potenziellen Kreuzungspartnern von Raps bestimmt werden. Dabei wurden auch tetraploide Rübsen-Zytotypen entdeckt. Die Kartierungen zeigen, dass Raps an denselben Standorten und sympatrisch mit verschiedenen verwilderten und wilden Verwandten im Untersuchungsgebiet auftritt. Diese potenziellen Kreuzungspartner überlappen mit angebautem und verwildertem Raps zumindest teilweise in ihrer Blühphase. Mittels durchflusszytometrischer und molekularer Untersuchungen konnten Hybride zwischen Raps und Rübsen gefunden werden. Aufgrund des Vorkommens und der Hybridisierungswahrscheinlichkeit sind Rübsen und Hederich die wichtigsten Kreuzungspartner für interspezifische Hybridisierungen mit Raps im Untersuchungsgebiet.

4.7 Durchflusszytometrie aller untersuchten Arten

Bei den *Sinapis*-Arten wichen die relativen DNA-Gehalte aus den eigenen Messungen (*S. arvensis* \geq *S. alba*) deutlich von den erwarteten Werten (*S. arvensis* $<$ *S. alba*) ab (Johnston et al. 2005). Hier könnte ein Messfehler vorliegen, zudem war die Individuenzahl bei *S. alba* mit $N=3$ sehr gering. Beim Verhältnis der untersuchten Arten zueinander gibt es, abhängig von den einzelnen Studien, große Unterschiede. Bei Marie und Brown (1993) ist *Raphanus sativus* (1,08 pg, primärer Standard: *Petunia*) in etwa 2,6-mal kleiner als Raps (2,8 pg, primärer Standard Huhn). Bei Johnston et al. (2005) ist *Raphanus sativus* nur etwa 1,97-mal kleiner als Raps und stimmt mit der Schätzung der vorliegenden Arbeit besser überein (2,14-mal kleiner als Raps).

Bei allopolyploiden Arten wird meist eine Verringerung der Genomgröße beobachtet, die auf schnellen Änderungen der Genomstruktur bei Polyploidisierung beruht (Johnston et al. 2005, Song et al. 1995, Narayan 1998). Johnston et al. (2005) erhalten für Raps einen Wert von 2,31 pg, der 8% kleiner ist als die Summe von Rübsen (1,08 pg) und Kohl (1,42 pg). Narayan (1998) kommt trotz erheblich höherer Abschätzungen des absoluten DNA Gehaltes auf eine ähnliche Verringerung der Genomgröße um 6,1% im allopolyploiden Raps (1,68 pg Rübsen, 1,94 pg Kohl, 3,4 pg

Raps). Die vorliegende Studie kommt auf ein deutlich additiveres Verhältnis der relativen DNA-Gehalte von Raps (0,314s), Rübsen und Kohl (0,134s + 0,179s = 0,313s). Das Verhältnis von Kohl zu Rübsen stimmt in der vorliegenden Studie jedoch gut mit Literaturangaben überein (Johnston et al. 2005: Rübsen ist 14% kleiner als Kohl, Narayan 1998: 13%, hier 15%).

Das Verhältnis von Chromosomenzahl zu relativem DNA-Gehalt für die untersuchten Arten zeigt, dass im *Brassica*-Verwandtschaftskreis Ploidiestufen gut voneinander getrennt werden können (Abbildung 21). Innerhalb einer Ploidiestufe ist das Verhältnis zwischen Chromosomenzahl und relativem DNA-Gehalt allerdings nicht linear, sondern hängt stark von der individuellen Größe der Chromosomen ab. Diese kann schon bei nah verwandten Arten stark verschieden sein.

Innerhalb der Ploidiestufen können aufgrund des relativen DNA-Gehaltes keine Rückschlüsse auf die Chromosomenzahlen getroffen werden (Sabhalval & Dolezel 1993). Zum Beispiel zeigen *B. rapa* ($2n=20$) eine der höchsten Chromosomenzahlen der diploiden Arten, jedoch einen der kleinsten relativen DNA-Gehalte der untersuchten diploiden Arten. *Brassica oleracea* ($2n=18$) und *B. nigra* besitzen zwar weniger Chromosomen ($2n=16$), weisen jedoch deutlich höhere relative DNA-Gehalte auf (Abbildung 21). Bei Hybriden kann somit über den relativen DNA-Gehalt nur dann eine Abschätzung der Chromosomenzahl erfolgen, wenn beide Eltern bekannt sind. In Folgegenerationen ist eine Abschätzung möglich, wenn beide Eltern etwa dieselbe Chromosomengröße besitzen (z.B. bei *Raphanus*-Hybriden, Eber et al. 1994). Ansonsten kann nur der Ploidiegrad bestimmt werden, und Chromosomenzählungen sind zusätzlich erforderlich. Bei tetraploiden Rübsen und Raps sind zwar die Eltern bekannt, aber vermutlich führen Abweichungen in der Meiose zu aneuploiden Gameten und Nachkommen und erschweren die Auswertung (Aneuploidie: der Besitz von mehr oder weniger Chromosomen als einem genauen Vielfachen des einfachen Chromosomensatzes, Kapitel 4.12). Triploide Hybride zwischen diploiden Rübsen und Raps lassen sich mit dieser Methode einfach und sicher identifizieren.

4.8 Vorkommen von potenziellen Kreuzungspartnern im Untersuchungsgebiet

Von den in Tabelle 1.1 aufgeführten Arten konnten *B. nigra*, *B. juncea*, *Eruca sativa*, *Erucastrum gallicum* und *Hirschfeldia incana* während der Kartierungen nicht im Untersuchungsgebiet nachgewiesen werden. Die ersten vier kommen nach Weber (1995). in Südwest-Niedersachsen selten eingeschleppt vor; *H. incana* wurde bisher nur selten und vorübergehend eingeschleppt in Südwest-Niedersachsen aufgefunden. Die anderen acht Arten (*B. rapa*, *B. oleracea*, *Raphanus raphanistrum*, *R. sativus*, *Sinapis arvensis*, *S. alba*, *Diplotaxis muralis* und *D. tenuifolia*) kommen nach Weber (1995) zerstreut bis häufig in Südwest-Niedersachsen vor. Sie wurden alle während der Kartierungen an den selben Standorten wie Raps aufgefunden. Bis auf die beiden *Diplotaxis*-Arten konnten alle auch sympatrisch mit Raps dokumentiert werden. Abgesehen von *D. muralis* (4x, selbstkompatibel) sind die Arten diploid und besitzen ein sporophytisches Selbstinkompatibilitätssystem. *Brassica rapa*, *R. raphanistrum* und *S. arvensis* sind als sogenannte „gefährliche“ Unkräuter in mehreren Ländern eingestuft (Holm et al. 1991). In Deutschland gilt erstere als allgemeines Unkraut und die anderen beiden als Hauptunkräuter (Holm et al. 1991), allerdings gehören alle drei nicht zu den entscheidenden Unkräutern in deutschen Rapsfeldern (Gerowitt & Görke 2007). Regional können erhebliche Unterschiede im Vorkommen und in der Häufigkeit potenzieller Kreuzungspartner von Raps auftreten (Abbildung 35). In einer Studie im Braunschweiger Umland (südöstliches Niedersachsen) konnte aus den Brassicinae ausschließlich *S. arvensis* sympatrisch mit Raps gefunden werden (Dietz-Pfeilstetter 2005, 2007). In den Hafengebieten von Braunschweig kommen neben *B. napus* und *S. arvensis* auch *R. raphanistrum*, *R. sativus* und *D. tenuifolia* vor (Brandes 2002). Im Raum Detmold (Nordrhein-Westfalen) konnten sympatrisch mit Raps neben *S. arvensis* auch *R. raphanistrum* und *B. oleracea* gefunden werden (Haeupler et al. 2004). *Brassica rapa* in direkter Nachbarschaft zu Raps fehlte in beiden Regionen. Im Raum Bremen wurden zusätzlich zu den acht in der vorliegenden Studie nachgewiesenen Arten auch *B. nigra* und *Hirschfeldia incana* gefunden. Die Diversität der Kreuzungspartner war im urbanen Raum im Vergleich zum ländlichen Raum deutlich erhöht (Breckling et al. 2003, Menzel 2006).

Neben der räumlichen Nähe sind überschneidende Blühzeitpunkte eine grundlegende Voraussetzungen für Genfluss zwischen Taxa. Verwilderte Raps-Populationen konnten blühend ab Anfang April beobachtet werden und überschritten sich weitgehend in ihrer Blühphase mit dem angebauten Winterraps (Ende April bis Ende Mai). Einzelne Populationen blühten abweichend erst im Sommer. Einzelpflanzen, besonders nach Verletzungen, wurden blühend bis in den Herbst beobachtet. Raps kann außerhalb der Kulturfleichen über die gesamte Vegetationsperiode bis zum ersten Frost blühen (Breckling et al. 2003, Haeupler et al. 2004). Sehr spät blühende Rapspflanzen kommen allerdings nicht mehr zur Samenreife (Elling, persönliche Beobachtungen).

Darüber hinaus müssen weitere prä- und postzygotische Isolationsbarrieren überwunden werden, damit es zu einer Bestäubung, Befruchtung und zur erfolgreichen Entstehung eines Hybriden kommt. Durch Rückkreuzung (semi-)fertiler Hybride mit den Eltern und genomische Rekombination kann es zur Introgression von artfremden Genen im wilden Verwandten kommen. Dabei spielt die Fitness der Hybrid- und Folgegenerationen eine entscheidende Rolle.

4.8.1 IHP-Werte und Prioritätenliste der potenziellen Kreuzungspartner

Zur Bewertung der Neigung der einzelnen Arten zur introgressiven Hybridisierung mit Raps und zur Abschätzung der möglichen Persistenz von Transgenen in natürlichen oder verwilderten Populationen schlagen Devos et al. (2009) die Berechnung eines Genflussindex vor. Der IHP-Wert (engl. introgressive hybridisation propensity, dt. Neigung zur introgressiven Hybridisierung) ermöglicht die Erstellung einer Prioritätenliste für ein lokales Monitoring potenzieller Kreuzungspartner von Raps im Untersuchungsgebiet. Der Index beinhaltet die Bewertung von sechs aufeinander folgenden Schritten: 1. Gemeinsames Vorkommen der Art mit angebautem Raps, 2. Überlappung der Blühzeitpunkte, 3. Bildung lebensfähiger und fertiler F₁-Nachkommen, 4. Rückkreuzung zum wilden/ verwilderten Verwandten, 5. Stabilisierung und Integration des Transgens im Genom des Verwandten und 6. Persistenz des Transgens in wilden oder verwilderten Populationen (Tabelle 7.7 im Anhang F). Die Bewertung der Schritte 2.-6.

erfolgte nach Literaturangaben (Tabelle 7.8 im Anhang F, verändert nach Devos et al. 2009), während Schritt 1.a-b, soweit möglich, aus den Ergebnissen der Kartierungen abgeschätzt wurde. Bezogen auf die im Osnabrücker Land kartierten Arten lässt sich folgende Rangfolge nach Neigung der Arten zur introgressiven Hybridisierung mit Raps erstellen:

1. *B. rapa* (IHP=13,9), 2. *R. raphanistrum* (6,3), 3. *S. arvensis* (5,6), 4. *R. sativus* (5,6), 5. *B. oleracea* (4,9), 6. *S. alba* (4,6), 7. *D. tenuifolia* (3,9) und 8. *D. muralis* (3,0).

Von intergenerischen hin zu interspezifischen Kreuzungen soll die Fähigkeit zur Hybridisierung mit Raps für die acht gefundenen Arten in den folgenden Kapiteln diskutiert werden. Es ist zu berücksichtigen, dass der Schwerpunkt der vorliegenden Studie in der Detektion von Raps-Rübsen-Hybriden liegt. Mittels Durchflusszytometrie hätten jedoch auch andere Hybride unter Be-

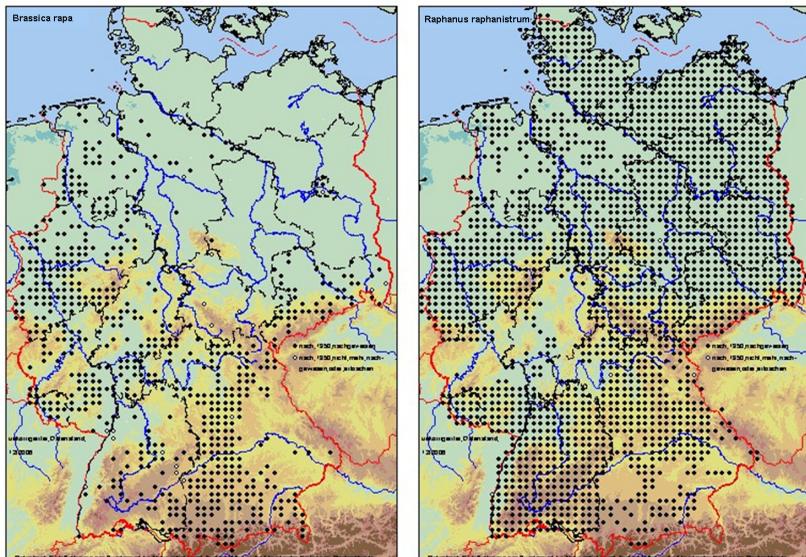


Abbildung 35: Verbreitung von *B. rapa* (links) und *Raphanus raphanistrum* (rechts) in Deutschland. Quelle: Datenbank der floristischen Kartierung von Gefäßpflanzen (Florkat) am Bundesamt für Naturschutz, unkorrigierter Datenstand 12/2006 (FloraWeb). Gefüllte Kreise: nach 1950 nachgewiesen, ungefüllte Kreise: nach 1950 nicht mehr nachgewiesen oder erloschen

teilung von Raps detektiert werden können, da zumeist triploide F_1 -Hybride zwischen tetraploidem Raps und den diploiden wilden Verwandten zu erwarten sind (Ausnahme *D. muralis*, da tetraploid).

4.8.2 *Diplotaxis tenuifolia* und *D. muralis*

Diplotaxis muralis konnte im August blühend an einem Straßenrand beobachtet werden, an dem im vorhergehenden Frühjahr Raps kartiert wurde. *Diplotaxis tenuifolia* wurde blühend im Spätsommer an ruderalen Standorten im Untersuchungsgebiet beobachtet, konnte aber nicht zusammen mit Raps aufgefunden werden. BiolFlor gibt als Blütezeiten für *D. muralis* Juni bis September bzw. für *D. tenuifolia* Mai bis Oktober an. Beide Arten sind im Untersuchungsgebiet selten eingeschleppt anzutreffen (Weber 1995). Sie überlappen in der Blütezeit im Sommer mit einigen ruderalen Rapspopulationen, nicht aber mit der Hauptblüte von Winterrapfeldern im Untersuchungsgebiet. Bei Handbestäubung lassen sich Hybride mit Raps erzeugen. Spontane Hybridisierungen mit Raps unter natürlichen Bedingungen wurden bisher nicht beobachtet (FitzJohn et al. 2007). Gemeinsame Vorkommen mit Raps sowie Hybride zwischen den *Diplotaxis*-Arten und Raps konnten während der Kartierungen nicht identifiziert werden. Als Hybridisierungspartner von Raps sind beide Arten im Untersuchungsgebiet von geringer Bedeutung (sie belegen die letzten beiden Ränge aufgrund ihrer IHP-Werte).

4.8.3 *Sinapis arvensis* und *S. alba*

Sinapis arvensis und *S. alba* kommen im Untersuchungsgebiet relativ häufig vor, wobei erstere als Ackerunkraut und an ruderalen Habitaten angetroffen wurde, während letztere fast nur in und nach der Kultur (Gründünger, Zwischenfrucht, Wildacker) vorkommt. Im Untersuchungsgebiet treten beide Senfarten zerstreut bis häufig in Unkraut-Populationen auf (Weber 1995). *Sinapis arvensis* blühte während der gesamten Vegetationsperiode mit großen Überlappungen zum Kulturraps im Frühjahr (auch von Haeupler et al. 2004 beobachtet). Im Freilandversuch mit Unkrautraps blüht *S. arvensis* nach Vernalisation parallel zu den angebauten Rapssorten (Tabelle 7.4 im Anhang D). *Sinapis alba* blühte je nach Aussaat ebenfalls ganzjährig: die

Blüte begann etwas später im Frühjahr mit Überschneidungen zur Hauptblüte des Winterrapses. Da diese Art als Gründünger und Erosionsschutz im Winterhalbjahr eingesetzt wird, konnten zahlreiche blühende *S. alba* Felder im Herbst bis zum ersten Frost im November beobachtet werden.

Bei Handbestäubung wurden einzelne Hybride zwischen Raps und den beiden *Sinapis*-Arten und Raps erzeugt (Moyes et al. 2002, FitzJohn et al. 2007), die eine deutlich reduzierte Fertilität aufweisen (0-40% Pollenfertilität, Kerlan et al. 1992). Im Osnabrücker Raum konnten keine Hybride zwischen Raps und einer der beiden *Sinapis*-Arten gefunden werden. Spontane Hybridisierungen zwischen Raps und *S. alba* sind nicht bekannt. Im Untersuchungsgebiet ist *S. alba* hinsichtlich des Auskreuzungspotenzials mit Raps von geringer Bedeutung (IHP Rang 6). Bei Handkreuzungen von Raps mit *Sinapis arvensis* konnten nur Hybride erzeugt werden, wenn Raps als Pollendonor fungierte oder männlich steriler Raps als Mutterpflanze verwendet wurde (zusammengefasst in FitzJohn 2007). Allerdings haben Daniels et al. (2005) bei einem Feldversuch mit männlich fertilem Raps und Ackersenf einen einzelnen Hybriden nachgewiesen. Wer bei der Entstehung dieses Hybriden den mütterlichen Elter stellte, ist jedoch unklar. Es ist umstritten, ob dieser als Nachweis für Hybridisierungen unter natürlichen Bedingungen zu werten ist (Devos et al. 2009). Aufgrund der Häufigkeit von *S. arvensis* als Unkraut im Osnabrücker Land und sympatrischer Vorkommen von *S. arvensis* mit Raps sollte *S. arvensis* hinsichtlich der Genflussproblematik nicht unbeachtet bleiben (IHP-Rang 3 im Untersuchungsgebiet).

4.8.4 *Raphanus raphanistrum* und *R. sativus*

Die Wildart *Raphanus raphanistrum* konnte im Untersuchungsgebiet nur an einem einzigen Fundort kartiert werden. Diese Art ist im Osnabrücker Land bisher selten gefunden worden (Feder 2000), in Südwest-Niedersachsen im Rückgang (Weber 1995). und steht als gefährdete Art auf den Roten Listen von Niedersachsen, Schleswig-Holstein und Hamburg (Kategorie 3 bzw. 1 in Hamburg, Poppendieck et al. 1998, Garve 2004, Mierwald & Romahn 2006). Die Einordnung in den Roten Listen (Archäophyt) steht im Widerspruch mit der Einstufung als Neophyt nach FloraWeb. Es ist anzunehmen,

dass eine erste Einwanderung als Ackerkulturbegleiter aus dem Mittelmeerraum schon vor 1500 erfolgte (Düll & Kutzelnigg 2005, BiolFlor). *Raphanus sativus* tritt als Kulturpflanze (Gründünger, Wildäcker) und als Kulturflüchtling deutlich häufiger als *R. raphanistrum* auf.

Blühende Individuen von *R. raphanistrum* wurden zwischen Mitte Juli und Ende September angetroffen. In diesem Zeitraum wurden am selben Fundort einzelne blühende, verwilderte Rapspflanzen und blühender *R. sativus* beobachtet (Abbildung 36). Auch in der Literatur wird als Blühbeginn von Hederich der Juni angegeben (Haeupler et al. 2004, BiolFlor). Die Blütezeit von *R. raphanistrum* überschneidet sich somit in der Regel nicht mit der Hauptblühphase des angebauten Winterrapses, wohl aber mit der Blütezeit einzelner verwilderter Rapspflanzen (und mit der Blütezeit von Sommerraps). *Raphanus sativus* konnte blühend abhängig vom Zeitpunkt der Aussaat ab dem Frühjahr mit Überschneidung zur Hauptblüte des Winterrapses, über den gesamten Sommer bis Anfang Oktober angetroffen werden. Im Freilandversuch mit Unkrautrops blüht *R. sativus* nach Vernalisation parallel zu den angebauten Rapsorten (Tabelle 7.4 im Anhang D).

Beide *Raphanus*-Arten können auch miteinander interspezifisch hybridisieren (Panetsos & Baker 1967, Snow et al. 2001, Campbell et al. 2006). Interspezifische Hybridabkömmlinge haben durch ihr gesteigertes Kolonisationsvermögen lokal in Kalifornien die reinen Elternlinien verdrängt (Snow et al. 2001, Hedge et al. 2006). Intergenerische Hybride zwischen *R. sativus* und Raps sind bisher nur mit männlich sterilem Raps als Mutterpflanze nachgewiesen worden. In der vorliegenden Studie sind keine Hybride detektiert worden. Da *R. sativus* im Untersuchungsgebiet sympatrisch mit Raps auftritt, sollte er hinsichtlich der Genflussproblematik nicht unbeachtet bleiben (IHP Rang 4).

Hybride mit *R. raphanistrum* und Raps können reziprok und spontan entstehen (Eber et al. 1994, Darmency et al. 1998, Ammitzbøll & Jørgensen 2006). Fungiert männlich fertiler Raps als Mutterpflanze, wurden bei Bestäubung mit *R. raphanistrum* je nach Studie Hybridisierungsraten zwischen 4×10^{-8} und 5×10^{-4} berechnet (Chèvre et al. 2000, Rieger et al. 2001). Deutlich höher ist der Anteil an Hybridsamen auf männlich sterilem Raps (Ammitzbøll & Jørgensen 2006). Mit *R. raphanistrum* als Mutter-

pflanze kann die Hybridisierungsrate 0,2 bis 6×10^{-3} Prozent Hybridsamen erreichen (Darmency et al. 1998) In anderen Studien liegt sie mit 10^{-7} bis 3×10^{-5} Prozent deutlich niedriger (Chèvre et al. 2000, Warwick et al. 2003). F_1 -Hybride weisen meist die triploide Genomstruktur RrAC auf (Eber et al. 1994, Chèvre et al. 2007). Unter Beteiligung unreduzierter Gameten können auch tetraploide (RrRrAC) oder hexaploide (RrRrAACC) Hybride entstehen (Chèvre et al. 2000, Rieger et al. 2001). Die Beobachtung von Multivalenten während der Meiose in den F_1 -Hybriden (in 9,2% der Pollenmutterzellen) zeigt, dass zwischen den Genomen Homologien bestehen und somit Rekombination möglich ist (Eber et al. 1994). Allerdings führten Rückkreuzungen transgener (herbizidresistenter) Hybride mit *R. raphanistrum* unter Selektionsdruck zwar in der vierten Generation zu Nachkommen mit ähnlichem DNA-Gehalt wie die Wildart, diese besitzen aber ein zusätzliches, transgtragendes Chromosom, welches bis dato nicht ins *Raphanus*-Genom integriert wurde (Al Mouemar & Darmency 2004, Chèvre et al. 2007). Die Pollenfertilität der F_1 -Hybride ist gering und beträgt oftmals weniger als ein Prozent (Warwick et al. 2003). Maximal 15-30% färbbare Pollen wurden in Einzelpflanzen dokumentiert (Ammitzbøll & Jørgensen 2006, Eber et al. 1994). Während die F_1 - und F_2 -Generationen in ihrer Fitness stark reduziert sind, nimmt die Fitness bei Rückkreuzung mit *R. raphanistrum* zur BC_6 -Generation hin wieder deutlich zu, besonders bei



Abbildung 36: Raps sympatrisch mit *Raphanus*. Links: *Raphanus raphanistrum* blühend und Raps zum Teil blühend (Pop226) im Herbst 2005, vegetatives Rapsfeld im Bild oben links. Rechts: *Raphanus sativus* und Raps an einem Straßenrand.

Individuen mit *R. rapanistrum*-Cytoplasma (Gueritain et al. 2002). In der hier vorliegenden Studie konnten keine Hybride von *R. raphanistrum* und Raps detektiert werden. Allerdings wurden im Vergleich zu anderen Studien nur sehr wenige und ausschließlich adulte Pflanzen untersucht. Hinsichtlich Genflussproblematik mit Raps muss *R. raphanistrum* im Untersuchungsgebiet nach Rübsen als eine prioritäre Art betrachtet werden (IHP Rang 2).

4.8.5 *Brassica oleracea*

Das natürliche Verbreitungsgebiet von Kohl liegt an den Küsten des Mittelmeers und Atlantiks. In Deutschland gibt es wilden Kohl ausschließlich auf Helgoland. Im Untersuchungsgebiet kommt Kohl nur als Kulturpflanze vor, zum Teil in sympatrischen Vorkommen mit Raps oder als (ephemeres) Unkraut. Der Blühzeitpunkt des biennen Kohls überschneidet sich im Untersuchungsgebiet mit der Hauptblüte von Raps (auch im Feldversuch sowie von Haeupler et al. 2004 beobachtet). Hybride zwischen Raps und Kohl sind im Vergleich zu Rübsen schwierig zu erzeugen, besonders wenn Raps als Pollendonator fungiert (FitzJohn et al. 2007). Triploide Hybride sind in ihrer Fertilität reduziert (1% bis 59% Pollenfertilität). Hexaploide Hybride aus unreduzierten Gameten beider Eltern (AACCCC) können auch eine unreduzierte Pollenfertilität zeigen (94%, Kerlan et al. 1992).

Hybride zwischen Kohl und Raps konnten in der vorliegenden Studie weder als etablierte Pflanzen am Fundort noch in den Nachzuchten identifiziert werden. Von den fünf kartierten Kohlbeständen waren drei angesäte Wildäcker, einer ein überdauernder Rest eines Wildackers an einem Ackerand und nur einer besiedelte ephemere ruderalen Standort. Auskreuzungen von Raps in Kohl werden im Untersuchungsgebiet vorwiegend auf angesäten, mehrjährig überdauernden Wildäckern mit Mischbeständen beider Arten von Relevanz sein. Hinsichtlich des Monitorings liegt *B. oleracea* auf dem 5. IHP-Rang aufgrund seines seltenen Auftretens in der Nähe von Rapsfeldern im Untersuchungsgebiet und den seltenen Nachweisen von F_1 -Hybriden unter natürlichen Bedingungen. Dennoch konnten Ford et al. (2006) Hybridisierung und Introgression von Rapsenen in eine natürliche Kohlpopulation in England dokumentieren.

4.8.6 *Brassica rapa*

In Niedersachsen gilt *B. rapa* als unbeständiger Neophyt, der aus der Kultur verwildert (Garve 2007). Wie schon in Kapitel 1.2.3 erwähnt, ist die Einstufung von Rübsen (Status und Persistenz) umstritten. Das Vorkommen von Rübsen in Niedersachsen ist unzureichend in der floristischen Kartierung erfasst, sodass keine aussagekräftige Karte der Verbreitung für Niedersachsen zur Verfügung steht (Garve 2007). Ob echte Wildvorkommen von *B. rapa* ssp. *campestris* in Südwest-Niedersachsen vorhanden sind, war bisher gänzlich unbekannt (Weber 1995). Im Untersuchungsgebiet konnten Rübsen häufig in Kultur gefunden werden (Wildäcker, Blühstreifen, Gründüngung). Verwilderte Populationen und ein einziges potenziell natürliches Vorkommen der Wildrübe (Pop54, Abbildung 37) wurden nachgewiesen. Verwilderte Vorkommen treten sowohl an Ackerrändern (als Volontäre oder Unkräuter), als auch an ruderalen Standorten wie Straßenrändern und Brachflächen auf. An beiden Standorttypen wurden auch gemischte Bestände mit Raps gefunden. Rübsen als Unkraut in einem Rapsfeld wurde nur an einem Standort kartiert (Pop54). Im Raum Osnabrück wurden 2004 an 3% der Rapsfundorte auch Rübsen gefunden (in den Folgejahren wurden sympatrische Bestände überproportional häufig kartiert). In Bremen traten bei einer dreijährigen flächigen Kartierung im Mittel in 5,1% (+/- SD = 6,0%) der Rapsbestände auch Rübsen auf (Menzel 2006).

In der vorliegenden Studie konnten 16 von 18 gemischten Beständen von Raps und Rübsen in mehr als einem Untersuchungsjahr wieder aufgefunden werden. Dabei waren vor allem die verwilderten sympatrischen Populationen langlebig und konnten meist in mehr als zwei Jahren aufgefunden werden.

Innerhalb Deutschlands bestehen regionale Unterschiede der Verbreitung von Rübsen: während in Osnabrück und Bremen Rübsen sympatrisch mit Raps auftritt, konnten in Detmold und Braunschweig keine sympatrischen Raps-Rübsenbestände gefunden werden (Breckling et al. 2003, Haeupler et al. 2004, Dietz-Pfeilstetter 2005, Menzel 2006, Dietz-Pfeilstetter 2007). Insgesamt ist Rübsen häufiger im Süden und Westen als im Norden und Osten nachgewiesen worden (Abbildung 35). Rübsen ist allerdings kein wichtiges Unkraut in deutschen Rapsfeldern (Gerowitz & Görke 2007). In

Dänemark hingegen tritt Rübsen häufig als Unkraut vor allem in Rapsfeldern auf (Jørgensen & Andersen 1994, Landbo et al. 1996, Snow et al. 1999, Hansen et al. 2003). Auch in weiteren Studien aus dem europäischen und außereuropäischen Ausland wurden Rübsen an ruderalen Standorten und als Ackerunkraut benachbart zu Raps dokumentiert. So ist Rübsen in Südschweden und in den Niederlanden lokal häufig anzutreffen (Johannessen et al. 2006, Bleeker, Universität Osnabrück pers. Mitteilung, Luitjen, Universität Leiden pers. Mitteilung), in Österreich im Rückgang, aber in allen Bundesländern vorhanden (Pascher et al. 2001), und in Frankreich in den Rapsanbaugebieten eher selten vorhanden (Fellous & Messéan 2004). Auch in Kanada kommt Rübsen sympatrisch mit Raps auf ruderalen und landwirtschaftlich genutzten Flächen vor (Warwick et al. 2003, Simard et al. 2006, Warwick et al. 2008). In England bestehen regionale Unterschiede in der Häufigkeit von *B. rapa* an ruderalen Standorten und als Unkraut in Rapsfeldern. Rübsen besiedelt in England vorwiegend die Überflutungszonen großer Flüsse wie der Themse (Scott & Wilkinson 1998, Scott & Wilkinson 1999, Wilkinson et al. 2000, Wilkinson et al. 2003, Norris et al. 2004). Im Untersuchungsgebiet gibt es keine Flüsse, die Habitate für wilde Rübsenpopulationen bieten könnten. Auch vom Rhein (Schmitz persönliche Mitteilung, Universität Düsseldorf) und anderen deutschen Flüssen sind solche Populationen nicht bekannt.

Wie auch Raps kann Rübsen in einer sommer- und einer winterannuellen Lebensform auftreten. In Dänemark wurden beide Formen als landwirtschaftliche Unkräuter dokumentiert (Landbo et al. 1996, Hansen et al. 2003). Im Untersuchungsgebiet in Osnabrück zeigte die Mehrzahl der Rübsen eine breite Überlappung mit der Winterrapsblüte im Frühjahr (winterannuell), wobei der Rübsen meist einige Tage vor Raps zur Blüte kam (Freilandversuch mit Unkrautraps: nach Vernalisation blüht diploider Rübsen im Mittel neun Tage vor den angebauten Winterrapsarten, Tabelle 7.4 im Anhang D). Einzelne blühende Rübsenbestände wurden während der gesamten Vegetationsperiode (bis Ende September) im Untersuchungsgebiet gefunden. Dies entspricht den Literaturangaben für Deutschland (BioFlor). Einige der verwilderten Populationen zeigten eine Rübenbildung wie die Kultur-Rübensorten und entstammen wahrscheinlich dem Anbau. Unterschiede in der Ploidie der verwilderten Rübsenbestände wurden hier

erstmalig für Deutschland dokumentiert. In den folgenden Betrachtungen soll der Schwerpunkt auf diploiden Rübsen liegen, während die Bedeutung tetraploider Bestände separat im dritten Teil der Diskussion besprochen wird.

Vorkommen sympatrischer Populationen mit überlappenden Blühzeiten bilden Grundvoraussetzungen für Hybridisierung und Introgression zweier Taxa. Von allen Arten, die bisher mit Raps mittels Handbestäubungen gekreuzt wurden, zeigt diploider *B. rapa* den höchsten Samenansatz pro Kreuzung (FitzJohn et al. 2007). Spontane Hybridisierungen zwischen Raps und Rübsen unter natürlichen oder naturnahen Bedingungen sind in gemischten oder benachbarten Beständen in zahlreichen Studien nachgewiesen worden (z.B. Jørgensen & Andersen 1994, Landbo et al. 1996, Wilkinson et al. 2000, Warwick et al. 2003, Halfhill et al. 2004b, Simard et al. 2006). In natürlichen Unkrautrübsen-Populationen in Dänemark konnten Hansen et al. (2001, 2003) die Introgression von Rapsgenen nachweisen und über mehrere Generationen verfolgen. In Kanada konnten Warwick et al. (2008) die Introgression und Persistenz von Transgenen über sechs Jahre in einer natürlichen Rübsenpopulation dokumentieren. Aufgrund weitgehender Homologien können die Chromosomen der A und C-Genome miteinander während der Meiose homolog und homeolog rekombinieren, sodass eine Introgression von Rapsgenen in den Genpool von *B. rapa* stattfinden kann (Mikkelsen et al. 1996, Tomiuk et al. 2000, Halfhill et al. 2004a, Leflon et al. 2006). Hybridisierung zwischen Raps und Rübsen in gemischten Beständen sind eher die Regel als die Ausnahme.

Auch in der vorliegenden Studie konnten in zwei gemischten Raps-Rübsen-Beständen triploide Pflanzen mittels Durchflusszytometrie identifiziert werden (Pop54, Pop219). Der einzige etablierte triploide F₁-Hybrid wurde 2005 in Population 219 entdeckt und stellt damit den ersten Nachweis für den Hybriden *B. ×harmisiana* OE SCHULZ in Südwest-Niedersachsen (Weber 1995). In Population 54 konnten weder 2004 noch in den Folgejahren bis 2008 etablierte F₁-Hybride gefunden werden, jedoch waren fünf Nachzuchten aus dem Saatgut einer Rübsen-Mutterpflanze triploid. In den triploiden Nachkommen wurden Rapsallele in den Mikrosatellitenanalysen detektiert. Hinweise auf Introgression von Rapsmarkern in diploide Rübsen geben einzelne Individuen der Populationen 56 und 219 (je 2 Individuen mit

je 1 Rapsallel) sowie ein Nachkommen aus Population 54. In Population 56 (Wildacker) konnten in 12 von 22 tetraploiden Rübsen Rapsallele nachgewiesen werden, was auf Genfluss von Raps in tetraploiden Rübsen im Untersuchungsgebiet hinweist (Kapitel 4.13). Hinsichtlich eines Monitorings der Auskreuzung von Raps in nahe Verwandte ist *B. rapa* im Untersuchungsgebiet als prioritäre Art zu betrachten (IHP Rang 1).

4.8.6.1 Hybridisierungsraten

Hybridisierungsraten werden generell stark durch verschiedene Faktoren des experimentellen Designs wie Isolationsdistanzen, relative Artenhäufigkeit, Pflanzendichte, Sorten- bzw. genotypische Variabilität und individuelle Variabilität bestimmt. Außerdem spielt die Richtung eine entscheidende Rolle: Bei Handbestäubung sind Kreuzungen mit Raps als Mutter generell erfolgreicher (durchschnittlich 2,29 Hybriden pro Bestäubung) als reziproke Kreuzungen (Rübsen ♀ × Raps ♂ mit 0,44 Hybride pro Bestäubung, FitzJohn et al. 2007). Dies entspricht der allgemeinen Beobachtung, dass Kreuzungen zwischen unterschiedlichen Zytotypen dann erfolgreicher sind, wenn die Mutter die höhere Ploidie aufweist (Kerlan et al. 1992, Ramsey & Schemske 1998).



Abbildung 37: Persistente diploide Rübsenpopulation 2008 am Rand eines Rapsfeldes (Population 54). Einzig potenziell wildes Vorkommen von *B. rapa* ssp. *campetris* im Osnabrücker Land.

Rübsen (♀) × *Raps* (♂)

Studien der Hybridisierung zwischen Raps und Rübsen unter natürlichen Bedingungen dokumentieren zumeist die Auskreuzung von Raps als Pollendonator (♂) in diploiden Rübsen als Mutterpflanze (♀). Dem liegen oftmals die Annahmen zugrunde, dass der selbstinkompatible Rübsen als Unkraut verstreut in oder benachbart zu Rapsfeldern auftritt, von Raps und Rapspollen dominiert und befruchtet wird und aufgrund der Öffnungsfrüchte vor der Rapsernte (so auch Pop54 beobachtet) sein Saatgut ausstreut, während der größte Teil der Rapssamen erst später geerntet wird. Unter diesen Bedingungen sind die höchsten Hybridisierungsraten zu erwarten. Kreuzen die entstehenden Hybride wiederum mit Rübsen zurück, besteht der Weg zur Introgression von (Trans-)Genen in natürliche Rübsenpopulationen. Warwick et al. (2003) konnten in einem Feldversuch mit (herbizidresistentem) Sommerraps in Kanada im Mittel 7% Hybridnachkommen bei einer diploiden Rübsenpflanze pro m² dokumentieren (Raps in normale Saatstärke für Kanada ~160 Samen/ m²). Halfhill et al. (2004b) wiesen im Mittel ~10% Hybridnachkommen bei hohem Verhältnis von Sommerraps zu Rübsen (600:1) nach. Die Hybridisierungsrate war für Rübsen innerhalb von Rapsflächen deutlich höher (~37%), verglichen mit Rübsen an den Rändern (~5%). Mit zunehmendem Anteil an Rübsen nahm die Hybridisierungsrate ab (~2%, bei 180:1, Halfhill et al. 2004b). Isolierte, selbstinkompatible Rübsen-Einzelpflanzen umgeben von Raps können sehr hohe Anteile von Hybridnachkommen aufweisen. Bei zwei Rübsen-Einzelpflanzen in dänischen Rapsfeldern dokumentierten Jørgensen & Andersen (1994) 56% bzw. 93% Hybridnachkommen. In Feldversuchen mit wildem dänischen Rübsen wurde beobachtet, dass Hybridisierung (und Rückkreuzung) mit Rübsen als Pollenakzeptor vor allem bei niedrigen Pflanzendichten und hohen Raps- (und/ oder F₁-) Häufigkeiten stattfindet, wobei einige wenige *B. rapa* Mutterpflanzen fast alle Hybridnachkommen produzieren (Pertl et al. 2002). Starke Schwankungen individueller Hybridisierungsraten zwischen den Mutterpflanzen wurden in zahlreichen Studien dokumentiert (Landbo et al. 1996: 0-15% Hybridnachkommen je Mutterpflanze, Warwick et al. 2003: 0-53%, Norris et al. 2004: 0-43%, Simard et al. 2006: 0-68%). Dies entspricht der Beobachtung, dass im Osnabrücker Land nur in der Nachkommenschaft einer einzigen Mutterpflanze F₁-Hybride nachgewiesen werden konnten (Population 54 Mutter-

pflanze 5: 56% Hybridnachkommen). Auch zwischen Sorten und Genotyp können sich Hybridisierungsraten stark unterscheiden. Bei unterschiedlichen transgenen Sommerrapslinien fanden Halfhill et al. (2002, 2004b) zwischen 0,7-16,9% bzw. zwischen 4-22% Hybridnachkommen.

In natürlichen Rübsen-Populationen in Rapsfeldern können Dichte, Artenverhältnis und Verteilung zu sehr unterschiedlichen Hybridisierungsraten führen. In Kanada wurden in einem kommerziellen Sommerrapsfeld 13,6% Hybridnachkommen bei Unkrautrübsen gefunden (Warwick et al. 2003). Diese höhere Rate als in den kanadischen Feldversuchen (7%) beruht wahrscheinlich auf größeren Distanzen zwischen den selbstinkompatiblen Rübsen. Simard et al. (2006) untersuchten in Kanada insgesamt acht natürliche Populationen an Ackerrändern benachbart zu Sommerraps und dokumentierten zwischen 1,1% und 17,5% Hybridsamen auf Rübsen. In zwei dänischen Winterrapsfeldern mit parallel blühenden Rübsenpopulationen wurden 3% bzw. 60% Hybridnachkommen beobachtet (Landbo et al. 1996). In natürlichen Rübsen-Bestände an englischen Flüssen, benachbart zu Rapsfeldern wurden zwischen 0,4% und 1,5% Hybridnachkommen dokumentiert (Scott & Wilkinson 1998, Allainguillaume et al. 2006). Für ganz England resultierte aus den Untersuchungen von Wilkinson et al. (2003) eine Abschätzung von 32.000 Hybride jährlich in den dominierenden Rübsen-Flussuferpopulationen und 17.000 in den selteneren Unkrautpopulationen.

Raps (♀) × Rübsen (♂)

Im Vergleich wurde der Genfluss von der Wildart in die Kulturart, d.h. mit Raps als Mutterpflanze (♀) und Rübsen als Pollendonor (♂), seltener unter natürlichen Bedingungen experimentell untersucht, obwohl dieser Weg vor allem in sympatrischen, ruderalen Beständen außerhalb der Anbauflächen möglich ist. Auch für die Abschätzung der Wahrscheinlichkeit des Genflusses bei transplastomischem Raps (Transgen in das Chloroplastengenom integriert) ist die Richtung von Raps (♀) in Rübsen (♂) entscheidend. Da Chloroplasten bei Hybridisierungen zwischen Raps und Rübsen ausschließlich maternal vererbt werden (Johannessen et al. 2005), gelten diese als relativ „sichere“ Stelle für die Integration von Transgenen in das

Rapsgenom, denn sie können nur weitergegeben werden, wenn Raps als mütterlicher Elter fungiert. Bei gemischter Bestäubung erhält die Narbe eine Mischung konkurrierender Raps- und Rübsenpollen. Dabei ist Rübsenpollen weniger fit auf Raps, jedoch sind beide Pollentypen gleich fit auf Rübsen (Hauser et al. 1997). Bei gemischter Bestäubung überleben Hybridzygoten seltener als arteigene Zygoten, besonders in Rapsschoten. Dies steht im Gegensatz zur Bestäubung mit reinen Pollen, bei der Hybride besser auf Raps als auf Rübsen überleben. Alles in allem ist unter natürlichen Bedingungen die Wahrscheinlichkeit von Hybridsamen auf Raps niedriger als auf Rübsen (Hauser et al. 1997). So zeigte Jørgensen und Andersen (1994) bei einem ausgeglichenen Verhältnis beider Arten 9% Hybridsamen auf Raps und 13% auf dem selbstinkompatiblen Rübsen.

Johannessen et al. (2006) untersuchten Raps als mütterlicher Elter hinsichtlich seiner Fähigkeit, Chloroplasten an Rübsen zu transferieren. Raps zeigt bei einem ausgeglichenen Artenverhältnis (1:1) und hoher Pflanzendichte eine relativ hohe Anzahl von Hybridnachkommen (5,3%). Bei einem Raps-dominierten Verhältnis von 3:1 und mittleren bis hohen Pflanzendichten nimmt die Anzahl an Hybridnachkommen auf Raps ab (0,4%). Dies beruht wahrscheinlich auf einer weniger effektiven Bestäubung durch den anteilig unterlegenen Rübsen (Johannessen et al. 2006). Hybridisierungen mit Raps als Mutterpflanze sind am wahrscheinlichsten in normalen Feldern, in denen Rübsen als sehr häufigem Unkraut vorkommt oder in gemischten Beständen beider Arten außerhalb des Anbaus. Scott und Wilkinson (1999) folgern für England, dass Chloroplastentransfer von Raps zu Rübsen nur selten und verstreut stattfindet. Die Wahrscheinlichkeit des „Entkommens“ von Transgenen bei transplastomischen Raps ist demnach abhängig vom Auftreten gemischter Populationen und der Persistenz von Raps außerhalb des Anbaus. In dieser Studie konnten keine Hybride im Saatgut von Raps nachgewiesen werden, allerdings treten gemischte Bestände regelmäßig im Untersuchungsgebiet auf (z.B. Wildäcker und verwilderte Populationen).

4.8.6.2 Hybridfitness

Ob sich Hybride langfristig etablieren können und Introgression stattfindet, hängt von der Fertilität und der Fitness der F_1 -Hybride und ihrer Folge-

generationen ab. Fitness wird definiert als der proportionale Anteil an Nachkommen, die ein Individuum zur nächsten Generation beiträgt (Hails & Morley 2005). Wurde vormals angenommen, dass Hybride evolutionär von eher geringer Bedeutung sind, haben in den letzten Jahrzehnten zahlreiche Studien gezeigt, dass Hybridisierungen einen wichtigen Artbildungsprozess darstellen und keinesfalls alle Hybride eine Fitnessdepression aufweisen (Arnold 1992, Arnold & Hodges 1995, Rieseberg 1997). Die Fitness von Hybriden wird in der Regel relativ zu den Elternarten bestimmt und ist umweltabhängig. Hybride, die relativ zu den Eltern im Habitat der Eltern in ihrer Fitness reduziert sind, können unter anderen Umweltbedingungen eine erhöhte Fitness aufweisen und sogar invasiv werden (z.B. Baumel et al. 2001: *Spartina anglica*, Bleeker 2003: *Rorippa xamoracioides*, Rieseberg et al. 2007: *Helianthus*). Eine Aufspaltung vorteilhafter Merkmalskombinationen der Eltern führt häufig zu einer reduzierten Fertilität der Nachkommen (engl. outbreeding depression, Kapitel 4.15). In einigen Fällen können vorteilhafte Kombinationen elterlicher Merkmale eine erhöhte Fitness von Hybriden relativ zu den Eltern bedingen (engl. hybrid vigor, Hails & Morley 2005). Beide Prozesse machen die Vorhersage von Introgression schwierig.

Fitness der F₁-Generation

Zur Beschreibung der Fitness eignen sich vegetative Fitnessparameter (z.B. Überleben von Keimlinge, Überleben im Feld; Konkurrenz, Biomasse, Schädlings-, Krankheitsresistenz) und generative Parameter (z.B. männlich: Pollenfertilität, weiblich: Samenansatz). Zahlreiche Studien haben unterschiedliche Fitnesskomponenten von triploiden F₁-Hybriden aus Raps und Rübsen (Genomzusammensetzung AAC, 2n=29) und ihren Folgegenerationen (F₂, BC) untersucht. Dabei zeigten Hybridsamen vermehrt eine vorzeitige Keimung in der Schote, insbesondere wenn Rübsen die Mutter stellt (Hauser & Østergård 1999).

Raps als Mutterpflanze (männlich steril) zeigt bei Bestäubung mit fast allen Wildkruzifereen einheitlich kleine Hybridsamen. Kleine Samen sind meist im Vergleich zu größeren in ihrer Fitness (Etablierung unter Feldbedingungen, Biomasse) stark reduziert. Samen aller Größenklassen konnten nur bei Bestäubung durch *B. rapa* beobachtet werden (Wei & Darmency 2008).

Hauser et al. (1998a) konnten zeigen, dass triploide F_1 -Hybride in ihrer Fitness (Überleben im Feld, Schotenansatz, Samenzahl) zwischen ihren Eltern liegen und dabei eine höhere Fitness besitzen als Rübsen. Zwischen den Nachkommen unterschiedlicher Pflanzen oder Sorten wurden genotypische Unterschiede beobachtet. Ammitzbøll et al. (2005) zeigten, dass die Photosynthesekapazität der F_1 -Hybride in derselben Höhe liegt wie die der Eltern. Die Hybride wiesen jedoch eine reduzierte reproduktive Fitness (Pollenfertilität, Samenansatz) auf. In den Versuchen von Sutherland et al. (2006) reagierten F_1 -Hybride bei Fraß an Keimlingen negativ hinsichtlich ihrer adulten Biomasse und signifikant schlechter als Raps. Insgesamt schnitten die Hybride bei Fraß- und Konkurrenzsituationen schlechter ab, was das seltene Auftreten von F_1 -Hybriden im Feld erklären könnte (Sutherland et al. 2006). In natürlichen Rübsen-Flussuferpopulationen benachbart zu Rapsfeldern, wiesen die F_1 -Hybride eine geringere Samenzahl pro Schote, jedoch mehr Schoten als Rübsen auf und kamen insgesamt etwa auf die halbe Samenzahl von Rübsen. Die Samen zeigten eine hohe Keimrate. Die F_1 -Hybride waren wenig effektiv als Bestäuber (16,9% von Rübsen) und trugen somit nur gering zur Nachkommenschaft auf Rübsen bei (Allainguillaume et al. 2006).

Die Pollenfertilität gilt als wichtiges Maß für die Beurteilung der männlichen Fitness von Hybriden. Triploide Hybride weisen oft wegen Störungen der Meiose eine deutlich reduzierte Pollenfitness auf (z.B. Kerlan et al. 1992, Warwick et al. 2003, Bleeker & Matthies 2005). In der vorliegenden Studie zeigten alle triploiden Hybride einige vitale Pollenkörner. Jedoch war die Pollenfertilität reduziert und lag zwischen 47-70 Prozent. Andere Studien zeigten Mittelwerte von 33% (Pertl et al. 2002), 43% (7-69%, Mikkelsen et al. 1996), 46% (Hauser et al. 1998a), Spannweiten zwischen 59-84% (Leflon et al. 2006), oder auch extreme individuelle Unterschiede mit komplett sterilen Pflanzen und Individuen mit einer Fitness in derselben Höhe wie die Eltern (maximal 97%, im Mittel 55%, Warwick et al. 2003). Unterschiede zwischen Studien können auf verschiedenen elterlichen Genotypen basieren (Leflon et al. 2006). Zusammenfassend ergibt sich ein heterogenes Bild: die triploiden, semi-fertilen F_1 -Hybride sind in manchen Studien den Eltern deutlich unterlegen, während manche Studien eine den Eltern entsprechende Fitness beobachteten. Individuelle Unterschiede sind

häufig, und in zahlreichen Studien sind zumindest einzelne Pflanzen so fit wie die Elternarten.

Fitness der F₂- und Rückkreuzungsgenerationen

Für die Introgression von (Trans-)Genen ist nach erfolgreicher Hybridisierung und Bildung (semi-)fertiler F₁-Hybride die Fitness der F₂- (F₁×F₁), Rückkreuzungs- (F₁×Elter) und weiterer Folgegenerationen entscheidend (Jenczewski et al. 2003). Die Fitness von Folgegenerationen wurde zwar in der vorliegenden Studie nicht untersucht, jedoch soll die Bedeutung und Ergebnisse anderer Studien hier umrissen werden, um eine Abschätzung der Wahrscheinlichkeit von Introgression von Rapsgenen in Rübsen zu ermöglichen. Zumeist wurde eine reduzierte Fitness der F₂- und Rückkreuzungsgenerationen von Raps und Rübsen beobachtet. Ammitzbøll et al. (2005) dokumentierten in der ersten Rückkreuzungsgeneration eine niedrigere Photosynthesekapazität als in der F₁-Generation sowie eine reduzierte reproduktive Fitness. Bei Mikkelsen et al. (1996) zeigten sowohl die F₁- als auch die erste Rückkreuzungsgeneration mit Rübsen eine niedrige Pollenfertilität (43% bzw. 39%). In den Studien von Hauser et al. (1998a, 1998b) wies zunächst die F₁-Generation eine mittlere Fitness auf, während die Folgegenerationen eine deutliche Reduktion der Fitnessparameter (Samenentwicklung, Überleben im Feld, Samen- und Schotenansatz) im Vergleich zu den Eltern zeigten. Trotzdem waren einige Hybride so fit wie die Eltern. Die Pollenfertilität der Folgegenerationen war relativ hoch, besonders bei Rückkreuzung mit Raps (zwischen 38% für F₁×Rübsen und 71% für Raps×F₁, Hauser et al. 1998b). Snow et al. (1999) beobachteten bei Rückkreuzung der Hybride mit Rübsen in der BC₃-Generation Nachkommen mit Pollenfertilitäten in derselben Höhe wie Rübsen. In natürlichen Rübsen-Populationen zeigten Hybride mit intermediären Genomstrukturen (unterschiedliche Generationen) zumeist eine reduzierte männliche Fertilität. Mit dem Erreichen des diploiden Levels kann die männliche Fertilität der Rückkreuzungsgenerationen wieder das Niveau der Eltern erreichen (Warwick et al. 2008). Die weibliche Fitness (Samenproduktion) kann auch bei reduzierter männlicher Fitness hoch sein und ist abhängig von der Pflanzendichte und der Artenzusammensetzung (Zusammensetzung der Pollenwolke, Pertl et al. 2002, Hauser et al. 2003). Halfhill et al.

(2005) beobachteten, dass Hybridisierungen zu einer reduzierten Produktivität und Konkurrenzkraft unter Feldbedingungen im Vergleich zu Rübsen führten, wobei die Wachstumsraten von der F_1 - zu den Rückkreuzungsgenerationen (mit Rübsen) hin abnahmen und auf dem diploiden Level nicht wiederhergestellt waren. Zusammengefasst deuten die Studien auf eine durchschnittlich reduzierte Fitness der Folgegenerationen hin.

Einfluss von Transgenen auf die Fitness

Transgene Eigenschaften können die Fitness von Hybriden beeinflussen. Sie werden in Raps-Rübsen-Hybriden stabil und im selben Maße wie in Raps exprimiert (Ammitzbøll et al. 2005). Während in natürlichen Habitaten Herbizidresistenzen keinen Selektionsvorteil bieten, können Schädlingsresistenzen (z.B. *Bt*-Transgene) Fitness von Hybriden erhöhen (Mason et al. 2003, Vacher et al. 2004). Ohne Selektionsdruck besteht zwischen herbizidresistenten (HR) und nicht-transgenen Hybriden keine Unterschiede in Fitnessparametern (Überleben, Samenzahl), sodass angenommen werden kann, dass keine oder vernachlässigbare Kosten mit dem Behalt des HR-Transgens assoziiert sind und Transgene in natürlichen Populationen überdauern können (Snow et al. 1999). In kanadischen Unkrautrübsen konnten Warwick et al. (2008) die Introgression von HR-Genen aus Raps und die Persistenz dieser über einen Zeitraum von sechs Jahren in Abwesenheit von Selektionsdruck (Herbizideinsatz) trotz reduzierter Vitalität und Fertilität von Hybriden und ihrer Folgegenerationen nachweisen.

Teil 3: Tetraploider Rübsen

Tetraploider Rübsen wurde im Untersuchungsgebiet in angebauten und verwilderten Beständen mehrfach aufgefunden. Diese kommen sympatrisch sowohl mit diploidem Rübsen, Raps und Kohl und anderen Brassicaceae vor. In Handkreuzungen konnte gezeigt werden, dass aus Kreuzungen zwischen Raps und tetraploidem Rübsen weniger Samen resultierten als aus solchen zwischen Raps und diploidem Rübsen. Im Freilandversuch fand Genfluss

zwischen Raps (♂) und tetraploidem Rübsen (♀) unter natürlichen Bestäubungsbedingungen in erheblichem Maße statt. Unter den Nachkommen von tetraploiden Rübsen zeigten 84 (von 517) Pflanzen morphologische und/ oder molekulare Merkmale des potenziellen Vaters Raps. Die männliche Fertilität der Hybride war mit durchschnittlich 82,5% relativ hoch. Vier Nachkommen waren hexaploid. Es ist anzunehmen, dass neben Hybridisierungen auch Aneuploidie für die von den Erwartungswerten abweichenden relativen DNA-Gehalte der Nachkommen verantwortlich ist.

4.9 Tetraploide Rübsensorten

Neben dem diploiden Rübsen als Kulturpflanzen sind auch verschiedene autotetraploide Rübsen seit Mitte des zwanzigsten Jahrhunderts Objekte der Züchtungsforschung (Schwanitz 1948; Parthasarathy & Rajan 1953, Swaminathan & Sulbha 1959, Srinivasachar & Singh 1967, Abel & Becker 2007). In Deutschland, Österreich, Schweden, Australien und Neuseeland werden verschiedene tetraploide Rübsensorten (Deutschland: Perko PVH, Buko und Malwira; KWS Saat AG bzw. Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG) als Viehfutter angebaut (Pascher et al. 2001, Heenan et al. 2004, Heyland 2006, Abel & Becker 2007). Tetraploiden Rübsensorten sind in Deutschland schon seit Ende der 1960er Jahre zugelassen (Bundessortenamt 2003). Die in dieser Studie verwendeten Sorten Perko PVH und Buko sind winterannuell und finden vor allem als Zwischenfrucht zur Gründüngung, als Grünfutter, als Weide, bei Flächenstilllegung und als Koferment zur Biogasgewinnung Anwendung. Außerdem sind sie Bestandteil verschiedener Mischungen, z.B. in Blühstreifen-, Wildacker- oder Äsungsmischungen. In seiner Morphologie unterscheidet sich tetraploider *B. rapa* nur durch größere Blüten und einen kräftigeren Wuchs von diploidem Rübsen. Das tetraploide Genom ($2n=4x=40$, AAAA) entstand bei Perko PVH durch autopolyploide Hybridisierung der Unterarten Chinakohl und Winterrübsen, bei Buko wurde anschließende Stoppelrübe eingekreuzt (KWS Saat AG).

4.10 Kartierungen von tetraploiden Rübsen 2004-2008

Tetraploider Rübsen kommt im Untersuchungsgebiet sowohl als angebaute Nutzpflanze als auch in verwilderten Populationen an Ackerrändern und ruderalen Standorten vor. In allen Untersuchungsjahren konnten gemischte Bestände aus tetraploiden Rübsen und diploiden Rübsen bzw. Raps dokumentiert werden (Tabelle 3.12). Sowohl diploider Rübsen als auch Raps kommen somit als potenzielle Kreuzungspartner von tetraploidem Rübsen in Frage. Vor allem in Wildackermischungen und Blühstreifen werden tetraploide Rübsen, diploide Rübsen, Raps und weitere Arten aus den Brassicinae gemeinsam angebaut, zum Teil in direkter Nachbarschaft zu Rapsfeldern (Abbildung 38). Viele der Wildackermischungen bleiben für mehr als zwei Vegetationsperioden erhalten oder es wird in den Folgejahren am selben Fundort erneut eine Mischung ausgebracht. Aus diesen Gründen sind Wildackermischungen im Hinblick auf Genfluss zwischen den Arten von besonderem Interesse (Kapitel 4.13 und 4.15). Die Kartierungen zeigten, dass tetraploider Rübsen etwas früher blüht als Winterraps. Im Freilandversuche mit Unkrautraps unterschieden sich tetraploider Rübsen und Winterrapsarten nach Vernalisation im mittleren Blühbeginn knapp fünf Tage (Tabelle 7.4 im Anhang D). Im Freilandversuch mit tetraploiden Rüb-



Abbildung 38: Wildäcker mit tetraploidem Rübsen benachbart zu Rapsfeldern. Linkes Foto: Auf der linken Seite ist ein Wildäcker im zweiten Jahr (2008) bestehend aus Raps, tetraploidem Rübsen und diploidem Rübsen (Pop 287) zu sehen, der rechts an ein Rapsfeld grenzt (hier zu Blühbeginn). Rechtes Foto: Wildäcker mit tetraploidem Rübsen bei Hagen a.T.W., im Hintergrund ein Rapsfeld (2008).

sen blühten erste Rübsen etwa 12 Tage vor den ersten Rapspflanzen. Sowohl hinsichtlich des Blühfensters als auch des Vorkommens besteht im Untersuchungsgebiet die Möglichkeit zur Kreuzbestäubung von tetraploiden Rübsen und Raps.

4.11 Kreuzungsversuche mit tetraploiden Rübsen

Der Vorversuch (Kapitel 3.9) zeigte, dass tetraploider Rübsen sowohl mit diploidem Rübsen als auch mit Raps bei Handbestäubung kreuzt. Es entwickelten sich normale, keimfähige Samen, die zumindest teilweise zu lebensfähigen, fertilen Pflanzen heranwuchsen. Daraufhin wurde in einem umfassenden Kreuzungsversuch (Kapitel 3.10) der Kreuzungserfolg zwischen tetraploidem Rübsen (r_4), diploidem Rübsen (r_2) und Raps (n) in reziproken Handbestäubungen untersucht.

Es wurde zunächst vermutet, dass aufgrund der Ploidie und einer weit reichenden Homologien zwischen dem A und dem C-Genom (Leflon et al. 2006) die homoploide Kreuzung zwischen tetraploidem Rübsen und (tetraploidem) Raps erfolgreicher ist als die heteroploide Kreuzung zwischen diploidem Rübsen und Raps. Aus der ersten Kreuzung resultieren, wenn bei Eltern reduzierte Gameten beisteuern, tetraploide Nachkommen mit einem aneuploiden Chromosomensatz von $2n=4x=39$ und der Genomkombination AAAC. Aus der Kreuzung von diploiden Rübsen und Raps resultieren triploide Nachkommen mit der aneuploiden Chromosomenzahl $2n=3x=29$ und der Genomzusammensetzung AAC. Der Kreuzungsversuch zeigte, dass Hybridkreuzungen zwischen Raps und Rübsen deutlich erfolgreicher waren, wenn diploider und nicht tetraploider Rübsen beteiligt war. Warum dies so ist, bleibt unklar. Im Freilandversuch wurde nichtsdestotrotz umfangreicher Genfluss zwischen tetraploiden Rübsen und Raps nachgewiesen, der zu zahlreichen fertilen Nachkommen führte (Kapitel 4.12).

Bei der Kreuzung von diploidem Rübsen mit Raps ist der (tetraploide) Raps signifikant erfolgreicher als Mutterpflanze, als der reziproke Ansatz mit diploidem Rübsen als Mutter. Bei reziproken Kreuzungen beider Rübsen-Zytotypen ($r_2 \times r_4$ und reziprok) wurden insgesamt nur sehr wenige Samen erzeugt. Diese beiden Ergebnisse stimmen mit Berichten aus der Literatur überein: Kreuzung von tetraploiden mit diploiden Zytotypen, die in triploiden

Nachkommen resultieren, sind bei vielen Arten nicht erfolgreich (engl. triploid block, Ramsey & Schemske 1998). Wenn jedoch triploide Nachkommen entstehen, so werden oft reziproke Unterschiede in der Richtung der Kreuzung beobachtet. Dabei sind Kreuzungen von Autotetraploiden mit ihren diploiden Vorfahren meist erfolgreicher, wenn die Mutterpflanze die höhere Ploidie aufweist (Ramsey & Schemske 1998). Kreuzungen zwischen autotetraploiden, asiatischen *B. rapa* Unterarten mit diploiden Zytotypen zeigen fast keine triploiden Nachkommen - und wenn doch, dann nur mit dem tetraploiden Zytotyp als Mutterpflanze (Nishiyama & Inomata 1966). Reziproke Unterschiede wurden ebenfalls bei Kreuzungen von autotetraploidem Kohl mit diploidem Kohl beobachtet (Howard 1939, zitiert nach Ramsey & Schemske 1998). Auch bei interspezifischen Kreuzungen von Raps und Rübsen bestehen solche reziproken Unterschiede (FitzJohn et al. 2007).

Während die Nachkommen der Vorversuche hinsichtlich ihrer Ploidie bereits untersucht wurden, steht die Untersuchung der Nachkommenschaft aus dem Hauptversuch noch aus. Die Nachkommen der Kreuzungen beider Rübsen-Zytotypen ($r_2 \times r_4$ und reziprok) waren in den Vorversuchen sowohl triploid als auch tetraploid, letztere vermutlich unter Beteiligung von unreduzierten Eizellen des diploiden Rübsens. Der triploide Nachkomme war in seiner Pollenfertilität deutlich reduziert (<40%), wahrscheinlich aufgrund von Meiosestörungen durch den ungeraden Satz homologer Chromosomen. Die beiden tetraploiden Nachkommen zeigten unreduzierte Pollenfertilitäten (>95%). Aufgrund der genomischen Stabilität der tetraploiden F_1 -Hybride (AAAA, entstanden unter Beteiligung von unreduzierten Gameten des diploiden Rübsens) und der hohen Fertilität ist Introgression von diploiden in tetraploide Rübsen wahrscheinlicher als umgekehrt.

Die Nachkommen aus den Kreuzungen zwischen Raps und tetraploiden Rübsen werden zusammen mit den Nachkommen des Freilandversuches im folgenden Kapitel 4.12 behandelt.

4.12 Freilandversuch mit tetraploiden Rübsen

Diese Untersuchung ist der erste Nachweis für Genfluss von Raps zu tetraploiden Rübsen als Mutterpflanze in einem Freilandversuch. Zahlreiche

erfolgreiche Hybridisierungen konnten unter normalen Bestäubungsbedingungen nachgewiesen werden. Die Versuchsbedingungen sollten das Auftreten einzelner tetraploider Rübsenpflanzen innerhalb oder in Nachbarschaft von Rapsfeldern oder verwilderten Rapspopulationen simulieren. Die Morphologie der juvenilen Nachkommen, ihr relativer DNA-Gehalt sowie molekulare Marker (SSR) wurden verwendet, um das Ausmaß von Hybridisierungen abzuschätzen. Zwischen den Methoden zeigten sich auffällige Unterschiede in der Zahl der gefundenen auffälligen Pflanzen und potenziellen Hybride. Unabhängig davon ist die geschätzte Hybridisierungsrate eher hoch, verglichen mit den meisten Hybridisierungsraten, die für diploiden Rübsen und Raps berichtet worden sind. Die Hybride zeigten unterschiedliche morphologische Merkmale, waren lebensfähig und fertil.

4.12.1 Identifizierung und Charakterisierung der Hybride

4.12.1.1 Morphologie

Die Morphologie von F_1 -Hybriden zwischen Raps und nahen Verwandten ist oft ähnlich wie die des mütterlichen Elters (Chèvre et al. 2004). Warwick et al. (2003) berichten, dass alle triploiden Hybride zwischen diploiden Rübsen und Raps ausschließlich Merkmale der Mutterpflanze Rübsen zeigen, während Halfhill et al. (2002) intermediäre morphologische Merkmale zwischen den Elternarten beobachteten. Im Vorversuch zeigten alle potenziellen Hybridnachkommen zwischen tetraploiden Rübsen und Raps morphologische Merkmale des Vaters. Nachkommen aus dem Freilandversuch, in denen Raps-Allele nachgewiesen wurden, zeigten entweder morphologische Merkmale von Rübsen, eine Mischung von Merkmalen beider Eltern oder ausschließlich väterliche Rapsmerkmale. Morphologische Merkmale als einziges Kriterium, um Hybride zu identifizieren, führen folglich zu einer starken Unterschätzung der Hybridisierungsrate. Diese Feststellung wird dadurch gestützt, dass in 12,7% der zufällig ausgewählten, unauffälligen Pflanzen Rapsallele gefunden wurden. Auf der anderen Seite wurden in 14 Nachkommen mit morphologischen Rapsmerkmalen, die auf Hybridisierungen hindeuten, keine Rapsallele gefunden (Abbildung 31). Zwei mögliche Gründe hierfür sind, dass entweder tetraploider Rübsen für mindestens eines der morphologischen Merkmale,

die zur Hybriddetektion verwendet wurden, variabel ist oder dass der Pollenspender Raps keinen Gameten mit einem diagnostisches Allel an einem der fünf SSR Loci zur Verfügung gestellt hat. Eine gute Übereinstimmung in Anzahl der detektierten Hybride bestand zwischen der Blattfarbe und den molekularen Daten: Von 28 Nachkommen mit bewachsenen Blättern zeigten 25 auch Raps-Allele.

4.12.1.2 Relativer DNA-Gehalt

Hybride aufgrund ihres relativen DNA-Gehaltes zu identifizieren, erwies sich als problematisch. Zunächst wurde beobachtet, dass in den Kartierungen nicht alle morphologisch als tetraploide Rübsen identifizierte Pflanzen hinsichtlich ihres relativen DNA-Gehaltes exakt den Erwartungswerten entsprachen (Kapitel 3.6.1). Auch unter den Nachkommen des Freilandversuches und in den Vorversuchen wichen einige Nachkommen von den Erwartungswerten ab (Kapitel 3.9). Die Untersuchungen der Nachkommenschaft aus dem Freilandversuch führte zu der Annahme, dass das Auftreten ungewöhnlicher Ereignisse während der Meiose im autotetraploiden Rübsen zu von den Erwartungswerten abweichenden DNA-Gehalten führt.

Von den 517 Nachkommen aus dem Freilandversuch zeigten 513 relative DNA-Gehalte im tetraploiden Bereich. Allerdings wurde eine sehr breite Spanne an Werten gemessen, die von Pflanzen mit geringeren DNA-Gehalten als tetraploider Rübsen, über solche mit Werten, wie sie für interspezifische Hybride zu erwarten wären, bis zu solchen mit größeren Werten, als sie für interspezifische Hybride zu erwarten wären, reichte (Abbildung 30). Der Großteil der Nachkommen aus dem Feldversuch mit tetraploiden Rübsen (433) zeigte relative DNA-Gehalte innerhalb der Spanne von tetraploiden Rübsen. Jedoch konnten auch in einigen dieser (durchflusszytometrisch und morphologisch) unauffälligen Nachkommen Rapsallele gefunden werden (Abbildung 28).

Von den 84 Nachkommen mit relativen DNA-Gehalten außerhalb der Spanne von tetraploiden Rübsen lagen nur 35 der innerhalb des Erwartungswertes \pm SD für den tetraploiden Hybriden AAAC. In 27 dieser Pflanzen wurden auch Rapsallele gefunden.

Vier Nachkommen waren hexaploid, einer dieser konnte dem Erwartungswert +/- Standardabweichung des Hybriden AAAACC zugeordnet werden. Dies deutet auf die Beteiligung eines unreduzierten Rapspollens hin. Unreduzierte Gameten kommen bei beiden Geschlechtern in der Gattung *Brassica* nicht selten vor (Heyn 1976). In Raps treten etwa 12% unreduzierte Pollen auf (Pan et al. 2004).

Zwanzig der verbleibenden 45 Nachkommen mit relativen DNA-Gehalten außerhalb der Spannweite von tetraploiden Rübsen hatten ebenfalls Rapsallele. Nachkommen mit DNA-Gehalten, die von der Mutterpflanze abweichen, können nicht nur durch Hybridisierungen entstehen. Alternativ kann auch Aneuploidie (der Besitz von mehr oder weniger Chromosomen als einem genauen Vielfachen des einfachen Chromosomensatzes) die Ursache hierfür sein. Aneuploidie beruht auf Unregelmäßigkeiten während der Reduktionsteilung (Meiose), welche im Normalfall zur Bildung von Gameten mit einfachem Chromosomensatz (n) führt. In der meiotischen Prophase I findet im Stadium des Zygotäns die Zusammenlagerung der homologen Chromosomen der Länge nach statt, sodass im folgenden Pachytän die Zahl der Chromosomenpaare (Bivalente) der einfachen Chromosomenzahl entspricht. Autotetraploider Rübsen besitzt nicht nur zwei sondern vier homologe Chromosomen, die sich nicht nur als zwei Bivalente, sondern auch als ein Tetravalent oder je ein Tri- und ein Univalent paaren können. Bei den anschließenden Aufteilungen der Chromosomen auf die Tochterzellen in der Anaphase I und in der folgenden Meiose II kann es deshalb geschehen, dass unbalancierte Gameten mit aneuploider Chromosomenzahl (meist mit einem Chromosom mehr oder weniger) entstehen. Chromosomenzählungen wären erforderlich, um diese Annahme zu bestätigen. Aneuploide Nachkommen wurden in mehr als 30% der neopolyploiden Taxa beobachtet (Ramesey and Schemske 2002), meist mit Zytotypen, die in einem Chromosom vom regulären Chromosomensatz abweichen ($2n+/-1$). In jungen autotetraploiden Züchtungen aus der asiatischen Unterart *B. rapa* ssp. *dichotoma* wurden im Mittel 2,5 Multivalente pro Zelle in späteren Generationen beobachtet. Trotzdem zeigten alle untersuchten Generationen hohe Pollenfertilitäten von mehr als 90% (Swaminathan and Sulbha 1959). Auch bei Kreuzungen von diploidem und tetraploiden *B. oleracea* wurden 31% Nachkommen mit aneuploiden

Zytotypen beobachtet (Heyn 1976). Insgesamt werden aneuploide Zytotypen häufiger in polyploiden als in diploiden Populationen beobachtet, zeigen in Polyploiden weniger abweichende Phänotypen und eine höhere reproduktive Fitness als in diploiden Populationen (zusammengefasst in Ramsey and Schemske 2002).

Es wird angenommen, dass Aneuploidie entscheidende Auswirkungen auf die Evolution innerhalb der Gattung *Brassica* hatte (Chromosomenzahlen innerhalb der Gattung variieren zwischen 7-11, Al-Shehbaz 1985).

4.12.1.3 Mikrosatelliten-Untersuchungen

Rapsallele wurden in 13,5% (70 von 517) lebensfähigen Nachkommen von tetraploidem Rübsen gefunden. Jedoch konnten weder die morphologischen noch die Mikrosatelliten-Untersuchungen allein alle Hybride aufspüren. Die hohe genetische Variation an den analysierten Loci führte wahrscheinlich zu einer Unterschätzung des Ausmaßes der Hybridisierungen. Allele, die in der Nachkommenschaft, nicht aber in den Raps-Referenzpflanzen gefunden wurden, deuten darauf hin, dass weitere Allele in den Rapspflanzen, die als Pollenspender verwendet wurden, vorkamen. Demnach war die Stichprobe an Referenzpflanzen nicht ausreichend umfangreich. Eine Kombination der morphologischen und molekularen Hinweise für Hybridisierungen führte zu einer geschätzten Hybridisierungsrate von 16,2% (Abbildung 31). Die individuellen Hybridisierungsraten zwischen den Mutterpflanzen variierten zwischen 0% (Kreise H, M und O) und 51% (Kreis K).

Ein gutes Beispiel für die Notwendigkeit der Kombination der Ergebnisse aus den molekularen und morphologischen Untersuchungen liefern auch die vier hexaploiden Nachkommen, von denen nur drei Rapsallele besaßen. Der Vierte zeigte unbehaarte, bewachste Blätter als morphologische Rapsmerkmale. Auch wenn eine hohe Ploidie auch durch intraspezifische Kreuzungen zustande kommen kann, passt in diesem Fall der DNA Gehalt exakt zu einem interspezifischen Hybriden (AAAACC), und die morphologischen Merkmale sprechen ebenfalls für eine Hybridisierung.

4.12.1.4 Vergleich von Hybridisierungen von diploiden Rübsen mit Raps und tetraploiden Rübsen mit Raps

4.12.1.5 Hybridisierungsrate

Insgesamt zeigten 84 Pflanzen morphologische oder molekulare Rapsmerkmale. Dies führt zu einer geschätzten Hybridisierungsrate von 16,2% (Abbildung 31). Diese Rate entspricht aufgrund der Markerauswahl wahrscheinlich eher einer minimalen Abschätzung. Trotzdem ist diese Rate höher als Hybridisierungsraten, die in den meisten vergleichbaren Studien mit diploiden Rübsen als Mutterpflanzen beobachtet wurden.

Hybridisierungsraten zwischen Raps und diploiden Rübsen unter natürlichen Bestäubungsbedingungen wurden bereits ausführlich in Kapitel 4.8.6.1 diskutiert. Zum Vergleich seien hier nochmals die Ergebnisse von Warwick et al. (2003) genannt, die mittlere Hybridisierungsraten von 7% in Feldversuchen in Kanada bei Dichten von einer diploiden Rübsenpflanze pro m² beobachten konnten, sowie Halfhill et al. (2004b), die etwa 10% Hybridnachkommen (Verhältnis Raps zu Rübsen 600:1) beobachteten. Hybridisierungsraten in verschiedenen natürlichen diploiden Rübsenpopulationen können sehr variabel sein (Warwick et al. 2003, Simard et al. 2006: zwischen 11% and 17,5% in kanadischen Sommerrapsfeldern, Landbo et al. 1996: 3% bzw. 60% in dänischen Winterrapsfeldern, Scott & Wilkinson 1998, Allainguillaume et al. 2006: zwischen 0,4% und 1,5% in englischen Flussuferpopulationen). Die hohe individuelle Variabilität der Hybridisierungsrate in der vorliegenden Studie an tetraploiden Rübsen (0-51%) ist vergleichbar mit Beobachtungen anderer Autoren an diploiden Rübsen (Landbo et al. 1996: 0-15%, Warwick et al. 2003: 0-53%, Norris et al. 2004: 0-43%, Simard et al. 2006: 0-68%). Besonders einzelne, isolierte diploide Rübsen können extrem hohe Hybridisierungsraten aufweisen (Jørgensen & Andersen 1994: 56% bzw. 93%). Zwischen den beiden verwendeten Rübsensorten konnten keine signifikanten Unterschiede gefunden werden ($P=0,221$).

Da sowohl diploider als auch tetraploider Rübsen selbstinkompatibel sind (Elling, unveröffentlichte Daten), beeinflusst die Entfernung zwischen den Individuen und damit die Verfügbarkeit von arteigenen Kreuzungspartnern

die Hybridisierungsrate in entscheidendem Maße. Große Entfernungen zwischen den einzelnen Rübsenpflanzen führen zu einer abnehmenden intraspezifischen Bestäubung und einer Zunahme der Hybridisierungsrate. Die Verfügbarkeit von Partnern spielt generell eine entscheidende Rolle für die Wahrscheinlichkeit und das Ausmaß interspezifischer Hybridisierungen in selbstinkompatiblen Pflanzenarten (Hauser et al. 2003, Bleeker 2004). Die Distanzen zwischen den tetraploiden Rübsenpflanzen in der vorliegenden Studie waren eher hoch (10m), verglichen mit anderen experimentellen Studien an diploiden Rübsen. Hingegen war die absolute *Brassica*-Pflanzendichte viel geringer als in Rapsfeldern, jedoch in etwa vergleichbar mit der Situation verwilderter tetraploider Rübsen in gemischten Beständen mit Raps oder benachbart zu Rapsfeldern. In den Wildackermischungen werden unterschiedliche Verhältnisse von Raps, Rübsen und weiteren Arten verwendet. Meist sind auf Wildäckern die Distanzen zwischen den selbstinkompatiblen Rübsen geringer als in diesem Freilandversuch. Damit werden intraspezifische Bestäubungen wahrscheinlicher, sodass weniger Hybridnachkommen innerhalb solcher Mischungen zu erwarten sind.

Funk (2006) lieferte bisher die einzige Studie zur Auskreuzung von Raps in die tetraploide Rübsensorte Buko, allerdings blieb die abweichende Ploidie unbemerkt. In benachbarten, reinen Rübsen- und reinen HR-Raps-Beständen konnte er keine Auskreuzungsereignisse nachweisen. In reinen Beständen einer Art dominiert der arteigene Pollen über den artfremden Pollen, sodass die Wahrscheinlichkeit einer Hybridisierung im Vergleich zu gemischten Beständen stark verringert ist.

4.12.1.6 Fitness der Hybride

Die Färbbarkeit der Pollen mit Kaminessigsäure wurde als Maß für die männliche Fertilität und damit männliche Fitness der Hybride verwendet. Die Pollenfertilität der Hybride zwischen tetraploiden Rübsen und Raps (Vorversuche: >70%, Freilandversuch im Mittel 82,5%) liegt höher als die für triploide Hybride zwischen diploiden Rübsen und Raps beobachteten Werte (im Mittel 58%, Kapitel 3.7.2). Für triploide Hybride ist eine niedrige Pollenfertilität aufgrund von Störungen der Meiose zu erwarten. Nahezu sterile triploide Hybride wurden z.B. in *Rorippa* beobachtet (Bleeker &

Matthies 2005), und auch Hybride zwischen Raps und verwandten Gattungen sind oft komplett steril (Eber et al. 1994, Warwick et al. 2003). In triploiden Hybriden zwischen diploiden Rübsen und Raps wurde zumeist eine deutlich reduzierte Pollenfertilität von im Mittel meist weniger als 55% beobachtet (Warwick et al. 2003 und andere, ausführlich in Kapitel 4.8.6.2 behandelt). Individuelle Unterschiede in der Fertilität triploider Raps-Rübsen-Hybride können von komplett sterilen Pflanzen bis zu Pflanzen mit unreduzierter Fertilität reichen (z.B. Warwick et al. 2003: zwischen 0% bis 97%).

Auch im erwarteten tetraploiden Hybriden AAAC sind aufgrund der ungeraden Chromosomenzahl ($2n=39$) Abweichungen in der Meiose anzunehmen. Die Fitness der F_1 -Hybriden ist ein wichtiger Faktor, der die möglichen evolutionären Folgen von Hybridisierungen und die Wahrscheinlichkeit, dass sich Transgene außerhalb des Anbaus etablieren, bestimmt (Jenczewski et al. 2003). Dabei ist die Stabilisierung der Fortpflanzung der Hybride für den Genfluss von Raps zu tetraploiden Rübsen entscheidend. Innerhalb der Nachkommenschaft von tetraploiden Rübsen wurde eine Bandbreite an relativen DNA-Gehalten beobachtet, die auf irreguläre Vorgänge während der Meiose hindeutet. Trotzdem war die Pollenfertilität der Hybridnachkommen hoch und betrug in der Mehrzahl der Hybride über 80% (20 von 35). Sollte, wie vermutet, Aneuploidie für die unterschiedlichen relativen DNA Gehalte der Nachkommen verantwortlich sein, ist ihr Einfluss auf die männliche Fertilität der Raps-Rübsen-Hybride eher gering. Die hohe Pollenfertilität zahlreicher Hybrid-Nachkommen aus der vorliegenden Studie und einzelner Individuen anderer Studien bestätigen, dass Hybride nicht generell in ihrer Fitness reduziert sind verglichen mit den Elternarten. Auch wenn die mittlere Fitness von Hybriden oftmals niedriger ist als die der Elternarten, können einzelne Individuen eine gleiche oder sogar höhere Fitness als ihre Eltern aufweisen und damit ein höheres evolutionäres Potenzial besitzen (Arnold and Hodges 1995). Aus evolutionärer Sicht ist besonders der chromosomal ausbalancierte hexaploide Nachkomme mit der Genomkomposition AAAACC ($2n=58$) interessant, der an sich eine höhere genomische Stabilität aufweisen und damit ein höheres evolutionäres Potenzial besitzen könnte. Als mögliche Alternative zu Futterraps wurde in den 1970er Jahren der Hybrid *B. napocampestris* mit derselben Genomzusammensetzung aus Rübsen und Futterraps erzeugt (Mackay 1973). Die

Bildung hexaploider Nachkommen zeigt, dass stabile polyploide Hybride schon in der F_1 -Generation zustande kommen können, die zur Evolution neuer Unkraut-Genotypen führen könnten. Solche Genotypen könnten den Weg zur Etablierung von Transgenen ebnen.

4.13 Tetraploider Rübsen und *Brassica*-Saatgutmischungen als Trittsteine für Genfluss?

Genfluss zwischen Raps und tetraploiden Rübsen unter natürlichen Bestäubungsbedingungen konnten in vergleichbar hohen Dimensionen beobachtet werden, wie dies für Genfluss zwischen Raps und diploiden Rübsen berichtet wurde, obwohl in den Handkreuzungen weniger Hybride zwischen Raps und tetraploiden Rübsen erzeugt wurden als zwischen Raps und diploiden Rübsen. Die resultierenden F_1 -Hybride waren lebensfähig und zeigten eine hohe männliche Fitness. Das Vorkommen verwilderter Populationen von tetraploiden Rübsen in Deutschland war bisher gänzlich unbekannt, da in Feldstudien die Artbestimmung anhand von morphologischen Kriterien erfolgt und Unterschiede in der Ploidie der Taxa somit unerkant blieben. Im Untersuchungsgebiet wurden in allen fünf Untersuchungsjahren mehrere, zum Teil überdauernde Vorkommen tetraploider Rübsen dokumentiert. Heenan et al. (2004) konnten in Neuseeland verwilderte Vorkommen tetraploider Rübsen sympatrisch mit potenziellen Kreuzungspartnern dokumentieren. Dies zeigt, dass es sich bei tetraploiden Rübsen, die aus dem Anbau verwildern, keinesfalls um ein lokales oder deutsches Phänomen handelt.

In Deutschland werden für Begrünungsmaßnahmen in der freien Natur, insbesondere zur Zwischenbegrünung, zur Bodenverbesserung und als Erosionsschutz sowohl weißer Senf, Ölrettich, Raps als auch Rübsen empfohlen (FLL 2007). Tetraploider Rübsen wird als Zwischenfrucht angebaut und ist Bestandteil von Saatgutmischungen für Blühstreifen und zur Anlockung von Wild (Abbildung 39). In diesen Mischungen können unterschiedliche Sorten von *B. napus* (Ölraps, Futterraps, Steckrübe), *B. rapa* (Rüben- und Blattformen, diploid und tetraploid), *B. oleracea* (verschiedene Futterkohlsorten), *Sinapis alba* und *Raphanus sativus* (Ölrettich) enthalten sein. Oftmals ergänzen weitere Futterpflanzen wie Kleearten, Alfalfa, Buchweizen, Sonnenblume und Roggen die Mischungen,

sodass eine ganz- und mehrjährige Äsung möglich ist und die Fläche somit mehrere Jahre Bestand haben kann. Werden diese Mischungen im Herbst ausgesät, überlappen sich die Blühzeitpunkte mit dem angebauten Winter-raps im folgenden Frühjahr. Bei späterer Aussaat kann Raps in solchen Mischungen später blühen als der angebaute Winter-raps (Breckling et al. 2003).

Wildackermischungen, die verschiedene *Brassica*-Arten enthalten, werden nicht nur in Deutschland sondern auch in anderen europäischen Ländern als auch in Nordamerika angebaut. Zahlreiche Züchter und Händler bieten Saatgutmischungen zur Anlockung von Wild an, die *Brassica*-Arten in unterschiedlichen Zusammensetzungen enthalten (z.B. in Deutschland: Agravis, DSV, Kiepenkerl, Revierberatungsstelle Wolmersdorf 2008; in Österreich: wildacker.at, in England: cropwise, Farm Direct, Kings, in den USA: Cooper Seeds, Imperial Whitetail, Neseeds, Seedland usw., Abbildung 39). In England werden *Brassica*-Mischungen nicht nur zur Anlockung von Hoch- und Niederwild, sondern auch für die Winterfütterung von Vögeln in der Kulturlandschaft empfohlen (Boatman 2002).

Treten beide Rübsen-Zygotypen in gleicher Dichte auf, ist anzunehmen, dass Genfluss von Raps zu tetraploider Rübsen mindestens so häufig ist wie zu diploiden Rübsen. Population 56 (Wildacker) gibt erste Hinweise, dass Rapsgene in tetraploiden Rübsen wandern können, wenn diese miteinander kreuzen. Die Wahrscheinlichkeit interspezifischer Hybridisierungen könnte verringert werden, wenn keine kreuzkompatiblen Arten zusammen in Saatgutmischungen Verwendung fänden. Entsprechend sollten tetraploide Rübsen bei Risikobeurteilungen des Genflusses von Raps in nahe Verwandte unbedingt berücksichtigt werden.



Abbildung 39: Typische Wildackermischungen. Links: „Shot Plot Annual Forage Attractant“ (USA) besteht aus einer veränderlichen Mischung aus Futterraps und Rübsen und wurde in Neuseeland entwickelt (z.B. erhältlich bei www.cooperseeds.com). Mitte: Wildacker mit Hochsitz, im Vordergrund ein tetraploider Rübsen (Pop 287), 2008). Rechts: „Imperial Whitetail Winter Greens“ (USA) besteht aus einer Mischung verschiedener Sorten von Raps, Rübsen und Kohl (www.whitetailinstitute.com).

Teil 4: Genfluss, Hybridisierung und mögliche Folgen am Beispiel Raps

4.14 Genfluss bei Raps

Genfluss auf Landschaftsebene wird räumlich durch die Ausbreitung von Pollen und räumlich und zeitlich durch die Ausbreitung Samen vermittelt (Pivard et al. 2008, Devaux et al. 2008). Intra- und interspezifischer Genfluss ist im Kontext des Anbaus transgener Nutzpflanzen zunehmend in den Fokus der Forschung gerückt. Abbildung 40 zeigt die komplexen Verhältnisse von Genfluss von Raps zu nahen Verwandten, die zu einer Etablierung von Transgenen außerhalb des Anbaus führen können.

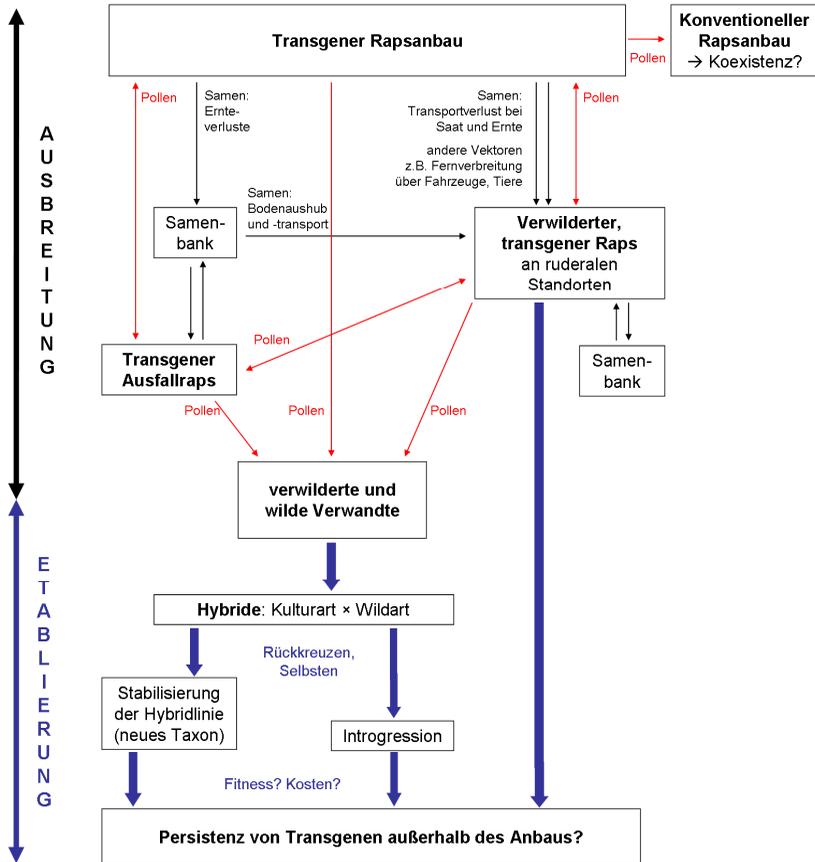


Abbildung 40: Schematische Darstellung der wichtigsten Schritte der Ausbreitung von Transgenen aus dem Rapsanbau und Etablierung außerhalb des Anbaus. Die Transgen-Ausbreitung erfolgt durch Genfluss via Pollen (rote Pfeile) und Samen (schwarze Pfeile). Die Etablierung (blaue Pfeile) erfolgt durch Verwildern von Raps und Hybridisierung zwischen Raps und wilden Verwandten. Teile übernommen und verändert nach Jenczewski et al. (2003).

4.14.1 Genfluss durch Pollen

Genfluss durch Pollen erfordert überlappende Blühzeitpunkte, gemeinsame Vektoren des Pollentransfers und eine ausreichende räumliche Nähe zwischen den kreuzenden Taxa. Raps zeigt im Mittel etwa 30% Auskreuzung (Becker et al. 1992, Hüskes & Dietz-Pfeilstetter 2007). Rapspollen

wird über größere Distanzen von Insekten und durch Wind übertragen. Maximale Pollenflugdistanzen von über drei Kilometern sind experimentell nachgewiesen worden (Rieger et al. 2002). Etwa die Hälfte der Pollen einer Pflanze wird allerdings weniger als drei Meter ausgebreitet (Lavigne et al. 1998). Darüber hinaus findet die Fernverbreitung auf deutlich niedrigem Niveau statt (leptokurtische Verteilung, Jenczweski et al. 2003, Devaux et al. 2005). Die Ausbreitung wird von verschiedenen Faktoren wie die Größe und Form der Quell- und Empfängerpopulationen (-felder), Umweltbedingungen (Luftfeuchte, Windrichtung, Temperatur etc.), Vorhandensein von Insekten, Sorteneigenschaften usw. stark beeinflusst (zusammengefasst in Beckie et al. 2003, Hüsken & Dietz-Pfeilstetter 2007). Rapspollen können zwischen Rapsfeldern, von Feldern zu verwilderten Populationen oder zu nahen Verwandten in Feldnähe übertragen werden.

Die Übertragung von Pollen zwischen Rapsfeldern ist ein Problem für die Koexistenz von transgenem und konventionellem Rapsanbau in einer Region. Durch das Einhalten von Mindestabstände und durch weitere Methoden wie Pufferzonen oder Mantelsaaten sollen Auskreuzungsereignisse unterhalb des Schwellenwertes von 0,9% gehalten werden (Verordnung über die Rückverfolgbarkeit und Kennzeichnung von genetisch veränderten Organismen in Nahrungs- und Futtermitteln, EG Nr. 1830/2003, Europäisches Parlament 2003). Im Bioanbau wird die Nachweisgrenze von 0,1% als Grenzwert bevorzugt. Damgaard und Kjellsson (2005) fassten in einer Meta-Analyse die Daten von mehreren Feldversuchen aus Nordamerika, Europa und Australien zusammen, um generelle Schlussfolgerungen darüber zu ziehen, wie Schwellenwerte eingehalten werden können. Danach sind Auskreuzungen von unter 0,1% nur mögliche, wenn mehr als 100 m Isolationsdistanzen zwischen transgenen und nicht-transgenen Rapsfeldern eingehalten werden, und das Empfängerfeld mindestens eine Breite von 200 m (Größe etwa 4 ha) besitzt. Um unter 0,3% Auskreuzung zu gelangen, reichen Isolationsdistanzen von 50 m auch für kleinere Felder (unter 4 ha) aus. Eine Mantelsaat (Streifen mit konventionellem Raps um das Empfängerfeld, der bei Ernte als GM-Raps deklariert wird) von fünf Metern reduziert die Auskreuzung etwa um ein Drittel (Damgaard & Kjellsson 2005). Hüsken und Dietz-Pfeilstetter (2007) fassen verschiedene Studien zusammen und empfehlen, um weniger als

0,5% Auskreuzung einzuhalten, die Einrichtung von zehn Meter breiten Mantelsaaten statt großer Isolationsdistanzen, da die größte Auskreuzungsrate in diesen ersten Metern stattfindet. Durch die Verwendung männlich steriler Sorten oder die Integration der Transgene in die maternal vererbten Chloroplasten kann die Ausbreitung von Transgenen durch Pollen reduziert werden (Scott & Wilkinson 1999, Daniell 2002, Hou et al. 2003). Beides verhindert aber nicht Genfluss durch Samen.

Im Untersuchungsgebiet überlappen sowohl angebauter und verwilderten Raps, als auch Raps und nah verwandte Arten in der Blütezeit zumindest partiell, teilen sich Vektoren der Pollenausbreitung und kommen in ausreichender Nähe zueinander vor. Sowohl intra- als auch interspezifischer Genfluss konnte nachgewiesen werden, sodass beim Anbau von transgenem Raps im Untersuchungsgebiet sowohl die Koexistenz verschiedener Anbauformen als auch die intra- und interspezifische Überdauerung von Transgenen außerhalb des Anbaus zu regulieren ist.

4.14.2 Genfluss durch Samen

Rapssamen vermitteln Genfluss nicht nur im Raum sondern können Genfluss auch zeitlich verlängern, indem sie im Boden dormant überdauern. Zu den Unkrautmerkmalen von Raps gehören die sich leicht öffnenden Früchte, welche eine Samenausbreitung ermöglichen. Bei Ernte von Raps kommt es zu großen Samenverlusten in Höhe eines Vielfachen der normalen Saatstärke (im Mittel um 3.000, bis zu 10.000 Samen pro m², Lutman 1993, Gulden et al. 2002, Breckling et al. 2003, Lutman et al. 2005). Ein Züchtungsziel bei Raps sind Schließfrüchte, die die Ernteverluste reduzieren z.B. durch transgene Expression des FRUITFULL Gens aus *Arabidopsis* in *Brassica* (Østergaard et al. 2006). Alternativ wird an sterilen Samen zur Reduktion von Genfluss geforscht (Daniell 2002). Die Bodenbearbeitung nach der Ernte ist entscheidend, ob sich sekundär dormante Rapssamen im Boden zu einer Samenbank akkumulieren und wie stark das Auftreten von Ausfallraps in den Folgejahren ist. Raps besitzt keine primäre Dormanz, aber eine sekundäre Dormanz kann durch Wasserstress und Dunkelheit, d.h. Einbringen in den Boden nach Ernte, induziert werden (Lutman 1993, Schlink 1994, Pekrun et al. 1997, López-Granadoz & Lutman

1998). In den ersten Monaten nimmt die Zahl der keimungsfähigen Samen in der Samenbank stark ab (Roller et al. 2004, Lutman et al. 2005), aber einige Samen können mehr als zehn Jahre sowohl unter ungestörten als auch unter landwirtschaftlichen Bedingungen überdauern (Lutman et al. 2003, Schlink 1998, D'Hertefeldt et al. 2008). Die verbleibenden Samen zeigen eine hohe Keimfähigkeit (z.B. Roller et al. 2004: 75% nach drei Jahren). Rapssamen können in verschiedenen Böden und unter verschiedenen Bodenbearbeitungen unterschiedlich lange überdauern. Zwischen konventionellen und HR-Sorten bestehen dabei keine Unterschiede (Roller et al. 2003, Lutmann et al. 2005, D'Hertefeldt et al. 2008). Raps kann über die gesamte Vegetationsperiode keimen (Schlink 1994), und Volontäre nach dem Anbau können als Quelle für die Genausbreitung dienen. Jørgensen et al. (2007) untersuchten die Bodensamenbanken von Anbauflächen und konnten mit Hilfe von ISSR Markern Volontäre zu Sorten zuordnen, die zuletzt vier bzw. 17 Jahre vorher angebaut worden waren. Simulationen für Norddeutschland zeigen, dass ein einmaliger transgener Rapsanbau aufgrund überdauernder Samen und Volontäre bis zu zehn Jahre nachfolgenden konventionellen Anbau wegen kennzeichnungspflichtiger Anteile im Erntegut ausschließen kann (GenEERA 2007).

Raps kann durch räumliche Ausbreitung der Samen geeignete Habitate außerhalb der Anbauflächen besiedeln. Die relativ kleinen Rapssamen werden unbeabsichtigt bei Saat, Ernte, lokalem Transport der Ernte, adhäsiv durch Fahrzeuge und Bodenverlagerungen in erheblichem Maße verschleppt (Crawley & Brown 1995, Crawley & Brown 2004, Haeupler et al. 2004, Menzel 2006, Von der Lippe & Kowarik 2007a, 2007b). Auf diesem Wege können Samen über große Distanzen ausgebreitet werden und sich verwilderte (evt. auch transgene) Rapspopulationen außerhalb der landwirtschaftlichen Flächen etablieren, obwohl der Ferntransport von Raps in geschlossenen Tanks (Schiffe, Bahn, Tankwagen) erfolgt (Breckling et al. 2003). In Kanada wurde dokumentiert, dass herbizidresistenter Raps an ruderalen Stadorten selbst außerhalb der kanadischen Anbaugelände auftritt und dort mit Rübsen hybridisiert (Yoshimura et al. 2006). Der Import von herbizidresistentem Raps nach Japan zur Weiterverarbeitung hat auch dort zu verwilderten Populationen mit multiresistenten Individuen durch

intraspezifischen Genfluss geführt, obwohl Japan selber keinen kommerziellen HR-Rapsanbau betreibt (Saji et al. 2005, Aono et al. 2006).

Im Osnabrücker Land konnte ein großer Teil der verwilderten Rapspopulationen über mehrere Jahre am selben Standort wieder angetroffen werden. Die jährliche Wiederbesiedlung kann durch Neueintrag von Rapssamen geschehen, auf Samenbildung zurückzuführen sein oder auf dem Vorhandensein einer persistenten Samenbank beruhen. Zumeist wurde angenommen, dass ruderale Rapspopulationen ephemere sind und ausschließlich durch Neueintrag von Samen überdauern (Crawley and Brown 2004). In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass unterschiedliche Mechanismen für die intraspezifische Variabilität verwilderter Rapspopulationen eine Rolle spielen. Sicherlich ist an vielen Standorten der Neueintrag verschiedener Sorten dominierend und führt zur räumlichen Ausbreitung aktuell angebaute Sorten. Hybride zwischen Sorten zeigen aber auch, dass intraspezifischer Genfluss stattfindet und daraus resultierende Nachkommen sich etablieren können. In einigen Beständen konnten auffallende Merkmale über mehrere Jahre (wie die Blütenfarbe in Pop59) beobachtet werden, welche auf Selbsterhaltung und/oder eine persistente Samenbank der verwilderten Population hindeuten.

4.14.3 Interspezifischer Genfluss

Durch interspezifischen Genfluss können Gene zwischen Arten wandern. Dort wo geeignete Voraussetzungen gegeben sind, besteht eine hohe Wahrscheinlichkeit für solche interspezifische Hybridisierungen und Introgression (Hansen et al. 2003, Warwick et al. 2008 und andere). Genfluss von Kulturpflanzen in wilde oder verwilderte Verwandte kann direkt über Pollenfluss erfolgen, wenn, wie im Untersuchungsgebiet, verwandte Kreuzungspartner in ausreichender Nähe der angebaute Kulturpflanzen vorkommen und sie sich in ihren Blühzeitpunkten überschneiden. Alternativ können verwilderte Populationen der Kulturpflanze als Trittsteine fungieren und Genfluss vermitteln. Verwilderter Raps wurde im Untersuchungsgebiet mit potenziellen Kreuzungspartnern an ruderalen Standorten sympatrisch aufgefunden (Kapitel 3.4). In natürlichen, gemischten Beständen von Raps

und diploiden Rüben wurden interspezifische Hybridisierungen nachgewiesen (Kapitel 3.6). Daneben werden Kultursorten der verwandten Arten *B. rapa* (diploid und tetraploid), *B. oleracea*, *S. alba* und *R. sativus* bewusst und gemeinsam als Blühstreifen und Wildäcker angesät (Kapitel 4.13). Da viele Wildackersaatmischungen mehrjährige Arten beinhalten, bleiben die Wildackerflächen oft über mehrere Vegetationsperioden hinweg bestehen. Da die verwendeten Arten außerdem auch verwilderte Populationen bilden, können Wildackerflächen als Trittsteine für Genfluss zwischen Raps und kreuzkompatiblen Verwandten dienen.

Für das Osnabrücker Land sind für den interspezifischen Genfluss von Raps die entscheidenden potenziellen Kreuzungspartner *B. rapa* (diploid und tetraploid) und *R. raphanistrum*. Die entscheidenden Habitate sind ruderale Flächen vor allem in landwirtschaftlichen Gebieten (Ackerrandstreifen und Ackerbrachen, Straßenränder) aber auch in urbanen Bereichen (Straßenränder, Baugebiete). Dazu kommen mehrjährig überdauernde Wildäcker als angesäte potenzielle Hybridzonen.

4.15 Evolutionäre Folgen von Hybridisierung und Introgression

Hybridisierung und Introgression finden vor allem dort statt, wo vormalig durch biogeographische Isolationsbarrieren getrennte Populationen zusammen kommen und miteinander kreuzen können. Für die Überwindung von Isolationsbarrieren und die Ausbreitung gebietsfremder Taxa ist der Mensch der wichtigste Faktor (Ellstrand & Schierenbeck 2000, siehe auch Kapitel 1). Menschliche Aktivitäten schaffen außerdem neue Nischen (z.B. anthropogen gestörte Standorte), in denen sich Hybridabkömmlinge etablieren können. Genfluss von gebietsfremden Pflanzen (inklusive der Kulturpflanzen) in wilde Verwandte kann die Populationen der Wildarten auf verschiedene Art und Weise beeinflussen und in ihrer Existenz bedrohen, besonders wenn diese selten sind (Rhymer & Simberloff 1996, Hails & Morley 2005).

Zunächst können Hybridisierungen als vereinzelte, zufällige Ereignisse auftreten und für die beteiligten Taxa folgenlos bleiben. Allerdings ist die Bildung von Hybridzonen ein gradueller Prozess, der erst nach einer

gewissen Zeit seine Auswirkungen auf die beteiligten Taxa offenbart. Die Bildung von Hybridschwärmen aus unterschiedlichen Hybrid- und Rückkreuzungsgenerationen kann weitreichende Folgen für die genetische Integrität der beteiligten Arten haben und bedroht vor allem seltene Arten. Diese introgressive Hybridisierung kann zu einer Vermischung der Genpools distinkter Taxa führen (Rhymer & Simberloff 1996). Hohe Raten von Genfluss – besonders im Falle einer häufigen Kulturart zu einem lokal seltenen wilden Verwandten – können dabei die Wildart regelrecht „überschwemmen“ und zur nachhaltigen Veränderung des wilden Genpools führen (engl. genetic swamping, genetic assimilation, genetic pollution, Petit 2004, Haygood et al. 2003 u.a.). Im Extremfall kann es zum Verlust der genetischen Integrität der Wildart und durch wiederholte Hybridisierungen und Introgression zur völligen Assimilierung dieser in die häufige Kulturart kommen (Ellstrand et al. 1999). Unabhängig von der Lebensfähigkeit der resultierenden Hybride kann eine übermäßige Dominanz des artfremden Pollens für die seltene indigene Art bedeuten, dass nicht ausreichend arteigene Samen gebildet werden können, um das Bestehen der Population zu gewährleisten.

Die Fitness von Hybriden kann sowohl innerhalb als auch zwischen unterschiedlichen Generationen sehr heterogen sein (Arnold & Hodges 1995, Rieseberg & Carney 1998). Hybridisierungen können auch dann einen negativen Einfluss auf heimische Pflanzenarten haben, wenn die entstehenden Hybride eine geringe Vitalität oder Fertilität aufweisen oder garnicht lebensfähig sind. Diese sogenannte Auszuchtdepression (engl. outbreeding depression) als Folge von Genfluss zwischen genetisch differenzierten Taxa, kann die Fitness der direkten Nachkommen oder späterer Generationen vermindern. Ein Grund für die Reduktion der Fitness kann die Trennung günstiger Gen- oder Merkmalskombinationen sein. Resultieren aus Hybridisierungen Nachkommen mit reduzierter Fertilität bzw. Fitness oder auch sterile Nachkommen, ist eine Vermischung der Genpools (Introgression) unwahrscheinlich. Allerdings kann die Fitness der Population durch die fehlende fertile Nachkommenschaft so stark herabgesetzt werden, dass dies zur Reduktion der Populationsgröße der Wildart, zum Verlust lokal angepasster Genotypen oder sogar zum Aussterben führen kann (Rhymer & Simberloff 1996).

Hybridisierungen können außerdem zur evolutiven Entwicklung eines neuen, hybridogenen Taxons führen (Stebbins 1952). Die Rekombination der elterlichen Genome kann neue Eigenschaften entstehen lassen (z.B. ein gesteigertes Invasionspotenzial). Ein solcher Prozess kann auch in kleinen Populationen stattfinden (Rhymer & Simberloff 1996). Die Rekombination der elterlichen Genome kann neben Heterosiseffekten (Hybridüberlegenheit) zu einer höheren genetischen Variation führen, die als Basis für adaptive Veränderungen der Hybridelinie dienen kann. Fixierte Heterozygotie wie in allopolyploiden Hybriden (z.B. in den amphidiploiden *Brassica*-Arten) kann sowohl die Hybridlinie stabilisieren als auch deren Fitness erhöhen (Stebbins 1959; Ellstrand & Schierenbeck 2000). Die entstehenden Hybridlinien können mit den Eltern- oder anderen Arten um dieselbe ökologische Nische konkurrieren und diese im Extremfall verdrängen oder neue Habitats kolonisieren (Abbott 1992, Ellstrand & Schierenbeck 2000). Ein erhöhtes Invasionspotenzial kann sowohl zu einem ökologischen Problem werden, wenn natürliche Habitats betroffen sind, als auch zu einem ökonomischen z.B. wenn sich aggressivere Unkräuter entwickeln und Agrarhabitats besiedeln.

4.15.1 Hybridisierungen zwischen Neophyten und Wildarten in Deutschland

Besonders für seltene heimische Arten können Hybridisierungen mit neophytischen Arten weitreichende evolutionäre Konsequenzen haben und zu einer Bedrohung der indigenen Arten führen. In Deutschland sind 75 Hybride dokumentiert, die aus Kreuzungen zwischen 50 Neophyten und 68 heimischen Arten hervorgegangen sind (Bleeker et al. 2007). Weitere 59 Hybride zwischen in Deutschland vorkommenden Neophyten und heimischen Arten sind aus anderen Regionen bekannt, aber (noch) nicht in Deutschland nachgewiesen worden. Beispiele für Neophyten, die mit heimischen Arten hybridisieren sind *Rorippa austriaca* (CRANTZ) BESSER, *Populus ×canadenensis* MOENCH, *Medicago sativa* L. und *Epilobium ciliatum* RAF. (Bleeker et al. 2007). Siebenunddreißig der hybridisierenden heimischen Arten aus der Studie von Bleeker et al. (2007) stehen in mindestens einem deutschen Bundesland auf der Roten Liste der gefährdeten Pflanzenarten. Für 18 bedrohte heimische Arten gilt, dass der

neophytische Hybridisierungspartner häufiger ist als die heimische Art. Auch wenn der hybridisierende Neophyt nicht häufiger ist als die heimische Art, können durch Introgression genetische Variabilität und lokal angepasste Populationen verloren gehen, wie das Beispiel der Gattung *Rorippa* (Brassicaceae) zeigt (Bleeker 2003, Bleeker & Matthies 2005): In jungen Hybridzonen sind neben der indigenen Art *R. sylvestris* und der neophytischen Art *R. austriaca* vor allem F₁-Hybride beider (*R. ×amoracioides*) zu finden. In älteren Hybridzonen sind die reinen Individuen von *R. sylvestris* durch Hybridisierung und Rückkreuzung verschwunden. Auch wenn in jungen Hybridzonen Hybridisierung zunächst als untergeordnetes Phänomen erscheint, welches keine weiteren Konsequenzen mit sich bringt, kann der natürliche Genpool der indigenen Art zeitverzögert stark beeinträchtigt werden. Außerdem sind *Rorippa*-Hybridpopulationen in ruderalen Habitaten an der Unterelbe in Abwesenheit der Elternarten bekannt. Diese stellen eine evolutionäre Neuheit dar, denn sie unterscheiden sich in ihrer Habitatpräferenz von den Eltern und kolonisieren neue, anthropogen gestörte Habitate.

4.15.2 Hybridisierung zwischen Raps und Verwandten - eine Bedrohung für die heimische Vielfalt?

Von zwölf der 13 für die menschliche Ernährung bedeutendsten Nutzpflanzen - unter diesen Raps - ist bekannt, dass in einem Teil ihres Verbreitungsgebietes Genfluss mit wilden Verwandten besteht (Ellstrand et al. 1999). Aus evolutionärer Sicht ist es nicht verwunderlich, dass zwischen den Kulturpflanzen und ihren wilden Vorfahren keine absolute reproduktive Isolation besteht, da die Trennungsgeschichte der Linien maximal einige tausend Generationen zurück liegt (Ellstrand et al. 1999). Genfluss von der Kulturart ist am wahrscheinlichsten zu nah verwandten Ackerunkräutern, da diese in unmittelbarer Nachbarschaft der Kulturart wachsen und wiederholt Pollen von den benachbarten Kulturpflanzen erhalten. Ein Austausch von Genen zwischen Kulturpflanzen und Wildarten findet seit Beginn der landwirtschaftlichen Nutzung von Pflanzen statt, rückt aber mit der Nutzung transgener Kulturpflanzen zunehmend in den wissenschaftlichen und gesellschaftlichen Fokus. Nach erfolgter Hybridisierung und Introgression,

können die Kulturgene in den Wildarten persistieren, diese verändern und einen Einfluss auf ihre Fitness haben.

Viele züchterisch erwünschte Eigenschaften von Kulturpflanzen verringern deren Fitness außerhalb des Anbaus (Campbell et al. 2006). Gelangen solche Kulturgene durch Hybridisierungen in Wildarten, können sie auch natürliche Populationen negativ beeinflussen. Für konventionellen Raps scheint dies im Vergleich zu anderen Kulturpflanzen zunächst nicht von primärer Relevanz zu sein, da er im Vergleich eine unvollständige Domestikation erfahren hat und selber viele Unkrautmerkmale besitzt, die ihn zur (ausdauernden) Besiedlung semi-natürlicher Habitats befähigen. Ob Introgression für wilde Verwandte problematisch ist, hängt in besonderem Maße davon ab, wie häufig diese Vorkommen und ob sie somit ein gewisses Maß an Genfluss kompensieren können. Aus naturschützerischer Sicht ist außerdem zu entscheidend, ob es sich bei den wilden Verwandten um indigene Arten handelt und damit die heimische Biodiversität bedroht ist. Im Fall von Raps sind viele der kreuzkompatiblen Verwandten Neophyten (oder ihr Status ist unklar, Tabelle 1.1), sie werden als Kulturpflanzen angebaut und verwildern aus dem Anbau. Ob ein indigener Genpool im Untersuchungsgebiet existiert, ist somit für viele Arten generell fraglich und schwierig zu beurteilen. Rübsen und Hederich (*R. raphanistrum*) sind die beiden Arten mit der höchsten Wahrscheinlichkeit der Hybridisierung mit Raps und Introgression von Rapsgenen im Osnabrücker Land. Stuft man die im Untersuchungsgebiet gefundenen Populationen von *R. raphanistrum* und *B. rapa* (zumindest teilweise) als wild (archäophytisch) ein, ist auch ein indigener Genpool anzunehmen. Dieser ist umso schutzbedürftiger, je seltener die indigenen Populationen werden, je stärker damit die natürliche, genetische Variabilität abnimmt und je mehr Populationen von interspezifischem und intraspezifischen Genfluss mit Kulturpflanzen betroffen sind.

Raphanus raphanistrum kann mit den Kulturarten *R. sativus* und *B. napus* hybridisieren, weshalb für Hederich eine Beeinflussung des Genoms durch Hybridisierung und Introgression von Kulturgenen anzunehmen ist. *Raphanus raphanistrum* ist im Untersuchungsgebiet selten (nur ein Fundort im Untersuchungsgebiet und dort zusammen mit beiden potenziellen Hybridisierungspartnern), im Rückgang befindlich und wird nach der roten

Liste für Niedersachsen und Bremen (Garve 2004) als gefährdet eingestuft. Auch in Schleswig Holstein und Hamburg steht *R. raphanistrum* auf der Roten Liste (Poppendieck et al. 1998, Mierwald & Romahn 2006). Dies ist wahrscheinlich nicht primär auf Hybridisierung zurückzuführen, sondern beruht auf einer veränderten Landnutzung und einer immer weiter zunehmenden Intensivierung der Landwirtschaft. Die Zerstörung geeigneter Habitate, ein erhöhter Herbizideinsatz und Saatgutreinigung bedroht auch das Vorkommen zahlreicher anderer klassischer Ackerunkräuter wie *Centaurea cyannus* L., die in den letzten Jahrzehnten selten geworden ist, oder *Agrostemma githago* L., die im Untersuchungsgebiet als nahezu ausgestorben gilt (Rote Liste Niedersachsen Kategorie 1, Weber 1995, Garve 2004).

Zwischen wilden Rübsen, Kulturformen des Rübsens und Raps wird ein Austausch von Genen vermutlich seit Beginn des Anbaus der Arten bestanden haben. Es ist fraglich, ob im Untersuchungsgebiet Unkrautrübsen allein auf verwilderte Kulturformen zurückzuführen sind oder auch „echte“ wilde Rübsen (*B. rapa* ssp. *campestris*) existieren, die einen eigenen, schützenswerten Genpool besitzen. Population 54 gibt einen Hinweis aufgrund der Samenfarbe auf ein potenziell indigenes Vorkommen. Diese Population ist besonders variabel in ihrer Morphologie. Interspezifische F₁-Hybridnachkommen mit Raps geben einen Hinweis auf eine genetische Beeinflussung durch Hybridisierung in dieser Population.

Neben den potenziellen Bedrohungen für die genetische Integrität wilder Verwandter stellt die Evolution eines gesteigerten Invasionspotenzials eine mögliche Folge von Hybridisierungen dar (Abbott 1992, Ellstrand et al. 1999, Ellstrand & Schierenbeck 2000). Unkrautprobleme durch Genfluss zwischen Kultur- und Wildpflanzen konnten bei zahlreichen Arten beobachtet werden (siehe auch Kapitel 1.1 sowie Ellstrand et al. 1999), sowohl intraspezifisch z.B. in *Beta vulgaris* (Boudry et al. 1993, Desplanque et al. 1999, Vivard et al. 2004) als auch interspezifisch z.B. in *Raphanus* (siehe Kapitel 4.8.4). Hybridisierungen können zu einer schnellen evolutionären Veränderung führen, indem sie neue Genkombinationen erstellen, die genetische Variation und Heterosis erhöhen, wodurch die Hybride eine erhöhte Fitness (engl. hybrid vigor) und Adaptationsfähigkeit an neue Habitate erhalten können (Rhymer & Simberloff 1996). Ein Einfluss auf die

Biodiversität besteht dann, wenn die neuen Taxa die Dynamiken und Strukturen natürlicher Gemeinschaften beeinflussen, zum Beispiel konkurrenzfähiger sind als (verwandte oder nicht verwandte) indigene Arten und diese dadurch verdrängen. Diese Prozesse können durch transgene Eigenschaften beschleunigt werden, wenn diese die Fitness der Hybride steigern.

4.16 Transgene Nutzpflanzen: Beispiel herbizidresistenter Raps

Die Anbaufläche transgener Nutzpflanzen stieg global von 1,7 Millionen Hektar 1996 auf 114,3 Millionen Hektar im Jahr 2007 (ISAAA 2007). Der Anbau von transgenem Raps belegt dabei nach Soja, Mais und Baumwolle Platz vier mit etwa 5% der globalen Fläche des Anbaus transgener Pflanzen. Herbizidresistenzen und Insektenresistenzen sind zurzeit die wichtigsten transgenen Eigenschaften. Zunehmend kommen Sorten mit zwei oder mehr kombinierten Eigenschaften auf den Markt (ISAAA 2007). Gentechnisch veränderte Rapsorten werden in Nordamerika (USA, Kanada) seit Mitte der 1990er Jahre angebaut. In Kanada wurden 2006 auf 4,3 Mio Hektar herbizidresistenter Raps angebaut (das entspricht 80% der kanadischen Rapsanbaufläche). Hierbei handelt es sich zumeist um Resistenzen gegen Totalherbizide (transgene Resistenzen gegen Glyphosat (*RoundupReady*-Technologie) und Glufosinat (*LibertyLink*-Technologie) sowie konventionell gezüchtete Resistenz gegen Imidazolinon (*Clearfield*-Technologie)). Diese ermöglichen einen gezielteren Herbizideinsatz erst nach Auflaufen der Nutzpflanzen und eine pfluglose Bodenbearbeitung als Erosionsschutz (Dale et al. 2002). Gentechnische Veränderungen von Raps, die in Zukunft zur Marktreife kommen können, betreffen das Fettsäuremuster der Samen, Krankheits- und Schädlingsresistenzen und männliche Sterilität. In Deutschland fanden zwischen 1994 und 2007 41 Freisetzungsversuche mit transgenem Raps statt. Deutschland belegt damit in der EU Platz vier nach Frankreich, England und Belgien (BioSicherheit.de). Bisher ist keine transgene Rapsorte in der EU zum Anbau uneingeschränkt zugelassen, und es findet kein kommerzieller Anbau statt (BioSicherheit.de, TransGen.de).

Transgene Pflanzen lassen sich in solche mit speziellen agronomische Eigenschaften (Input-Eigenschaften) wie Herbizid-, Schädlings-, Krankheitsresistenzen und Stresstoleranz gliedern, sowie in Pflanzen mit neuen Eigenschaften, die das Endprodukt betreffen (Output-Eigenschaften), wie z.B. neue oder veränderte Inhaltsstoffe (z.B. funktionelle Lebensmittel und Pharmazeutika) oder Pflanzen zur Phytoremediation (Marquard & Durka 2005). Transgene Nutzpflanzen sind, so der heutige Stand der Wissenschaft, nicht zwangsläufig ein Risiko für die Gesundheit des Menschen oder die Umwelt. Jedoch sind im Rahmen einer Risikobeurteilung potenzielle negative Einflüsse auf die menschliche Gesundheit (z.B. Allergenität, Toxizität), die Landwirtschaft (z.B. durch resistente Schädlinge und Unkräuter) und die Umwelt (z.B. Effekte auf Nicht-Zielorganismen und Genfluss in wilde Populationen) bei jedem Einzelfall zu begutachten. Zudem ist zu beachten, dass neben der direkten Wirkung des einzelnen Transgens (engl. single gene effects) pleiotropische und epistatische Effekte auftreten können (Tiedje et al. 1989), weshalb jede transgene Linie hinsichtlich ihrer Eigenschaften neu zu bewerten ist. Auf EU-Ebene regelt die Freisetzungsrichtlinie 2001/18 EG die beabsichtigte Freisetzung und das Inverkehrbringen von gentechnisch veränderten Organismen. Die Sicherheitsbewertung beinhaltet eine fallspezifische Beobachtung (engl. case-specific monitoring) und eine allgemeine, überwachende Beobachtung (engl. general surveillance). Die Risikobeurteilung erfolgt transgen- und art-spezifisch. Züghart und Breckling (2003) schlagen konkrete Monitoring-Konzepte vor (u.a. am Fallbeispiel HR-Raps), um direkte, indirekte, unmittelbare und spätere sowie unvorhergesehene schädliche Auswirkungen von GVO auf menschliche Gesundheit oder Umwelt zu ermitteln.

4.16.1 Potenzielle Auswirkungen von herbizidrestenem Raps auf die Umwelt

Transgene Kulturpflanzen können sowohl einen direkten (z.B. gesteigertes Invasionspotenzial, Genfluss und Introgression in Wildarten, direkter Einfluss auf Nicht-Zielorganismen z.B. durch Toxine) als auch einen indirekten (z.B. evolutionär entwickelte Herbizidtoleranzen in nicht-verwandten Arten, Veränderung der Diversität durch Herbizideinsatz) Ein-

fluss auf die sie umgebende Umwelt (d.h. natürliche und anthropogene Habitate) haben (Dale et al. 2002).

Transgene können die Fitness des Trägers in einer bestimmten Umwelt entweder erniedrigen und damit die Anpassungsfähigkeit verringern oder die Fitness erhöhen, damit das Invasionspotenzial steigern und in der Folge zu Veränderungen der Dynamiken und Strukturen natürlicher Gemeinschaften führen (Tiedje et al. 1989, Raybould 1999, Hauser et al. 2003, Pilson & Prendeville 2004, Hails & Morley 2005, Allainguillaume et al. 2006). Die Auswirkungen eines Transgens auf die Fitness der Empfängerpopulation sind entscheidend für die Beurteilung des Risikos der Introgression von Transgenen aus Kulturpflanzen in natürliche Population (Jenczewski et al. 2003). Außerhalb der landwirtschaftlichen Flächen ist nicht zu erwarten, dass herbizidresistente Pflanzen ein gesteigertes Invasionspotenzial als direkte Folge der HR-Gene entwickeln, da in Abwesenheit von Herbiziden und damit fehlendem Selektionsdruck kein Selektionsvorteil besteht (Dale et al. 2002). Nach heutigem Kenntnisstand unterscheidet sich HR-Raps in Habitaten ohne Herbizideinsatz in seiner Fitness nicht oder nur negativ von seinem konventionellem Gegenstück (Crawley et al. 1993, Fredshavn et al. 1995, Crawley et al. 2001, Roller et al. 2003, Lutmann et al. 2005). Ohne Herbizideinsatz bleibt HR-Raps wie konventioneller Raps eine eher konkurrenzschwache Pionierart, die in Habitaten ohne regelmäßige Störungen im Laufe der Sukzession verdrängt wird (Crawley & Brown 2004). Auch bei introgressiver Hybridisierung von Herbizidresistenzen in Wildarten wird in natürlichen Habitaten ohne Selektionsdruck kein Fitnessvorteil für die Nachkommen bestehen. Hybride zwischen Raps und nahen Verwandten sind in ihrer Fitness zumeist reduziert, doch einzelne Individuen können eine ähnlich Fitness wie die Eltern besitzen. Diese können vermitteln, dass transgene Eigenschaften in Wildpflanzen außerhalb des Anbaus langfristig überdauern, auch wenn sie keinen Selektionsvorteil bieten (Warwick et al. 2008).

Der Anbau von HR-Raps hat herbizidresistenten Ausfallraps und HR-Volontären nach dem Anbau auf landwirtschaftlich genutzten Flächen zur Folge. Durch interspezifischen Genfluss zwischen HR-Sorten mit unterschiedlichen Resistenzen können sowohl mehrfachresistenter Unkrautraps als auch mehrfachresistente Pflanzen als Verunreinigungen bei der

Saatgutproduktion auftreten (Hall et al. 2000, Beckie et al. 2003). Zudem können Resistenzgene durch interspezifischen Genfluss auf nah verwandte Ackerunkräuter übertragen werden. Neben der Erlangung von Herbizidresistenzen durch intra- und interspezifischen Genfluss können sich Resistenzen auch durch evolutive Neuentwicklung in nicht verwandten Arten entstehen (Heap 1997). Es besteht die Sorge, dass diese drei Prozesse neue Unkrautprobleme hervorbringen könnten (sogenannte resistente „Superunkräuter“). Das Risiko der Entwicklung herbizidresistenter Unkräuter steigt, wenn das betreffende Herbizid ständig und unkontrolliert eingesetzt wird (erhöhter Selektionsdruck) und innerhalb einer Fruchtfolge mehrere Kulturen Resistenzen gegen dasselbe Herbizid besitzen. Ein konsequentes Management der Fruchtfolge, Herbizidrotation und Anbaupraktiken, die das Auftreten von HR-Pflanzen außerhalb des Anbaus in Raum und Zeit minimieren, ist somit erforderlich (dazu gehören z.B. Ernteverluste auflaufen zu lassen und spätes/ kein Pflügen, um den Beitrag zur Samenbank zu minimieren; konsequente Kontrolle von Volontären mit alternativen Herbiziden; Mindestabstände einzuhalten, um Kreuzbestäubung zu vermeiden; sortenreines Saatgut zu verwenden; betreffende Herbizide nicht außerhalb des Anbaus anzuwenden; anbaubegleitendes Monitoring transgener Nutzpflanzen usw.). Wird das betreffende Herbizid auch außerhalb von Kulturlächen verwendet (z.B. ruderale Standorte wie Bahngleise), können sich dort verwilderte Populationen aufgrund des Selektionsvorteils langfristig etablieren. Bisher konnte jedoch kein gesteigertes Invasionspotenzial von herbizidresistentem Volontären, verwilderten oder wilden *Brassica*-Populationen oder anderen Ackerunkräutern durch den Anbau herbizidresistenter Sorten beobachtet werden (Beckie & Owen 2007).

Indirekte Einflüsse des Anbaus von herbizidresistentem Raps wurden in der britischen „Farm Scale Evaluation“ (FSE) nachgewiesen. Durch Änderung der Anbaupraktiken, besonders durch die effektivere Unkrautkontrolle, wird die Vielfalt an Ackerunkräutern stark reduziert. Dies beeinflusst auch die mit den Unkräutern assoziierten Tiere. Vor allem Schmetterlinge kamen in HR-Rapsfeldern deutlich seltener vor als im konventionellen Anbau (Bohan et al. 2004). Ein großflächiger Anbau herbizidresistenter Nutzpflanzen bedeutet eine Intensivierung der Landwirtschaft und damit eine zunehmende Bedrohung der Biodiversität im Agrarraum.

Hinsichtlich ihrer Umweltwirkung besonders kritisch zu betrachten sind transgene Eigenschaften, die für ihren Träger einen Selektionsvorteil bedeuten. Hierzu gehören zum Beispiel Transgene, die die Stresstoleranz von Pflanzen erhöhen (Salz, Dürre, Kälte), oder Schädlings- und Krankheitsresistenzen (z.B. gegen Viren) vermitteln (Warwick et al. 2008). Versuche zeigen, dass Schädlingsresistenzen (z.B. *Bt*-Transgene) für Raps bei hohem Insektenruck vorteilig sind. Diese könnten auch zu einer gesteigerten Konkurrenzkraft und erhöhten Fitness in Hybriden führen (Vacher et al. 2004, Mason et al. 2003). Ein gesteigertes Invasionspotenzial sowohl in anthropogenen als auch in natürlichen Habitaten oder einen Einfluss auf natürliche Dynamiken und Nicht-Zielorganismen sind mögliche Folgen der Freisetzung solcher Organismen sein.

4.17 Schlussbetrachtung

Raps wurde als Fallstudie für eine Kulturpflanze ausgewählt, die sich außerhalb des Anbaus spontan etablieren kann und so als Quelle für Neophyten dient. Verwilderte Rapspopulationen im Osnabrücker Land sind häufig, bleiben für mehrere Vegetationsperioden bestehen und setzen sich aus unterschiedlichen Sorten zusammen, welche miteinander hybridisieren. Sie zeigen eine erhöhte genetische Diversität verglichen mit Sortenraps und sind phänotypische variabel und besiedeln dieselben Standorte wie zahlreiche potenzielle Kreuzungspartner. In gemischte Bestände zwischen Raps und kreuzkompatiblen Verwandten wie Rübsen und Hederich kann es zu einer genetischen Beeinflussung der Wildarten durch Hybridisierung kommen. Außerdem konnte gezeigt werden, dass Raps und tetraploider Rübsen im Freilandversuch ein hohes Auskreuzungspotenzial besitzen. Zusammen genommen illustrieren diese Ergebnisse, dass das evolutionäre Potenzial verwilderter Rapspopulationen höher einzuschätzen ist als vormals angenommen. Diese Studie bestätigt, dass verwilderte Rapspopulationen als Trittsteine für intra- und interspezifischen Genfluss dienen und dadurch beim Anbau transgener Rapsorten die Koexistenz verschiedener Anbauformen erschweren, die Etablierung von Transgenen außerhalb des Anbaus ermöglichen, die Transgenausbreitung fördern und Introgression in nah verwandte Arten vermitteln können.

Studien an invasiven Arten haben gezeigt, dass diese, sobald sie sich etabliert haben, kaum noch in einem Ökosystem zu kontrollieren sind, da sie sich kontinuierlich reproduzieren, ausbreiten und evolutiv entwickeln. Ähnliches ist für transgene Pflanzen zu erwarten, wenn diese in der Lage sind, außerhalb des Anbaus persistente Populationen zu etablieren (Peterson et al. 2000). Da Raps verwildert und auskreuzt ist das Risiko der Ausbreitung von Transgenen außerhalb des Anbaus als hoch einzuschätzen. Es ist unumstritten, dass Transgenfluss zwischen Kulturpflanzen zu Problemen der Koexistenz von transgenem und konventionellen bzw. biologischen Anbau führen kann und Problemen mit Volontärunkräutern im landwirtschaftlichen Bereich auftreten können. Strittig hingegen sind die Auswirkungen von Transgenfluss zu wilden Verwandten der Kulturpflanzen. Es bleibt zu diskutieren, ob die Introgression von Transgenen per se schon als ökologischer Schaden zu bewertet ist. Wenn – wie bei Raps – ein hohes Ausbreitungs- und Auskreuzungspotenzial besteht, sind Transgene nicht mehr rückholbar (Menzel 2006). Der Anbau transgener Nutzpflanzen, sofern diese mit wilden Verwandten kreuzen und Transgene übertragen, kann einen Einfluss auf Naturschutzziele haben (Breckling & Menzel 2005). Das Ziel des Naturschutzes ist es, die Natur in ihrer Eigenart zu bewahren (BNatSchG 2002, §1). Introgression und Persistenz von Transgenen in natürliche Populationen führt zumindest zu einer Veränderung der in Deutschland geschützten innerartlichen Vielfalt und damit zu einer Beeinträchtigung des Schutzgutes. Dies ist unabhängig davon, ob weitere Folgewirkungen mit dem Transgen verbunden sind (Breckling & Menzel 2005). Außerdem ist nicht vollständig auszuschließen, dass Transgene bei Introgression unvorhersehbare epistatische oder pleiotropische Effekte im genetischen Hintergrund des wilden Verwandten haben können (Snow et al. 1999, Raybould 1999). Auf der anderen Seite wird argumentiert, dass seit Beginn des Anbaus von Kulturpflanzen eine Beeinflussung des indigenen Genpools naher Verwandter durch Kulturgene stattfindet. Genfluss zwischen transgenen Kulturpflanzen wie Raps und nahen Verwandten wird zwar geschehen, muss aber nicht zwangsläufig zu Problemen führen (Ellstrand 2003). Auskreuzung ist erst dann ein Risiko, wenn z.B. natürliche Dynamiken gestört, nahe Verwandte bedroht, das Invasionspotenzial dieser erhöht oder andere Nichtzielorganismen beeinflusst werden (Wilkinson et al. 2003, Poppy 2004). Die Auswirkungen des Transgenflusses sind weitest-

gehend abhängig von dem Einfluss des Transgens auf die phänotypischen Merkmale, die sie übertragen, und die damit verbundene Fitness (Wilkinson et al. 2003, Jenczewski et al. 2003). Verhält sich ein Transgen neutral, wird es zunächst nur die genetische Diversität der Empfängerpopulation erhöhen (Ellstrand 2003). Herbizidresistenzen werden als selektionsneutrale Transgene in natürlichen Habitaten bewertet, weshalb angenommen wird, dass sie natürliche Populationsdynamiken nicht beeinflussen und das Invasionspotenzial in natürlichen Habitaten nicht erhöhen (Crawley et al. 1993, Crawley et al. 2001, Jenczewski et al. 2003). Trotzdem können sie nachweislich außerhalb des Anbaus sowohl in Unkrauttraps als auch in Unkrautrübsen über mehrere Generationen persistieren (Warwick et al. 2008). Ein erhöhtes Invasionspotenzial wurde bisher weder bei transgenem Raps noch bei nahen Verwandten beobachtet. Dennoch ist nicht vorher-sagbar, wie sich transgene Populationen außerhalb des Anbaus zukünftig evolutiv entwickeln.

Im Falle des transgenen Rapsanbaus wird sich aufgrund der bedeutenden Rollen von Samenverlusten beim Transport und Fahrzeugen an der Fernausbreitung transgener Unkrauttraps (von der Lippe und Kowarik 2007b) schnell auch außerhalb der Anbaugelände etablieren. Ein anbaubegleitendes Monitoring muss entsprechend neben der direkten Umgebung der Anbauflächen von Raps auch ruderale Habitate im landwirtschaftlichen sowie im urbanen Raum mit einbeziehen, da sich an diesen Standorten Rapspopulationen und besonders Kreuzungspartner etablieren und miteinander interagieren. Die Wahrscheinlichkeit der Hybridisierung zwischen Raps und (diploiden bzw. tetraploiden) Rübsen könnte im Untersuchungsgebiet verringert werden, wenn diese Taxa nicht gemeinsam in Saatgutmischungen verwendet würden.

5 Zusammenfassung

Raps (*Brassica napus*) wurde als Fallstudie für eine Kulturpflanze ausgewählt, die in Unkrautpopulationen außerhalb des Anbaus auftritt und mit nah verwandten Arten auskreuzen kann. Das evolutionäre Potenzial verwilderter Rapspopulationen und ihre Bedeutung für intra- und interspezifischen Genfluss sind maßgeblich davon abhängig, ob verwilderte Populationen dauerhaft und selbsterhaltend sind. Basierend auf Kartierungen (2004-2008) und kernkodierten Mikrosatellitenmarkern wurde in dieser Studie die Herkunft, Persistenz und genetische Variation verwilderter Rapspopulationen im Nordwesten Deutschlands (Osnabrücker Land) untersucht. An den meisten der untersuchten Fundorte (79,5%) konnte in mindestens zwei der fünf Untersuchungsjahre verwilderter Raps erfasst werden. Der Anteil der Populationen mit Samenansatz variierte zwischen den Jahren (30-48%) und war höher als in vergleichbaren Studien. Die genetische Diversität der verwilderten Rapspopulationen war höher als die häufig angebaute Sorten. Mit Hilfe eines „Maximum-Likelihood“-Ansatzes wurden die Individuen der verwilderten Populationen den Ursprungsorten und den Hybriden zwischen diesen Sorten zugeordnet. Die wichtigsten Quellen für die genetische Variation in verwilderten Rapspopulationen waren die mehrfache Einschleppung verschiedener Sorten und Hybridisierungen zwischen diesen Sorten. Maximal vier verschiedene Sorten konnten innerhalb einzelner Populationen identifiziert werden. Hybride zwischen den Sorten deuten darauf hin, dass verwilderte Populationen sich selbst erhalten können. Die Ergebnisse zeigen, dass verwilderte Rapspopulationen ein höheres evolutionäres Potenzial besitzen als vormals angenommen.

Für die Abschätzung des Auskreuzungspotenzials von Raps und ist die Häufigkeit von Kreuzungspartnern entscheidend, welche von Region zu Region stark variieren kann. In den Kartierungen wurden im Untersuchungsgebiet acht verwandte Arten aus den Brassicinae an denselben Standorten wie Raps aufgefunden, darunter sechs sympatrisch mit Raps. Diese potenziellen Kreuzungspartner überlappen mit dem angebaute und/oder verwilderten Raps zumindest teilweise in ihrer Blühphase. Mittels durchflusszytometrischer und molekularer Untersuchungen konnten einzelne

triploide Hybride zwischen Raps und diploiden Rübsen (*B. rapa*) detektiert werden. Diese zeigten eine reduzierte Pollenfertilität (47,4%). Rübsen und Hederich (*Raphanus raphanistrum*) sind die nah verwandten Arten, die am Wahrscheinlichsten von Hybridisierungen mit Raps und Introgression beeinflusst werden. Letzterer steht drei Bundesländern, darunter Niedersachsen, auf der Roten Liste der bedrohten Pflanzenarten.

Neben diploiden Rübsen wurden mittels durchflusszytometrischer Messungen tetraploide Rübsen-Zygotypen im Untersuchungsgebiet identifiziert. Autotetraploide Rübsensorten werden als Zwischenfrüchte angebaut, sind Bestandteil verschiedener Saatgutmischungen für Blühstreifen und Wildäcker (zusammen mit Raps und diploiden Rübsen) und können verwilderte Populationen etablieren. Unterschiede im Ploidielevel verschiedener Rübsensorten wurden bis vor kurzem hinsichtlich des Auskreuzungspotenzials mit Raps nicht beachtet. In Handkreuzungen konnte gezeigt werden, dass aus Kreuzungen zwischen Raps und tetraploiden Rübsen weniger Samen resultierten als aus solchen zwischen Raps und diploiden Rübsen. Im Freilandversuch mit tetraploiden Rübsensorten als Mutterpflanzen und Rapsorten als Pollenspender konnten interspezifische Hybridisierungen unter natürlichen Bestäubungsbedingungen nachgewiesen werden. Morphologische Merkmale, relative DNA Gehalte und Mikrosatelliten Marker wurden verwendet, um zwischen intra-spezifischen, tetraploiden Rübsennachkommen und interspezifischen Hybriden mit Raps zu unterscheiden. Von 517 Nachkommen von tetraploiden Rübsen zeigten 45 Jungpflanzen artspezifische morphologische Merkmale von Raps. Die Identifizierung von Hybriden anhand der relativen DNA-Gehalte erwies sich als problematisch. Wahrscheinlich spielt Aneuploidie bei der Bildung der Gameten von autotetraploiden Rübsen eine entscheidende Rolle. Vierundachtzig Nachkommen wichen von tetraploiden *B. rapa* im relativen DNA Gehalt ab, vier davon waren hexaploid. Von den 205 an fünf Mikrosatellitenloci untersuchten Nachkommen zeigten 70 Rapsallele. Aus der Kombination von morphologischen und/oder molekularen Hinweisen auf Hybridisierungen ergibt sich eine Hybridisierungsrate von 16,2%. Individuelle Hybridisierungsraten variieren zwischen 0% und 51%. Die männliche Fertilität dieser Hybride war mit durchschnittlich 82,5% höher als die triploider Raps-Rübsen-Hybride. Bei der Abschätzung des

Genflusses von Raps in nahe Verwandte auf Landschaftsebene sollte das Auftreten tetraploider Rübsen unbedingt beachtet werden. Treten diploide und tetraploide Rübsen in gleicher Dichte auf, ist anzunehmen, dass Genfluss von Raps zu tetraploidem Rübsen mindestens so häufig ist wie Genfluss zu diploiden Rübsen. Die Wahrscheinlichkeit von Hybridisierungen zwischen Raps und Rübsen (diploid und tetraploid) könnte verringert werden, wenn vermieden würde, diese kreuzkompatiblen Arten gemeinsam in Saatgutmischungen zu verwenden.

Diese Studie bestätigt, dass verwilderte Rapspopulationen als Trittsteine für intra- und interspezifischen Genfluss dienen können und dadurch beim Anbau transgener Rapssorten die Koexistenz verschiedener Anbauformen erschweren, die Etablierung von Transgenen außerhalb des Anbaus ermöglichen, die Transgenausbreitung fördern und Introgression in nah verwandte Arten vermitteln können.

5.1 Summary

Oilseed rape (*Brassica napus*) served as a case study of a crop plant which is found in feral populations outside cultivation and can hybridise with closely related species. The evolutionary potential of feral oilseed rape and its significance for intra- and interspecific hybridisation will largely depend on the capability to establish persistent and self-sustaining populations. We analysed the origin, persistence, and genetic variation of feral oilseed rape populations in northwest Germany (Osnabrueck) based on a field survey (2004-2008) and nuclear microsatellite markers. The majority (79.5%) of the analysed sites was inhabited by oilseed rape for at least two of the five years. The proportion of feral populations setting seeds varied between years (30-48%) and was higher than in comparable studies. Within population genetic diversity of feral oilseed rape populations had increased in comparison to the common varieties. A maximum likelihood approach was used to allocate individuals of feral populations to their source varieties and to hybrids between these varieties. Repeated escapes of different varieties and hybridisation between these varieties were identified as the

most important sources of genetic variation in feral oilseed rape populations. A maximum of four different source varieties were identified in feral oilseed rape populations. The detection of three hybrids between different varieties indicates that feral oilseed rape populations may persist via self-recruitment. Our results show that feral oilseed rape populations possess a higher evolutionary potential than assumed earlier.

The likelihood of introgressive interspecific hybridisation of oilseed rape depends on the abundance of crossing partners which may vary strongly from region to region. In the study area, eight closely related species of the Brassicaceae were detected on the same habitat types as oilseed rape, six of them occurring in sympatry with oilseed rape. These species showed at least a partial overlap in flowering time with cultivated and/or feral oilseed rape populations. Triploid hybrids of oilseed rape and *B. rapa* were detected by flow cytometry and microsatellite markers. They showed reduced pollen fertility (47.4%). Among the relatives of oilseed rape *B. rapa* and *Raphanus raphanistrum* are most likely to be influenced by hybridisation and introgression. The latter is listed as a threatened species on the red list for Lower Saxony.

Apart from diploid *B. rapa*, tetraploid cytotypes were identified in the area under study also using flow cytometry. Autotetraploid *B. rapa* varieties are cultivated as intercrops, are part of seed mixtures such as game cover crops (together with oilseed rape and diploid *B. rapa*) and can also establish feral populations in northwest Germany. Variation of ploidy level among in *B. rapa* cultivars has until recently been neglected in the context of gene flow and hybridisation with oilseed rape. Hand pollinations revealed that less seeds were produced when crossing oilseed rape with tetraploid *B. rapa* than when crossing oilseed rape with diploid *B. rapa*. An experimental field trial with tetraploid *B. rapa* cultivars as mother plants and oilseed rape cultivars as pollen donors revealed interspecific hybridisation under natural pollination conditions. Morphology, ploidy level variation and nuclear encoded microsatellite markers were used to distinguish between intraspecific progeny of tetraploid *B. rapa* and interspecific hybrids with *B. napus*. Of 517 seed progeny of tetraploid *B. rapa*, 45 juvenile plants showed species specific morphological traits of oilseed rape. The detection

of hybrids based on variation in relative DNA amounts was problematic due to the occurrence of aneuploidy. In total, 84 offspring individuals showed relative DNA amounts deviating from tetraploid *B. rapa*, of these four were hexaploids. Of the 205 offspring plants analysed at five microsatellite loci, 70 had oilseed rape markers. Combining morphological and molecular evidence for hybridisation resulted in a hybridisation rate of 16.2%. Individual hybridisation rates varied between 0% and 51%. The mean pollen viability of hybrids between *B. napus* and tetraploid *B. rapa* (82.5%) was higher than reported for triploid hybrids between *B. napus* and diploid *B. rapa*. The potential occurrence of tetraploid *B. rapa* should be taken into consideration when estimating the likelihood of gene flow from oilseed rape to close relatives at the landscape level. Assuming no differences in abundance of diploid and tetraploid *B. rapa*, gene flow from *B. napus* to tetraploid *B. rapa* may be as likely as gene flow from *B. napus* to diploid *B. rapa*. The likelihood of interspecific hybridisation could easily be decreased by avoiding the use of cross-compatible species like oilseed rape and *B. rapa* cultivars (diploid and tetraploid) in seed mixtures.

This study confirms that feral oilseed rape populations might serve as stepping stones for intra- and interspecific hybridisation. When cultivating transgenic oilseed rape, feral populations might hamper the coexistence of genetically modified (GM) and non-GM oilseed rape varieties in the same region, enable transgene establishment and its spread outside cultivation and promote transgene introgression into close relatives.

6 Literatur

- Abbott, R.J. (1992) Plant invasions, interspecific hybridizations and the evolution of new plant taxa. *Trends in Ecology and Evolution*, 7, 401-405
- Abel, S. & Becker, H. C. (2007) The effect of autopolyploidy on biomass production in homozygous lines of *Brassica rapa* and *Brassica oleracea*. *Plant Breeding*, 126, 642-643
- Agravis Raiffeisen AG, www.agravis.de, [17.09.2008]
- Al Mouemar, A. & Darmency, H. (2004) Lack of stable inheritance of introgressed transgene from oilseed rape in wild radish. *Environmental Biosafety Research*, 3, 209-214
- Allainguillaume, J., Alexander, M., Bullock, J.M., Saunders, M., Allender, C.J., King, G., Ford, C.S. & Wilkinson, M.J. (2006) Fitness of hybrids between rapeseed (*Brassica napus*) and wild *Brassica rapa* in natural habitats. *Molecular Ecology*, 15, 1175-1184
- Al-Shehbaz, I.A. (1985) The genera of Brassicaceae (Cruciferae: Brassicaceae) in the southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum*, 66, 279-351
- Al-Shehbaz, I.A., Beilstein, M.A. & Kellogg, E.A. (2006) Systematics and phylogeny of the Brassicaceae (Cruciferae): an overview. *Plant Systematics and Evolution*, 259, 89-120
- Ammitzbøll, H. & Jørgensen, R.B. (2006) Hybridisation between oilseed rape (*Brassica napus*) and different populations and species of *Raphanus*. *Environmental Biosafety Research*, 5, 3-13
- Ammitzbøll, H., Mikkelsen, T.N. & Jørgensen, R.B. (2005) Transgene expression and fitness of hybrids between GM oilseed rape and *Brassica rapa*. *Environmental Biosafety Research*, 4, 3-12
- Aono, M., Wakiyama, S., Nagatsu, M., Nakajima, N., Tamaoki, M., Kubo, A. & Saji, H. (2006) Detention of feral transgenic oilseed rape with multiple-herbicide resistance in Japan. *Environmental Biosafety Research*, 5, 77-87
- Arnold, M.L. (1992) Natural hybridisation as an evolutionary process. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 23, 237-261
- Arnold, M.L. & Hodge, S.A. (1995) Are natural hybrids fit or unfit relative to their parents? *Trends in Ecology and Evolution*, 10, 67-71
- Baker, H.G. (1965) Characteristics and modes of origin of weeds. In: Baker, H.G. & Stebbins, G.L. (Hrsg.). *The genetic of colonizing species*. Academic Press: New York, USA, London, UK.
- Baker, H.G. (1974) The Evolution of weeds. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 5, 1-24
- Baranyi, M. & Greihuber, J., 1996. Flow cytometric and Feulgen densitometric analysis of genome size variation in *Pisum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 92, 297-307
- Bateman, A.J. (1955) Self-incompatibility systems in angiosperms: III. Cruciferae. *Heredity* 9, 53-68
- Baumel, A., Ainouche, M.L., Lévassieur, J.E. (2001) Molecular investigations in populations of *Spartina anglica* C.E. Hubbard (Poaceae) invading coastal Brittany (France). *Molecular Ecology*, 10, 1689-1701
- Becher, S.A., Steinmetz, K., Weising, K., Boury, S., Peltier, D., Renou, J.-P., Kahl, G. & Wolff, K. (2000) Microsatellites for cultivar identification in *Pelargonium*. *Theoretical and Applied Genetics*, 101, 643-651
- Becker, H.C., Damgaard, C. & Karlsson, B. (1992) Environmental variation for outcrossing rate in rapeseed (*Brassica napus*). *Theoretical and Applied Genetics*, 84, 303-306
- Beckie, H.J. & Owen, M.D. (2007) Herbicide-resistant crops as weeds in North America. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 2, 22 S.
- Beckie, H.J., Warwick, S.I., Nair, H. 6 Séguin-Swartz, G. (2003) Gene flow in commercial fields of herbicide-resistant canola (*Brassica napus*). *Ecological Applications*, 13, 1276-1294
- Bennett, M.D. & Leich, I.J. (1997) Nuclear DNA amounts in Angiosperms - 583 new estimates. *Annals of Botany*, 80, 169-196

- Bennett, M.D. & Leitch, I.J. (2004) Angiosperm DNA C-values database (release 5.0, Dec. 2004), www.kew.org/cvalues/homepage.html [27.10.2008]
- BfN (2005) Gebietsfremde Arten. Positionspapier des Bundesamtes für Naturschutz. Bundesamt für Naturschutz, Bonn
- BiolFlor, *Datenbank biologisch-ökologischer Merkmale der Flora von Deutschland*. Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH, www.ufz.de/bioflor [05.09.2008]
- BioSicherheit, Gentechnik – Pflanzen – Umwelt. *Biologische Sicherheitsforschung in Deutschland*. www.biosicherheit.de [27.05.2008]
- Bleeker W. (2003) Hybridization and *Rorippa austriaca* (Brassicaceae) invasion in Germany. *Molecular Ecology*, 12, 1831-1841
- Bleeker, W. (2004) Genetic variation and self-incompatibility within and outside a *Rorippa* hybrid zone (Brassicaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 246, 35-44
- Bleeker, W. & Hurka, H. (2001). Introgressive hybridisation in *Rorippa* (Brassicaceae): gene flow and its consequences in natural and anthropogenic habitats. *Molecular Ecology*, 10, 2013-2022
- Bleeker, W. & Matthies, A. (2005). Hybrid zones between invasive *Rorippa austriaca* and native *R. sylvestris* (Brassicaceae) in Germany: ploidy levels and patterns of fitness in the field. *Heredity*, 94, 664-670
- Bleeker, W., Schmitz & U., Ristow, M., 2007. Interspecific hybridization between alien and native plant species in Germany and its consequences for native biodiversity. *Biological Conservation*, 137, 248-253
- Bleeker, W., Klausmeyer, S., Peintinger, M. & Dienst, M. (2008). DNA sequences identify invasive alien *Cardamine* at Lake Constance. *Biological Conservation*, 141, 692-698
- BNatSchG (2002) Gesetz über Naturschutz und Landschaftspflege. Bundesnaturschutzgesetz vom 25. März 2002 (BGBl. I S. 1193), zuletzt geändert durch Artikel 2 des Gesetzes vom 8. April 2008 (BGBl. I S. 686).
- Boatman, N.D. (2002) Guidelines for growing seed crops to feed farmland birds in winter. Final report 1998-2001, Designing crop/plant mixtures to provide food for seed-eating farmland birds in winter. Departement for environment, food and rural affairs (Defra), London, UK. <http://randd.defra.gov.uk> [01.07.2008]
- Bohan, D.A., Boffey, C.W.H., Brooks, D.R., Clark, S.J., Dewar, A.M., Firbank, L.G., Houghton, A.J., Hawes, C., Heard, M.S., May, M.J., Osborne, J.L., Perry, J.N., Rothery, P., Roy, D.B., Scott, R.J., Squire, G.R., Woivod, I.P. & Champion, G.T. (2004) Effects on weed and invertebrate abundance and diversity of herbicide management in genetically modified herbicide-tolerant winter-sown oilseed rape *Proceedings of the Royal Society of London, Biological Sciences*, 272, 463-474
- Bond, J.M., Mogg, R.J., Squire, G.R. & Johnstone, C. (2004) Microsatellite amplification in *Brassica napus* cultivars: Cultivar variability and relationship to a long-term feral population. *Euphytica*, 139, 173-178
- Bossdorf, O., Auge, H., Lafuma, L., Rogers, W.E., Siemann, E. & Prati, D. (2005). Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plant populations. *Oecologia*, 144, 1-11
- Boudry, P., Mörchen, M., Saumitou-Laprade, P., Vernet, Ph. & Van Dijk, H. (1993) The origin and evolution of weed beets: consequences for the breeding and release of herbicide-resistant transgenic sugar beets. *Theoretical and Applied Genetics*, 87, 471-478
- Brandes, D. (2002) *Die Hafenflora von Braunschweig*. www.digibib.tu-bs.de/?docid=00001353 [01.09.2008]
- Brassica.info, www.brassica.info [17.09.2008]
- Breckling, B. & Menzel, G. (2004). Self-organised pattern in oilseed rape distribution - an issue to be considered in risk analysis. In: B. Breckling & R., Verhoeven (Hrsg.), *Risk hazard damage*. Landwirtschaftsverlag, Münster, Deutschland. 73-88

- Breckling, B. & Menzel, G. (2005) Gentechnisch veränderter, herbizidresistenter Raps – Möglicher Nutzen und mögliche Beeinträchtigung von Schutzgütern. *Natur und Landschaft*, 7: 316-319
- Breckling, B., Middelhoff, U., Borgmann, P., Menzel, G., Brauner, R., Born, A., Laue, H., Schmidt, G., Schröder, W., Wurbs, A. & Glemnitz, M. (2003) Biologische Risikoforschung zu gentechnisch veränderten Pflanzen in der Landwirtschaft: Das Beispiel Raps in Norddeutschland. In: Reuter, H., Breckling, B. & Mittwollen, A. (Hrsg.), *Gene Bits und Ökosysteme*. P. Lang Verlag, Frankfurt, Deutschland. 19-45
- Brown, A.H.D. & Marshall, D.R. (1981) Evolutionary changes accompanying colonizations in plants. In: Scudder, G.G.E. & Reveal, J.L. (Hrsg.) *Evolution Today, Proceedings of the Second International Congress of Systematic and Evolutionary Biology*, Hunt Institute for Botanical Documentation, Carnegie-Mellon University Press, Pittsburgh 351-363
- Bundessortenamt (2003). *Beschreibende Sortenliste für Getreide, Mais, Ölfrüchte, großkörnige Leguminosen und Hackfrüchte außer Kartoffeln*. Deutscher Landwirtschaftsverlag, Hannover, Deutschland.
- Bundessortenamt, www.Bundessortenamt.de [17.09.2008]
- Campbell, L.G., Snow, A.A. & Ridley, C.E. (2006) Weed evolution after crop gene Introgression: greater survival and fecundity of hybrids in a new environment. *Ecology Letters*, 9, 1198-1209
- Chèvre, A.M., Eber, F., Darmency, H., Fleury, A., Picault, H., Letanneur, J.C. & Rennard, M. (2000) Assessment of interspecific hybridization between transgenic oilseed rape and wild radish under normal agronomic field conditions. *Theoretical and Applied Genetics*, 100, 1233-1239
- Chèvre, A.-M., Ammitzbøll, H., Breckling, B., Dietz-Pfeilstetter, A., Eber, F., Fargue, A., Gomez-Campo, C., Jenczewski, E., Jørgensen, R., Lavigne, C., Meier, M.S., Den Nijs, H.C.M., Pascher, K., Seglun-Swartz, G., Sweet, J., Stewart, C.N. & Warwick, S. (2004) A review on interspecific gene flow from oilseed rape to wild relatives. Chapter 18, in: *Introgression from genetically modified plants into wild relatives*. Den Nijs, H.C.M., Bartsch, D. & Sweet, J. (Hrsg.), CABI Publishing Oxfordshire, UK; Cambridge, USA, 235-251
- Chèvre, A.M., Adamczyk, K., Eber, F., Huteau, V., Coriton, O., Letanneur, J.C., Laredo, C., Jenczewski, E. & Monod, H. (2007) Modelling gene flow between oilseed rape and wild radish. I. Evolution of chromosome structure. *Theoretical and Applied Genetics*, 114, 209-221
- Choi, S.R., Teakle, G.R., Plaha, P., Kim, J.H., Allender, C.J., Beynon, E., Piao, Z.Y., Soengas, J.P., Han, T.H., King, G.J., Barker, G.C., Hand, P., Lydiate, D.J., Batley, J., Edwards, D., Koo, D.H., Bang, J.W., Park, B.S. & Lim, Y.P. (2007). The reference genetic linkage map for the multinational *Brassica rapa* genome sequencing project. *Theoretical and Applied Genetics*, 111, 777-792
- Cooper Seeds, www.cooperseeds.com
- Crawley, M.J. & Brown, S.L., (1995) Seed limitation and the dynamics of feral oilseed rape on the M25 motorway. *Proceedings of the Royal Society, London*, 259, 49-54
- Crawley, M.J. & Brown, S.L. (2004). Spatially structures population dynamics in feral oilseed rape. *Proceedings of the Royal Society of London, Biological Sciences*, 271, 1909-1916.
- Crawley, M.J., Hails, R.S., Rees, M., Kohn, D. & Buxton, J. (1993) Ecology of transgenic oilseed rape in natural habitats. *Nature*, 363, 620-623
- Crawley, M.J., Brown, S.L., Hails, R.S., Kohn, D.D. & Rees, M. (2001) Transgenetic crops in natural habitats. *Nature*, 409, 682-683
- Cropwise, www.cropwise.co.uk, [01.07.2008]
- Dale, P.J., Clarke, B. & Fontes, E.M.G. (2002) Potential for the environmental impact of transgenic crops. *Nature Biotechnology*, 20, 567-574
- Damgaard, C. & Kjellsson, G. (2005) Gene flow of oilseed rape (*Brassica napus*) according to isolation distance and buffer zone. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 108, 291-301

- Daniell, H. (2002) Molecular strategies for gene containment in transgenic crops. *Nature Biotechnology*, 20, 581-586
- Daniels, R., Boffey, C., Mogg, R., Bond, J. & Clarke, R. (2005) The potential for dispersal of herbicide tolerance genes from genetically-modified, herbicide-tolerant oilseed rape crops to wild relatives. *Report to the Department for the Environment, Food and Rural Affairs (DEFRA)*, No. EPG 1/51/151, London, UK., www.defra.gov.uk
- Darmency, H., Lefol, E. & Fleury, A. (1998) Spontaneous hybridization between oilseed rape and wild radish. *Molecular Ecology*, 7, 1467-1473
- Davis, A.R., Fowke, L.C., Sawhney, V.K. & Low, N.H. (1996) Floral nectar secretion and ploidy in *Brassica rapa* and *B. napus* (Brassicaceae). II. Quantified variability of nectary structure and functioning in rapid-cycling lines. *Annals of Botany*, 77, 223-234
- Deutscher Wetterdienst, www.dwd.de [09.06.2008]
- Desplanque, B., Boundry, P., Broomberg, K., Saumitou-Laprade, P., Cuguen, J., Van Dijk, H. (1999) Genetic diversity and gene flow between wild, cultivated and weedy forms of *Beta vulgaris* L. (Chenopodiaceae), assessed by RFLP and microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 98, 1194-1201
- Devaux, C., Lavigne, C., Falentin-Guyomarc'h, H., Vautrin, S., Lecomte, J. & Klein, E.K. (2005) High diversity of oilseed rape pollen clouds over an agro-ecosystem indicates long-distance dispersal. *Molecular Ecology*, 14, 2269-2280
- Devaux, C., Klein, E.K., Lavigne, C., Sausse, C. & Messéan, A. (2008) Environmental and landscape effects on cross-pollination rates observed at long distance among French oilseed rape (*Brassica napus*) commercial fields. *Journal of Applied Ecology*, 45, 803-812
- Devos, Y., De Schrijver, A. and Reheul, D. (2009) Quantifying the introgressive hybridisation propensity between transgenic oilseed rape and its wild/weedy relatives. *Environmental Monitoring and Assessment*, 149, 303-322
- D'Hertefeldt, T., Jørgensen, R.B. & Pettersson, L.B. (2008) Long-term persistence of GM oilseed rape in the seedbank. *Biology Letters*, 4, 314-317
- Diepenbrock, W. (2000) Yield analysis of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) a review. *Field Crop Research*, 67, 35-49
- Diepenbrock, W. (2006) Raps. Kapitel 1.2. in: *Handbuch des Pflanzenbaues 4. Öfrüchte, Faserpflanzen, Arzneipflanzen und Sonderkulturen*. Heyland, K.U., Hanus, H. & Keller, E.R. (Hrsg.), Ulmer, Stuttgart, Deutschland.
- Dietz-Pfeilstetter, A. (2005) Das Ausbreitungsverhalten von Rapspflanzen. *bioSicherheit: Gentechnik – Pflanzen – Umwelt, SiFo-Datenbank*. www.biosicherheit.de/de/sicherheitsforschung/5.doku.html [01.07.2008]
- Dietz-Pfeilstetter, A. (2007) Zur Debatte: „Koexistenz erfordert mehr Aufwand, ist aber grundsätzlich möglich.“ Ist gv-Raps koexistenzfähig? - Fragen an Antje Dietz-Pfeilstetter. *bioSicherheit: Gentechnik – Pflanzen – Umwelt*. www.biosicherheit.de/de/raps/umwelt/578.doku.html [01.07.2008]
- Dietz-Pfeilstetter, A., Metge, K., Schönfeld, J. & Zwerger, P. (2006) Assessment of transgene spread from oilseed rape by population dynamic and molecular analyses of feral oilseed rape. *Journal of Plant Diseases and Protection*, Special Issue XX, 39-47
- Doležel, J. (1991) Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in higher plants. *Phytochemical Analysis*, 2, 143-154
- Doležel, J., Greilhuber, J., Lucretti, S., Meister, A., Lysak, M.A., Nardi, L., & Obermeyer, R. (1998) Plant genome size estimation by flow cytometry: inter-laboratory comparison. *Annals of Botany*, 82(A), 17-26
- DSV, Deutsche Saatveredelung AG, www.dsv.de, [01.07.2008]
- Duchesne, P. & Bernatchez, L. (2002) AFLPop: a computer program for simulated and real population allocation, based on AFLP data. *Molecular Ecology Notes*, 2, 380-383
- Dukes, J.S. & Mooney, H.A. (1999) Does global change increase the success of biological invaders? *Trends in Ecology and Evolution*, 14, 135-139

- Düll, R. & Kutzelnigg, H. (2005) *Taschenlexikon der Pflanzen Deutschlands*. 6. Auflage, Quelle und Meyer, Wiebelsheim, Deutschland.
- Durka, W., Bossdorf, O., Prati, D. & Auge, H. (2005) Molecular evidence for multiple introductions of garlic mustard (*Alliaria petiolata*, Brassicaceae) to North America. *Molecular Ecology*, 14, 1697-1706
- Eber, F., Chèvre, A.M., Baranger, A., Vallée, P., Tanguy, X. & Renard, M. (1994) Spontaneous hybridization between male-sterile oilseed rape and two weeds *Theoretical and Applied Genetics*, 88, 362-368
- Elling, B., Neuffer, B. und Bleeker, W. (2009a) Sources of genetic diversity in feral oilseed rape (*Brassica napus* L.) populations. *Basic and Applied Ecology*, 10, 544-553
- Elling, B., Hochkirch, M., Neuffer, B., Bleeker, W. (2009b, angenommen) Hybridisation between oilseed rape (*Brassica napus*) and *Brassica rapa* under field conditions, *Flora*
- Ellstrand, N.C. (2003) Current knowledge of gene flow in plants: implications for transgene flow. *Philosophical Transactions of the Royal Society, London, Series B, Biological Sciences*, 358, 1163-1170
- Ellstrand, N.C. & Schierenbeck, K.A. (2000). Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants. *Proceedings of the Royal Society of London, Biological Sciences*, 97, 7043-7050
- Ellstrand, N.C., Prentice, H.C. & Hancock, J.F. (1999) Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 30, 539-563
- Europäisches Parlament (2003) Verordnung (EG) Nr. 1830/2003 des Europäischen Parlamentes und des Rates über die Rückverfolgbarkeit und Kennzeichnung von genetisch veränderten Organismen und über die Rückverfolgbarkeit von aus genetisch veränderten Organismen hergestellten Lebensmitteln und Futtermitteln sowie zur Änderung der Richtlinie 2001/18/EG. *Amtsblatt der Europäischen Union*, L 268, 24-28
- Excoffier, L., Laval, G. & Schneider, S. (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, 47-50
- Farm Direct, www.farmdirectonline.co.uk, [01.07.2008]
- Feder, J. (2000) Bemerkenswerte neuere Pflanzenfunde in Südwest-Niedersachsen. *Osnabrücker Naturwissenschaftliche Mitteilungen*, 26, 53-68
- Fellous, M. & Messéan, A. (2004) Potential environmental impacts associated with large-scale herbicide-tolerant GM oilseed rape crops: scientific opinion released by the Biomolecular Engineering Commission (CGB) on February 13, 2004. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 11, 246-252
- FitzJohn, R.G., Armstrong, T.T., Newstrom-Lloyd, L.E., Wilton, A.D. & Cochrane, M. (2007) Hybridisation within *Brassica* and allied genera: evaluation of potential for transgene escape. *Euphytica*, 158, 209-230
- FLL (2007) *Regel-Saatgut-Mischungen Rasen RSM 2008*. Forschungsgesellschaft Landschaftsentwicklung Landschaftsbau e.V. (Hrsg.). Bonn, Deutschland.
- FloraWeb, *Daten und Informationen zu Wildpflanzen und zur Vegetation Deutschlands*. Bundesamt f. Naturschutz, www.floraweb.de/pflanzenarten/artenhome.xsql?suchnr=874 & [27.05.2008]
- Ford, C.S., Allainguillaume, J., Grilli-Chantler, P., Cuccato, G., Allender, C.J. & Wilkinson, M.J., (2006) Spontaneous gene flow from rapeseed (*Brassica napus*) to wild *Brassica oleracea*. *Proceedings of the Royal Society, Biological Sciences*, 273, 3111-3115
- Franks, S.J., Weis, A.E. (2008) A change in climate causes rapid evolution of multiple life history traits and their interactions in an annual plant. *Journal of Evolutionary Biology*, 21, 1321-1334
- Franks, S.J., Sim, S. & Weis, A.E. (2007) Rapid evolution of flowering time by an annual plant in response to a climate fluctuation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104, 1278-1282
- Fredshavn, J.R., Poulsen, G.S., Huybrechts, I. & Rudelsheim, P. (1995) Competitiveness of transgenic oilseed rape. *Transgenic Research*, 4, 142-148

- Funk, T. (2006) *Monitoring der Überdauerung und Verbreitung von transgenem Raps (Brassica napus L.)*. PhD thesis, TU München, Deutschland.
- Gammon, M.A., Grimsby, J.L., Tsirelson, D. & Kessli, R. (2007) Molecular and morphological evidence reveals introgression in swarms of the invasive taxa *Fallopia japonica*, *F. sacchalinensis*, and *F. xbohemica* (Polygonaceae) in the United States. *American Journal of Botany*, 94, 948-956
- Garnier, A., Pivard, S. & Lecomte, J. (2008) Measuring and modelling anthropogenic secondary seed dispersal along roadverges for feral oilseed rape. *Basic and Applied Ecology*, 9, 533-541
- Garve (2004) *Rote Liste und Florenliste der Farn- und Blütenpflanzen in Niedersachsen und Bremen*. 5. Fassung, Informationsdienst Naturschutz Niedersachsen 1/2004, NLWKN, Hannover, Deutschland.
- Garve, E. (2007) *Verbreitungsatlas der Farn- und Blütepflanzen in Niedersachsen und Bremen*. Naturschutz und Landschaftspflege in Niedersachsen, NLWKN, Hannover, Heft 43, 1-507
- GenEERA (2007) *Forschungsverbund GenERERA: Modellierungen zum großflächigen Ausbreitungsverhalten von Raps*. www.BioSicherheit.de
- Genton, B.J., Skykoff, J.A. & Giraud, T. (2005) High genetic diversity in French invasive populations of common ragweed, *Ambrosia artemisiifolia*, as a result of multiple sources of introductions. *Molecular Ecology*, 14, 4275-4285
- Gerowitt, B. & Görke, K. (2007) Unkräuter in Raps Kapitel 7.1., in: *Winterraps – das Handbuch für Profis* Christen, O. & Friedt, W. (Hrsg.), DLG-Verlag, Frankfurt a.M., Deutschland, 129-136
- Greilhuber, J. & Eber, I. (1994) Genome size variation in *Pisum sativum*. *Genome* 37, 646-655
- Gressel, J. (2005) Introduction – the challenges of ferality. In: *Crop ferality and volunteerism*. Gressel (Hrsg.). Taylor and Francis, Boca Raton, USA.
- Gueritain, G., Sester, M., Eber, F., Chèvre, A.M. & Darmency, H. (2002) Fitness of backcross six of hybrids between transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) and wild radish (*Raphanus raphanistrum*). *Molecular Ecology*, 11, 1419-1426
- Gulden, R.H., Shirtliffe, S.J. & Thomas, A.G. (2002) Harvest losses of canola (*Brassica napus*) causes large seedbank inputs. *Weed Science*, 51, 83-86
- Haeupler, H., Loos, G.H., Sarazin, A., & Surkus, B. (2004) Geobotanische Untersuchungen zum Vergleich von gentechnisch verändertem und "konventionellem" Raps. Methoden und Ergebnisse einer ersten Studienphase für ein Konzept zu einem Langzeitmonitoring gentechnisch veränderter Pflanzen. *Floristische Rundbriefe*, Beiheft 7, 3-109
- Hails, R.S. & Morley, K. (2005) Genes invading new populations: a risk assessment perspective. *Trends in Ecology and Evolution*, 20, 245-252
- Halfhill, M.D., Millwood, R.J., Raymer, P.L. & Stewart Jr., C.N. (2002) Bt-transgenic oilseed rape hybridization with its weedy relative, *Brassica rapa*. *Environmental Biosafety Research*, 1, 19-28
- Halfhill, M.D., Warwick, S.I. & Stewart, C.N. Jr. (2004a) Transgene Expression and genetic introgression associated with the hybridization of GFP transgenic canola (*Brassica napus* L.) and wild accessions of bird rape (*Brassica rapa* L.). Chapter 20, in: *Introgression from genetically modified plants into wild relatives*. Den Nijs, H.C.M., Bartsch, D. & Sweet, J. (Hrsg.), CABI Publishing Oxfordshire, UK; Cambridge, USA. 263-277
- Halfhill, M.D., Zhu, B., Warwick, S.I., Raymer, P.L., Millwood, R.J., Weissinger, A.K. & Stewart Jr., C.N. (2004b) Hybridization and backcrossing between transgenic oilseed rape and two related weed species under field conditions. *Environmental Biosafety Research*, 3, 73-81
- Halfhill, M.D., Sutherland, J.P., Moon, H.S., Poppy, G.M., Warwick, S.I., Weissinger, A.K., Rufty, T.W., Raymer, P.L. & Stewart Jr., C.N. (2005) Growth, productivity, and competitiveness of introgressed weedy *Brassica rapa* hybrids selected for the presence of Bt *cry1AC* and *gfp* transgenes. *Molecular Ecology*, 14, 3177-3189
- Hall, L., Topinka, K., Huffman, J., Davis, L. & Good, A. (2000) Pollen flow between herbicide-resistant *Brassica napus* is the cause of multiple-resistant *B. napus* volunteers. *Weed Science*, 48, 688-694.

- Hall, L., Rahman, M., Gulden, R. & Thomas, G. (2005) Volunteer oilseed rape - will herbicide-resistance traits assist fertility? In: J. Gressel (Hrsg.), *Crop fertility and volunteerism*. Taylor and Francis, Boca Raton, USA. 59-79.
- Hansen, L.B., Siegesmund, H.R. & Jørgensen, R.B. (2001) Introgression between oilseed rape (*Brassica napus* L.) and its weedy relative *B. rapa* L. in a natural population. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 48, 621-627.
- Hansen, L.B., Siegesmund, H.R. & Jørgensen, R.B. (2003) Progressive introgression between *Brassica napus* (oilseed rape) and *B. rapa*. *Heredity*, 91, 276-283
- Hauser, T.P. & Østergård, H. (1999) Precocious germination of *Brassica rapa* x *B. napus* seeds within pods. *Hereditas*, 130, 89-93
- Hauser, T.P., Jørgensen, R.B. & Østergård, H. (1997) Preferential exclusion of hybrids in mixed pollinations between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy *B. campestris* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, 84, 756-762
- Hauser, T.P., Shaw, R.G. & Østergård, H. (1998a) Fitness of F1 hybrids between weedy *Brassica rapa* and oilseed rape (*B. napus*). *Heredity*, 81, 429-435
- Hauser, T.P., Shaw, R.G. & Østergård, H. (1998b) Fitness of backcross and F2 hybrids between weedy *Brassica rapa* and oilseed rape (*B. napus*). *Heredity*, 81, 436-443
- Hauser, T.P., Damgaard, C. & Jørgensen, R.B. (2003) Frequency-dependent fitness of hybrids between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy *B. rapa* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, 90, 571-578
- Haygood, R., Ives, A.R. & Andow, D.A. (2003) Consequences of recurrent gene flow from crops to wild relatives. *Proceedings of the Royal Society, Biological Sciences*, 20, 1879-1886
- Heap, I.M. (1997) The occurrence of herbicide-resistant weeds worldwide. *Pest Science*, 51, 235-243
- Hedge, S.G., Nason, J.D., Clegg, J.M. & Ellstrand, N.C. (2006) The evolution of California's wild radish has resulted in the extinction of its progenitors. *Evolution*, 1187-1197
- Heenan, P.B., Mitchell, A.D. & Koch, M. (2002) Molecular systematics of the New Zealand *Pachycladon* (Brassicaceae) complex: generic circumscription and relationships to *Arabidopsis* sens. lat. and *Arabis* sens. lat. *New Zealand Journal of Botany*, 40, 543-562
- Heenan, P.B., FitzJohn, R.G. & Dawson, M.I. (2004) Diversity of *Brassica* (Brassicaceae) species naturalised in Canterbury, New Zealand. *New Zealand Journal of Botany*, 42, 815-832
- Heyland, K.U. (2006) Rübsen. Kapitel 1.3, in: *Handbuch des Pflanzenbaues 4. Öfrüchte, Faserpflanzen, Arzneipflanzen und Sonderkulturen*. Heyland, K.U., Hanus, H. & Keller, E.R. (Hrsg.), Ulmer, Stuttgart, Deutschland.
- Heyn, F.W. (1976) Analysis of unreduced gametes in the Brassicaceae by crosses between species and ploidy levels. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*, 78, 13-30
- Hjelmqvist, H. (1950) The flax weeds and the origin of cultivated flax. *Botaniska Notiser*, 2., 257-298
- Holm, L.G., Pancho, J.V., Herberger, J.P. & Plucknett, D.L. (1991) *A geographical atlas of world weeds*. Krieger Publishing Company, Malabar, USA.
- Hong, C.P., Plaha, P., Koo, D.-H., Yang, T.-J., Choi, S.R., Le, Y.K., Uhm, T., Bang, J.-W., Edwards, D., Bancroft, I., Park, B.-S., Lee, J. & Lim, Y.P. (2006) A survey of the *Brassica rapa* genome by BAC-End sequence analysis and comparison with *Arabidopsis thaliana*. *Molecules and Cells*, 22, 300-307
- Hong, C.P., Piao, Z.Y., Kang, T.W., Batley, J., Yang, T.-L., Hur, Y.-K., Bhak, J., Park, B.-S., Edwards, D. & Lim, Y.P. (2007) Genomic distribution of simple sequence repeats in *Brassica rapa*. *Molecules and Cells*, 23, 349-356
- Hou, B.-K., Zhou, Y.-H., Wan, L.-H., Zhang, Z.-L., Shen, G.-F., Chen, Z.-H. & Hu, Z.-M. (2003) Chloroplast transformation in oilseed rape. *Transgenic Research*, 12, 111-114
- Howard H.W. 1939. The size of seeds in diploid and autotetraploid *Brassica oleracea* L. *Journal of Genetics*, 38, 325-40

- Hurka, H., Bleeker, W. & Neuffer, B. (2003) Evolutionary processes associated with biological invasions in the Brassicaceae. *Biological Invasions*, 5, 281-292
- Hüsken, A. & Dietz-Pfeilstetter, A. (2007) Pollen-mediated intraspecific gene flow from herbicide resistant oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Transgenic Research*, 16, 557-569
- Imperial Whitetail, www.whitetailinstitute.com, [01.07.2008]
- ISAAA (2007) Brief 37-2007: Executive summary. *Global Status of commercialized biotech/ GM crops in 2007*, International service for the acquisition of agri-biotech applications. www.isaaa.org [30.10.2008]
- Jarne, P. & Lagoda, P.J.L. (1996) Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trend in Ecology and Evolution*, 11, 424-429
- Jauker, F. & Wolters, V. (2008) Hover flies are efficient pollinators of oilseed rape *Oecologia*, 156, 819-823
- Jenczewski, E., Ronfort, J. & Chèvre, A.-M. (2003) Crop-to-wild gene flow, introgression and possible fitness effects of transgenes. *Environmental Biosafety Research*, 2, 9-24
- Johannessen, M.M., Andersen, B., Damgaard, C. & Jørgensen, R.B. (2005) Maternal inheritance of chloroplasts between *Brassica rapa* and F1-hybrids demonstrated by cpDNA markers specific to oilseed rape and *B. rapa*. *Molecular Breeding*, 16, 271-278
- Johannessen, M.M., Andersen, B.A. & Jørgensen, R.B. (2006) Competition affects gene flow from oilseed rape (♂) to *Brassica rapa* (♀). *Heredity*, 96, 360-367
- Johnston, J.S., Bennett, M.D., Rayburn, A.L., Galbraith, D.W. & Price, H.J., (1999) Reference standards for determination of DNA content of plant nuclei. *American Journal of Botany*, 86, 609-613
- Johnston, J.S., Pepper, A.E., Hall, A.E., Chen, Z.J., Hodnett, G., Drabek, J., Lopez, R. & Price, H.J. (2005) Evolution of genome size in Brassicaceae. *Annals of Botany* 95, 229-235
- Jørgensen, R.B. & Andersen, B. (1994) Spontaneous hybridization between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy *B. campestris* (Brassicaceae): a risk of growing genetically modified oilseed rape. *American Journal of Botany*, 81, 1620-1626
- Jørgensen, T., Hauser, T.P. und Jørgensen, R.B. (2007) Adventitious presence of other varieties in oilseed rape (*Brassica napus*) from seed banks and certified seeds. *Seed Science Research*, 17, 115-125
- Kerlan, M.C., Chèvre, A.M., Eber, F., Baranger, A. & Renard, M (1992) Risk assessment of outcrossing of transgenic rapeseed to related species: I. Interspecific hybrid production under optimal conditions with emphasis on pollination and fertilisation. *Euphytica*, 62, 145-153
- Kiepenkerl (o.J.) Kiepenkerl, der Hegemeister, Wildackerbroschüre. www.kiepenkerl.de [17.09.2008]
- Kings, www.kingscrops.co.uk, [01.07.2008]
- Knispel, A.L., McLachlan, S.M., Van Acker, R. & Friesen, L.F. (2007) Gene flow and multiple herbicide resistance in escaped canola populations. *Weed Science*, 56, 72-80
- Kolbe, J.J., Glor, R.E., Schettino, R.L., Lara, A.C., Larson, A. & Losos, J.B. (2004) Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. *Nature*, 431, 177-181
- Koller, F. (2007) *Genetische und phänotypischer Charakterisierung von Brassica-Wildpopulationen aus dem Osnabrücker Land im Vergleich mit Kultursorten der Region*. Diplomarbeit an der Universität Osnabrück, Deutschland, unveröffentlicht.
- Körper-Grohne, U. (1995) *Nutzpflanzen in Deutschland – von der Vorgeschichte bis heute*. Nikol, Hamburg, Deutschland.
- Kowarik, I. (1995) Time lags in biological invasions with regard to the success and failure of alien species. In: Pyšek P., Prach, K., Rejmanek, M. & Wade, M. (Hrsg.) *Plant invasions: general aspects and special problems*. SPB Academic, Amsterdam, Niederlande. 15-38
- Kowarik, I. (2002) Biologische Invasionen in Deutschland: zur Rolle nichtheimischer Pflanzen. In: Kowarik, I. & Starfinger, U. (Hrsg.) *Biologische Invasionen. Herausforderung zum Handeln? NEOBIOTA*, 1, 5-24

- Kowarik, I. (2003) *Biologische Invasionen: Neophyten und Neozoen in Mitteleuropa*. Ulmer, Stuttgart, Deutschland.
- KWS Saat AG, www.kws.de
- Lagercrantz, U., Ellegren, H. & Anderson, L. (1993) The abundance of various polymorphic microsatellite motifs differs between plants and vertebrates. *Nucleic Acids Research*, 21, 1111-1115
- Landbo, L., Andersen, B. & Jørgensen, R.B. (1996) Natural hybridization between oilseed rape and a wild relative: hybrids among seeds from weedy *B. campestris*. *Hereditas*, 125, 89-91
- Landbo, L. & Jørgensen, R.B. (1997) Seed germination in weedy *Brassica campestris* and its hybrids with *B. napus*: implications for risk assessment of transgenic oilseed rape. *Euphytica*, 97, 209-216
- Lavigne, C., Klien, E.K., Vallée, P., Pierre, J., Godelle, B. & Renard, M. (1998) A pollen-dispersal experiment with transgenic oilseed rape. Estimation of the average pollen dispersal of an individual plant within a field. *Theoretical and Applied Genetics*, 96, 886896
- Lee, C.E. (2002) Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Ecology & Evolution*, 17, 386-391.
- Leflon, M., Eber, F., Letanneur, J.C., Chelysheva, L., Coriton, O., Huteau, V., Ryder, C.D., Barker, G., Jenczewski, E. & Chèvre, A.-M. (2006) Pairing and recombination at meiosis of *Brassica rapa* (AA) × *Brassica napus* (AACC) hybrids. *Theoretical and Applied Genetics*, 113, 1467-1480
- Li, Y.C., Korol, A.B., Fahima, T., Beiles, A. & Nevo, E. (2002) Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Molecular Ecology*, 11, 2453-2465
- Litt, M. & Luty, J.A. (1989) A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics*, 44, 397-401
- Loos, G.H. (2004) Umgrenzung und Gliederung der Gattungen der Brassicaceen-Tribus *Brassicaceae* in Mitteleuropa. *Floristische Rundbriefe*, Beiheft 7, 113-135
- Loos, G.H., Surkus, B., Streckenbach, M., Odparlik, H. & Haeupler, H. (2004) Erfahrungen und Ergebnisse geobotanischer Studien an verwildertem Raps im Ruhrgebiet – eine Übersicht. *Floristische Rundbriefe*, Beiheft 7, 110-112
- López-Granadoz, F. & Lutman, P.J.W. (1998) Effect of environmental conditions on the dormancy and germination of volunteer oilseed rape seed (*Brassica napus*). *Weed Science*, 46, 419-423
- Lowe, A.J., Jones, A.E., Raybould, A.F., Tricks, M., Moule, C.L. & Edwards, K.J. (2002) Transferability and genome specificity of a new set of microsatellite primers among *Brassica* species of the U triangle. *Molecular Ecology Notes*, 2, 7-11
- Lowe, A.J., Moule, C., Trick, M. & Edwards, K.J. (2003) Efficient large scale development of microsatellites for marker and mapping applications in *Brassica* crop species. *Theoretical and Applied Genetics*, 108, 1103-1112
- Lutman, P.J.W. (1993) The occurrence and persistence of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). *Aspects of Applied Biology*, 35, 29-35
- Lutman, P.J.W., Freeman, S.E. & Pekrun, C. (2003) The long-term persistence of seeds of oilseed rape (*Brassica napus*) in arable fields. *Journal of Agricultural Science*. 141, 231-240.
- Lutman, P.J.W., Berry, K., Payne, R.W., Simpson, E., Sweet, J.B., Champion, G.T., May, M.J., Wightman, P., Walker, K. & Lainsbury, M. (2005) Persistence of seeds from crops of conventional and herbicide tolerant oilseed rape (*Brassica napus*). *Proceedings of the Royal Society, B*, 272, 1909-1915
- Lynch, M. & Walsh, B. (1998). *Genetics and analysis of quantitative traits*. Sinauer Associates, Sunderland, USA.

- Mackay, G.R. (1973) Interspecific hybrids between forage rape (*Brassica napus* L.) and turnip (*Brassica campestris* L. ssp. *rapifera*) as alternatives to forage rape. An exploratory study with single pair crosses. *Euphytica*, 22, 495-499
- Marie, D. & Brown, S. (1993) A cytometric exercise in plant DNA histograms, with 2C values for 70 plant species. *Biology of the Cell*, 78, 41-51
- Marquard, E. & Durka, W. (2005) *Auswirkungen des Anbaus gentechnisch veränderter Pflanzen auf Umwelt und Gesundheit: Potentielle Schäden und Monitoring*. UFZ Leipzig-Halle
- Mason, P., Brown, L., Warwick, S.I., Zhu, B. & Stewart Jr., C.N. (2003) Transgenic Bt-producing *Brassica napus*: *Plutella xylostella* selection pressure and fitness of weedy relatives. *Environmental Biosafety Research*, 2, 263-276
- McNaughton, I.H. (1995a). Turnip and relatives: *Brassica campestris* (Cruciferae). In: *Evolution of crop plants*. Smartt, J. & Simmonds, N.W. (eds.), 2. Ed. Longman Scientific and Technical, Harlow, UK. 62-67.
- McNaughton, I.H. (1995b) Swedes and rape: *Brassica napus* (Cruciferae). In: *Evolution of crop plants*. Smartt, J. & Simmonds, N.W. (eds.), 2. Ed. Longman Scientific and Technical, Harlow, UK. 68-75.
- Menzel, G. (2006). *Verbreitungsdynamik und Auskreuzungspotenzial von Brassica napus L. (Raps) im Großraum Bremen. Basiserhebung zum Monitoring von Umweltwirkungen transgener Kulturpflanzen*. GCA-Verlag, Waabs, Deutschland.
- Mikkelsen, T.R., Jensen, J. & Jørgensen, R.B (1996) Inheritance of oilseed rape (*Brassica napus*) RAPD markers in a backcross progeny with *Brassica campestris*. *Theoretical and Applied Genetics*, 92, 492-497
- Mierwald, U. & Romahn, K. (2006) Die Farn- und Blütepflanzen Schleswig-Holsteins. Rote List, Band 1. Landesamt für Natur und Umwelt des Landes Schleswig Holsteins. 4. Fassung. Schriftenreihe LANU SH – Natur – RL 18-1
- Mooney, H.A., Cleland, E.E., (2001) The evolutionary impact of invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98, 5446-5451
- Moyes, C.L., Lilley, J.M., Casais, C.A., Cole, S.G., Haeger, P.D. & Dale, P.J. (2002) Barriers to gene flow from oilseed rape (*Brassica napus*) into populations of *Sinapis arvensis*. *Molecular Ecology*, 11, 102-112
- MPIZ Köln, *Verbreitungskarte von Raps*. www.mpiz-koeln.mpg.de/oeffentlichkeitsarbeit/kulturpflanzen/index.html [11.06.2008]
- Mühr, B. (2007) *Klimadiagramm Osnabrück 1971-2000*, www.klimadiagramme.de [09.06.2008]
- Müller, M. (2007) *Tetraploider Brassica rapa L. (Brassicaceae) als Trittstein für Genfluss*. Diplomarbeit an der Universität Osnabrück, Detschland, unveröffentlicht.
- Narayan RKJ. (1998) The role of genomic constraints upon evolutionary changes in genome size and chromosomal organization. *Annals of Botany*, 82, Supplement A, 57–66
- Nasrallah, J.B. & Nasrallah, M.E. (1989) The molecular genetics of self-incompatibility in *Brassica*. *Annual Review of Genetics*, 23, 121-139
- Neseed, www.neseed.com, [01.07.2008]
- Neuffer, B. & Bartelheim, S. (1989) Gen-ecology of *Capsella bursa-pastoris* from an altitudinal transect in the Alps. *Oecologia*, 81, 521-527
- Neuffer, B. & Hurka, H. (1986) Variation of development time until flowering in natural populations of *Capsella bursa-pastoris* (Cruciferae). *Plant Systematics and Evolution*, 152, 277-296
- Neuffer, B. & Hurka, H. (1999) Colonisation history and introduction dynamics of *Capsella bursa-pastoris* (Brassicaceae) in North America: isozymes and quantitative traits. *Molecular Ecology*, 8, 1667-1681
- Nishiyama, I. & Inomata, N. (1966) Embryological studies on cross-incompatibility between 2x and 4x in *Brassica*. *Japanese Journal on Genetics*, 41, 27-42
- Norris, C., Sweet, J., Parker, J. & Law, J. (2004) Implications for hybridization and Introgression between oilseed rape (*Brassica napus*) and wild turnip (*B. rapa*) from an agricultural perspective. Chapter 9 in: *Introgression from genetically modified plants into wild relatives*.

- Den Nijs, H.C.M., Bartsch, D. & Sweet, J. (Hrsg.), CABI Publishing Oxfordshire, UK; Cambridge, USA., 107-123
- Novak, S.J. & Mack, R.N. (1993) Genetic variation in *Bromus tectorum* (Poaceae): comparison between native and introduced populations. *Heredity*, 71, 167-176
- Novak, S.J. (2008) The role of evolution in the invasion process. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104, 3671-3672
- Oberdorfer, E. (2001) *Pflanzensoziologische Exkursionsflora für Deutschland und angrenzende Gebiete*. 8. Auflage, Ulmer, Stuttgart, Deutschland.
- Østergaard, L., Kempin, S.A., Bies, D., Klee, H.J., & Yanofsky, M.F. (2006) Pod shatter-resistant *Brassica* fruit produced by ectopic expression of the FRUITFULL gene. *Plant Biotechnology Journal*, 4, 45-51
- Pan, G., Zhou, Y., Fowke, L.C. & Wang, H. (2004) An efficient method for flow cytometric analysis of pollen and detection of 2n nuclei in *Brassica napus* pollen. *Plant Cell Reports*, 23, 196-202
- Panetsos, C.A. & Baker, H.G. (1967) The origin of variation in "wild" *Raphanus sativus* (Cruciferae) in California. *Genetica*, 38, 243-274
- Parthasarathy, N. & Rajan, S.S. (1953) Studies on the fertility of autotetraploids of *Brassica campestris* var. *toria*. *Euphytica*, 2, 25-36
- Pascher, K., Macalka-Kampfer, S. & Reiner, H. (2001). *Vegetationsökologische und genetische Grundlagen für die Risikobeurteilung von Freisetzungen von transgenem Raps und Vorschläge für ein Monitoring*. Republic of Austria: Bundesministerium für soziale Sicherheit und Generationen, Sektion IX, Wien, Österreich.
- Pekrun, C. Lutman, P.J.W. & Baeumer, K. (1997) Induction of secondary dormancy in rape seeds (*Brassica napus* L.) by prolonged imbibition under conditions of water stress or oxygen deficiency in darkness. *European Journal of Agronomy* 6, 245-255
- Pertl, M. Hauser, T.P., Damgaard, C. & Jørgensen, R.B. (2002) Male fitness of oilseed rape (*Brassica napus*), weedy *B. rapa* and their F₁ hybrids when pollinating *B. rapa* seeds. *Heredity*, 89, 212-218
- Pessel, F.D, Lecomte, J., Emeriau, V., Krouti, M., Messean, A. & Gouyon, P.H. (2001) Persistence of oilseed rape (*Brassica napus* L.) outside cultivated fields. *Theoretical and Applied Genetics*, 102, 841-846
- Peterson, G., Cunningham, S., Deutsch, L., Erickson, J., Quinlan, A., Raez-luna, E., Tinch, R., Troell, M., Woodbury, P. & Zens, S. (2000) The risks and benefits of genetically modified crops: a multidisciplinary perspective. *Conservation Ecology*, 4, Artikel 13, www.consecol.org/vol4/iss1/art13/ [06.10.2008]
- Petit, R. (2004) Biological invasions at the gene level. *Diversity and Distributions*, 10, 159-165
- Pilson, D. & Prendeville, H.R. (2004) Ecological effects of transgenic crops and the escapen of transgenes into wild populations. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 35, 149-174
- Piquemal, J., Cinquin, E., Couton, F., Rondeau, C., Seignoret, E., Doucet, I., Perret, D., Villeger, M.-J., Vincourt, P. & Blanchard, P. (2005) Construction of an oilseed rape (*Brassica napus* L.) genetic map with SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 111, 1514-1523
- Pivard, S., Adamczyk, K., Lecomte, J., Lavigne, C., Bouvier, A., Deville, A., Gouyon, P. & Huet, S. (2008). Where do the feral oilseed rape populations come from? A large-scale study of their possible origin in a farmland area. *Journal of Applied Ecology*, 45, 476-485
- Plieske, J. & Struss, D. (2001) Microsatellite markers for genome analysis in *Brassica*. I. development in *Brassica napus* and abundance in Brassicaceae species. *Theoretical and Applied Genetics*, 102, 689-694
- Poppendieck, H.-H., Kallen, H.W., Bandt, I. & Riegenberg, J. (1998) Rote Liste und Florenliste der Farn- und Blütepflanzen von Hamburg. *Naturschutz und Landschaftspflege in Hamburg*.
- Poppy, G.M. (2004) Geneflow from GM plants – towards a more quantitative risk assessment. *TRENDS in Biotechnology*, 22, 436-438

- Pyšek, P. (1998) Alien and native species in central European urban floras: a quantitative comparison. *Journal of Biogeographie*, 25, 155-163
- R Development Core Team (2007) *R: A Language and Environment for Statistical Computing. Version R 2.5.0*. R Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich. www.R-project.org
- Ramsey, J. & Schemske, D.W. (1998) Pathways, mechanisms, and rates of polyploidy formation in flowering plants. *Annual Reviews of Ecology and Systematics*, 29, 467-501
- Ramsey J, Schemske D.W. (2002) Neopolyploidy in flowering plants. *Annual Reviews of Ecology and Systematics*, 33, 589-639
- Ramsey, G., Thompson, C. & Squire, G. (2003) *Quantifying landscape-scale gene flow in oilseed rape*. Final Report of DEFRA Project RG0216, Department for Environment, Food and Rural Affairs, London, UK.
- Raybould, A.F. (1999) Transgenes and agriculture – going with the flow? *Trends in Plant Science*, 4, 247-248
- Revierberatungsstelle Wolmersdorf (2008) *Wildackerfibel 2008/2009. Wildackersaaten und Mischungen für Feld- und Wald, Hoch- und Niederwild, Naturland und Blühflächen*. Wildmeister Günter Claußen. www.wilddacker.de, [01.07.2008]
- Rhymer, J.M. & Simberloff, D. (1996) Extinction by hybridisation and introgression. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27, 83-109
- Rich, T.C.G. (1991) *Crucifers of Great Britain and Ireland*. BSBI Handbook No 6, Botanical Society of the British Isles, London, UK.
- Rieger, M.A., Potter, T.D., Preston, C. & Powles, S.B. (2001) Hybridization between *Brassica napus* L. and *Raphanus raphanistrum* L. under agronomic field conditions. *Theoretical and Applied Genetics*, 103, 555-560
- Rieger, M.A., Lamond, M. Preston, C., Powles, S.B. & Roush, R.T (2002) Pollen-mediated movement of herbicide resistance between commercial canola fields. *Science*, 296, 2383-2388
- Rieseberg, L.H. (1997) Hybrid origin of plant species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 28, 359-389
- Rieseberg, L.H. & Carney, S.E. (1998) Tansley Review No. 102: Plant hybridisation. *New Phytologist*, 140, 599-624
- Rieseberg, L.H. & Ellstrand, N.C. (1993) What can molecular and morphological marks tell us about plant hybridisation? *Critical Reviews of Plant Sciences*, 12, 213-241
- Rieseberg, L.H., Kim, S.-C., Randell, R.A., Withney, K.D., Gross, B.L., Lexer, C. & Clay, K. (2007) Hybridisation and the colonisation of novel habitats by annual sunflowers. *Genetica*, 129, 149-165
- Roller, A., Beismann, H. & Albrecht, H. (2003) The influence of soil cultivation on the seed bank of GM-herbicide tolerant and conventional oilseed rape. *Aspects of Applied Biology*, 69, 131-135
- Roller, A., Beismann, H. & Albrecht, H. (2004) Persistence of genetically modified, herbicide-tolerant oilseed rape in soils of former release sites in South Germany. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Sonderheft XIX*, 847-852
- Rothmaler, W. (2000) *Rothmaler - Exkursionsflora von Deutschland, Band 3. Gefäßpflanzen: Atlasband*. Jäger, E.J., and Werner, K. (Hrsg.) 10. Auflage, Spektrum, Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin.
- Rothmaler, W. (2002) *Rothmaler - Exkursionsflora von Deutschland, Band 4. Gefäßpflanzen: kritischer Band*. Jäger, E.J., und Werner, K. (Hrsg.) 9. Auflage, Spektrum, Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin.
- Rudolph, B. (2001). *Entwicklung, Charakterisierung und genetische Kartierung von Mikrosatelliten-Markern beim Raps (Brassica napus L.)*. Cuvillier Verlag, Göttingen, Deutschland.

- Sabghawal, P.S. & Doležel, J. (1993) Interspecific hybridization in *Brassica*: Application of flow cytometry for analysis of ploidy and genome composition in hybrid plants. *Biologia Plantarum*, 35, 169-177
- Saji, H., Nakajima, N., Aono, M., Tamaoki, M., Kubo, A., Wakiyama, S., Hatase, Y. & Nagatsu, M. (2005) Monitoring the escape of transgenic oilseed rape around Japanese ports and roadsides. *Environmental Biosafety Research*, 4, 217-222
- Sakai, A.K., Allendorf, F.W., Holt, J.S., Lodge, D.M., Molofsky, J., With, K.A., Baughman, S., Cabin, R.J., Cohen, J.E., Ellstrand, N.C., McCauley, D.E., O'Neil, P., Parker, I.M., Thompson, J.N. & Weller, S.G. (2001) The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 32, 305-332
- Sala, O.E., Chapin, F.S., Armesto, J.J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E., Huenneke, L.F., Jackson, R.B., Kinzig, A., Leemans, R., Lodge, D.M., Mooney, H.A., Oesterheld, M., Poff, L.R., Sykes, M.T., Walker, B.H., Walker, M. & Wall, D.H., (2000) Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, 287, 1770-1774
- Schlink, S. (1994) *Ökologie der Keimung und Dormanz von Körnerrops (Brassica napus L.) und ihre Bedeutung für eine Überdauerung der Samen im Boden*. Dissertationes Botanicae, Band 22, J. Cramer, Berlin, Stuttgart, Deutschland.
- Schlink, S. (1998). 10 year survival of rape seed (*Brassica napus* L.) in soil. *Journal of Plant Diseases and Protection, Special Issue XVI*, 169-172
- Schlötterer, C. (2000) Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma* 109, 365-371.
- Schmeil, O (1996) *Schmeil, Fitschen - Flora von Deutschland und angrenzender Länder*. 90. Auflage, Quelle und Meyer, Wiesbaden, Deutschland.
- Schwanitz, F. (1948) Untersuchungen an polyploiden Pflanzen I. Feldversuche mit diploiden und autotetraploiden Nutzpflanzen (Senf, Rübsen, Rettich, Grünkohl, Weißkohl, Wirsing und Chicoree.). *Der Züchter*, 19, 70-86
- Scott, S.E. & Wilkinson, M.J. (1998) Transgene risk is low. *Nature*, 393, 320
- Scott, S.E. & Wilkinson, M.J. (1999) Low probability of chloroplast movement from oilseed rape (*Brassica napus*) into wild *Brassica rapa*. *Nature Biotechnology*, 17, 390-392
- Seedland, www.seedland.com,
- Simard, M.-J., Lègère, A, Sèguin-Swartz, G., Nair, H. & Warwick, S.I. (2005) Fitness of double vs. single herbicide resistant canola. *Weed Science*, 53, 489-498
- Simard, M.-J., Lègère, A. & Warwick, S.I. (2006) Transgenic *Brassica napus* fields and *Brassica rapa* weeds in Quebec: sympatry and weed-crop in situ hybridization. *Canadian Journal of Botany*, 84, 1842-1851
- Snow, A.A., Andersen, B. & Jørgensen, R.B. (1999) Costs of transgenic herbicide resistance introgressed from *Brassica napus* into weedy *B. rapa*. *Molecular Ecology*, 8, 605-615
- Snow, A.A., Uthus, K.L. & Culley, T.M. (2001) Fitness of hybrids between weedy and cultivated Radish: Implications for weed evolution. *Ecological Applications*, 11, 934-943
- Song, K. & Osborn, T.C. (1992) Polyphyletic origin of *Brassica napus*: new evidence based on organelle and nuclear RFLP analyses. *Genome*, 35, 992-1001
- Song, K., Lu, P., Tang, K. & Osborn, T.C. (1995) Rapid genome change in synthetic polyploids of *Brassica* and its implications for polyploid evolution. *Proceedings of the National Academy of Science*, 92; 7719-7723
- Srinivasachar, D. & Singh, K.P. (1967) Induced allopolyploidisation of autotetraploid *Brassica campestris*. *Genetica*, 38, 375-380
- Statistisches Bundesamt (2004) *Landwirtschaft in Zahlen 2003*. Statistisches Bundesamt Deutschland, Wiesbaden, Deutschland.
- Statistisches Bundesamt (2007) *Aussaatflächen 2007: Weiterer Rückgang bei Sommerkulturen*. Statistisches Bundesamt Pressemitteilung No. 216, www.destatis.de [18.02.2008]
- Statistisches Bundesamt (2008) *Herbstaussaaten 2007: Mehr Wintergetreide, weniger Raps*. *Statistisches Bundesamt Pressemitteilung No. 192*, www.destatis.de [27.05.2008]

- Stebbins, G.L. (1959) The role of hybridisation in evolution. *Proceedings of the American Philosophical Society*, 103, 231-251
- Steffan-Dewenter, I. (2003) Seed set of male-sterile and male-fertile oilseed rape (*Brassica napus*) in relation to pollinator density. *Apidologie*, 34, 227-235
- Suabe, K., Morgan, C. & Bancroft, I. (2008). Integration of *Brassica* A genome genetic linkage map between *Brassica napus* and *B. rapa*. *Genome*, 51, 169-176
- Suarez, A. & Tsutsui, N.D. (2008) The evolutionary consequences of biological invasions. *Molecular Ecology*, 17, 351-360
- Sutherland, J.P., Justinova, L. & Poppy, G.M. (2006) The response of crop – wild *Brassica* hybrids to simulated herbivory and interspecific competition: Implications for transgene introgression. *Environmental Biosafety Research*, 5, 15-25
- Swaminathan, M.S. & Sulbha, K. (1959) Multivalent frequency and seed fertility in raw and evolved tetraploids of *Brassica campestris* var. *toria*. *Zeitschrift für Vererbungslehre*, 90, 385-392
- Tiedje, J.M., Colwell, R.K., Grossman, Y.L., Hodson, R.E., Lenski, R.E., Mack, R.N. & Regal, P.J. (1989) The planned introduction of genetically engineered organisms: ecological considerations and recommendations. *Ecology*, 70, 298-315
- Tomiuk, J., Hauser, T.P. & Jørgensen, R.B. (2000) A- or C- chromosomes, does it matter for the transfer of transgenes from *Brassica napus*. *Theoretical and Applied Genetics*, 100, 750-754
- Tommasini, L., Batley, J., Arnold, G.M., Cooke, R.J., Donini, P., Law, J.-R., Lowe, C., Moule, C., Trick, M. and Edwards, K.J. (2003) The development of multiplex simple sequence repeat (SSR) markers to complement distinctness, uniformity and stability testing of rape (*Brassica napus* L.) varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 106, 1091-1101
- TransGen, *Transparenz für Gentechnik bei Lebensmitteln*. www.transgen.de [27.05.2008]
- Troll, C. & Pfaffen, K.H. (1964) Karte der Jahreszeitenklimate der Erde. *Erdkunde*, 18, 5-28
- U, N. (1935) Genome-analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *Japanese Journal of Botany*, 7, 389-452
- UFOP, Union zur Förderung von Öl- und Proteinpflanzen e.V., www.ufop.de
- Utz, H. & Ollier, C. (2007) Anbauflächen der Europäischen Union 2007: Rapsflächen +13,6%, Getreideflächen +1,5% und Zuckerrübenflächen -2,9%. *Statistik kurz gefasst. Landwirtschaft und Fischerei*. Eurostat, Europäische Gemeinschaften 86/2007.
- Uzunova, M. und Ecke, W. (1999) Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellites in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Plant Breeding*, 118, 323-326
- Vacher, C., Weis, A.E., Hermann, D., Kossler, T., Young, C. & Hochberg, M.E. (2004) Impact of ecological factors on the initial invasion of Bt transgenes into wild populations of birdseed rape (*Brassica rapa*). *Theoretical and Applied Genetics*, 109, 806-814
- Vargese, J.P., Rudolph, B., Uzunova, M. und Ecke, W. (2000) Use of 5'-anchored primers for the enhanced recovery of specific microsatellite markers in *Brassica napus* L.. *Theoretical and Applied Genetics*, 101, 115-119
- Vivard, F., Arnaud, J.-F., Delescluse, M. & Cuguen, J. (2004) Tracing back seed and pollen flow within the crop-wild *Beta vulgaris* complex: genetic distinctiveness vs. hot spots of hybridisation over a regional scale. *Molecular Ecology*, 13, 1357-1364
- Von der Lippe, M. & Kowarik, I. (2007a) Long-Distance dispersal of plants by vehicles as a driver of plant invasions. *Conservation Biology*, 21, 986-996
- Von der Lippe, M. & Kowarik, I. (2007b) Crop seed spillage along roads: a factor of uncertainty in the containment of GMO. *Ecography*, 30, 483-490
- Walter, H., Lieth, H. & Rehder, H. (1960) *Klimadiagramm-Weltatlas*. VEB Gustav Fischer-Verlag, Jena, Deutschland.
- Warwick, S.I. & Black, L.D. (1991) Molecular systematics of *Brassica* and allied genera (Subtribe Brassicinae, Brassiceae) – chloroplast and cytodeme congruence. *Theoretical and Applied Genetics*, 82, 81-92

- Warwick, S.I., Black, L.D. & Aguinalgalde, I. (1992) Molecular systematics of *Brassica* and allied genera (Subtribe Brassicinae, Brassiceae) – chloroplast DNA variation in the genus *Diplotaxis*. *Theoretical and Applied Genetics*, 83, 839-850
- Warwick, S.I. & Sauder, C.A. (2005) Phylogeny of tribe Brassiceae (Brassicaceae) based on chloroplast restriction site polymorphisms and nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast *trnL* Intron sequences. *Canadian Journal of Botany*, 83, 467–483
- Warwick, S. & Stewart, N. (2005). Crop plants come from wild plants - how domestication, transgenes, and linkage together shape fertility. In: Crop fertility and volunteerism. Gressel (Hrsg.). Taylor and Francis, Boca Raton, USA.
- Warwick, S.I., Francis, A. & La Fleche, J. (2000) *Guide to Wild Germplasm of Brassica and Allied Crops (tribe Brassiceae, Brassicaceae)*. 2. Auflage, Agriculture and Agri-Food Canada, www.brassica.info [30.10.2008]
- Warwick, S.I., Simard, M.-J., Légère, A., Beckie, H.J., Braun, L., Zhu, B., Mason, P., Séguin-Swartz, G. & Stewart, C.N. (2003) Hybridization between transgenic *Brassica napus* L. and its wild relatives: *Brassica rapa* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Sinapis arvensis* L., and *Erucastrum gallicum* (Willd.) O.E. Schulz. *Theoretical and Applied Genetics*, 107, 528-539
- Warwick, S., Légère, A., Simard, M.-J. & James, T. (2008) Do escaped transgenes persist in nature? The case of an herbicide resistance transgene in a weedy *Brassica rapa* population. *Molecular Ecology*, 17, 1387-1395
- Weber, H.E. (1995) *Flora von Südwest-Niedersachsen und dem benachbarten Westfalen*. H.Th. Wenner, Osnabrück, Deutschland.
- Weber, J.L. & May, P.E. (1989) Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics*, 44, 388-396
- Weekes, R., Deppe, C., Allnutt, T., Boffey, C., Morgan, D. Morgan, S., Bilton, M., Daniels, R. & Henry, C. (2005) Crop-to-crop gene flow using farm scale sites of oilseed rape (*Brassica napus*) in the UK. *Transgenic Research*, 14, 749-759
- Wei, W & Darmency, H. (2008) Gene flow hampered by low seed size of hybrids between oilseed rape and five wild relatives. *Seed Science Research*, 18, 115-123
- Wildacker.at, www.wildacker.at [01.07.2008]
- Wilkinson, M.J., Davenport, I.J., Charters, Y.M., Jones, A.E., Allainguillaume, J., Butler, H.T., Mason, D.C. & Raybould, A.F. (2000) A direct regional scale estimate of transgene movement from genetically modified oilseed rape to its wild progenitors. *Molecular Ecology*, 9, 983-991
- Wilkinson, M.J., Elliott, L.J., Allainguillaume, J., Shaw, M.W., Norris, C., Welters, R., Alexander, M., Sweet, J. & Mason, D.C. (2003) Hybridization between *Brassica napus* and *B. rapa* on a national scale in the United Kingdom. *Science*, 302, 457-459
- Williamson, M.H. & Brown, K.C. (1986) The analysis and modelling of British invasions. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 314, 505-522
- Wisskirchen, R. & Haeupler, H. (1998) *Standardliste der Farn- und Blütenpflanzen Deutschlands*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, Deutschland.
- Yang, Y.-W., Tseng, P.-F., Tai, P.-Y. & Chang, C.-J. (1998) Phylogenetic position of *Raphanus* in relation to *Brassica* species based on 5S rRNA spacer sequence data. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 39, 153-160
- Yang, Y.-W., Tai, P.-Y., Chen, Y. & Lib, W.-H. (2002) A study of the phylogeny of *Brassica rapa*, *B. nigra*, *Raphanus sativus*, and their related genera using noncoding regions of chloroplast DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23, 268-275
- Yoshimura, Y., Beckie, H.J. & Matsuo, K. (2006) Transgenic oilseed rape along transportation routes and port of Vancouver in western Canada. *Environmental Biosafety Research*, 5, 67-75
- Züghart, W. & Breckling, B. (2003) Konzeptionelle Entwicklung eines Monitorings von Umweltwirkungen transgener Kulturpflanzen. *Texte 50/03, Umweltbundesamt*, Berlin, Deutschland.

7 Anhang

Anhang A: Material und Methode

Hersteller der Chemikalien und Enzyme

10x Buffer BioTherm contains 15mM MgCl ₂	Genecraft, Deutschland
APS (Ammoniumperoxodisulfat), p.A.	Gerbu Biotechnik GmbH, Deutschland
BioTherm™ DNA-Polymerase 5U/μL	Genecraft, Deutschland
Borsäure, p.A.	AppliChem, Deutschland
CyStain UV Ploidy	Partec, Deutschland
DMSO, für Molekularbiologie	Appllichem, Deutschland
dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 2,5mM each)	Epicentre Biotechnologies, USA
EDTA-Dinatriumsalz-Dihydrat, p.A.	Appllichem, Deutschland
Ethanol	Carl Roth GmbH und Co. KG, Deutschland
Formamide deionized	Amresco, USA
GeneScan™-500 ROX™-Size Standard	Applied Biosystems, UK
HCl (Salzsäure), rauchend	Fluka, Deutschland
Invisorb®Spin Plant Mini Kit	Invitex, Deutschland
Karminessigsäure	Chroma, Deutschland
Loading Buffer, blau	Applied Biosystems, UK
MgCl ₂ 50 mM	Genecraft, Deutschland
Mineral Öl	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany
Primer, fluoreszenzmarkiert 6-FAM	Sigma Genosys, Deutschland
Primer, fluoreszenzmarkiert HEX	Sigma Genosys, Deutschland
Primer, fluoreszenzmarkiert NED	Applied Biosystems, UK
Primer, unmarkiert	Sigma Genosys, Deutschland
RNase	Roche, Deutschland
Seesand, reinst	Carl Roth GmbH und Co. KG, Deutschland
SequaGel Complete Buffer Reagent	national diagnostics, USA
SequaGel Extended Range	national diagnostics, USA
Tris pure (Tris-(hydroxymethyl-) aminomethan)	Biomol, Hamburg

Puffer

1xTBE

90 mM Tris-HCl, 90 mM Bor, 2,5 mM EDTA

(Ansatz für einen Liter 10x TBE: 108 g Tris, 55 g Borsäure, 40 ml 0,5 M Na₂-EDTA
pH 8, ad. 1000 ml H₂O)

Gelladepuffer Mikrosatelliten:

12,9% GeneScan™-500 ROX™-Size Standard, 11,3% Loading Buffer, 29,1%
Formamid

Verwendete Computerprogramme

- AFLPop 1.0 (Duchesne and Bernatchez 2002)
- Arlequin 3.1 (Excoffier et al. 2005)
- GeneScan (Perkin-Elmer, USA)
- Genotyper 3.6 (Perkin-Elmer, USA)
- Microsoft Office 2003 (Microsoft, USA)
- MVSP (Version 3,13m, Kovach Computing Services, UK)
- R 2.5.0 (R Development Core Team 2007)
- SPSS 15.0.1 (SPSS Inc., USA)
- Treecon for Windows Version 1.3b (1997, Yves Van de Peer, Antwerpen, Belgien)

Anhang B: Populationsliste der Kartierungen 2004-2008

Tabelle 7.1: Komplette Liste aller kartierten *Brassica*-Populationen im Osnabrücker Land zwischen 2004 und 2008. verw.: verwildert

Pop. Name KURZ	Pop. Name LABOR	Arten	verw. Raps	Fundort	Standort	<i>Brassicaceae</i> Begleitflora	Größe 2004	Saatgut 2004	Größe 2005	Saatgut 2005	Größe 2006	Saatgut 2006	Größe 2007	Saatgut 2007	Größe 2008	Saatgut 2008
001	001	<i>B. napus</i>	+	Malbergen, Ausfahrt Bauernhof	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Cardamine hirsuta</i> , <i>Sisymbrium officinale</i>	30	-	0	-	0	-	0	-	0	-
002	002	<i>B. napus</i>	+	Georgsmarienhütte, hinter Güterbahnhof Stahlwerk	Ackerrand, Durchwuchs		1000	+	0	-	0	-	0	-	Rapsfeld	+
003	003, 269	<i>B. napus</i>	+	Hagen aTW, große Heide	Ackerrand, Durchwuchs	<i>Sisymbrium officinale</i>	100	-	Rapsfeld	+	30	+	70	+	0	-
005	005, 159	<i>B. napus</i>	+	Glane, Ecke Bielefelder Str./ Laer Str.	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		15	-	6	-	0	-	3	-	15	-
006	006, 156	<i>B. napus</i>	+	Bad Laer, vor Schwöppe Moden	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		3	-	1	-	0	-	0	-	0	-
007	007, 155	<i>B. napus</i>	+	Aschendorf	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Cardamine hirsuta</i>	6	-	1	-	0	-	2	-	0	-
008	008, 252	<i>B. napus</i>	+	Bahnhof Dissen/Bad Rothenfelde, gegenüber	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , <i>Cardamine hirsuta</i>	5	-	0	-	1	-	1	-	0	-
009	009	<i>B. napus</i>	+	Wellingholzhausen, zw. Borgloher Str., Marienstr., L95	Ackerrand, Durchwuchs		4	-	Rapsfeld	+	0	-	0	-	0	-
010	010, 151, 254	<i>B. napus</i>	+	Borgloh, Fiat Werkstatt	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Cardamine hirsuta</i>	20	+	15	+	4	+	8	-	30	+
011	011, 169, 256	<i>B. napus</i>	+	Oesede nach Harderberg, Firma GS	Brachfläche, Neubaugebiet	<i>Arabidopsis thaliana</i>	40	+	10	-	10	-	30	-	0	-
013	013	<i>B. napus</i>	+	Noller Schlucht, Bushaltestelle am Lernort/Gasthof	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		1	-	0	-	0	-	0	-	0	-
014	014, 211	<i>B. napus</i>	+	BAB Abfahrt Bramsche	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		15	-	10	-	0	-	100	+	0	-

Pop. Name KURZ	Pop. Name LABOR	Arten	verw. Raps	Fundort	Standort	Brassicaceae Begleitflora	Größe 2004	Saatgut 2004	Größe 2005	Saatgut 2005	Größe 2006	Saatgut 2006	Größe 2007	Saatgut 2007	Größe 2008	Saatgut 2008
015	015, 206, 257	<i>B. napus</i>	+	BAB Abfahrt Neuenkirchen Vörden	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Arabidopsis thaliana, Capsella bursa-pastoris</i>	35	-	30	+	25	+	150	+	100	-
016	016, 258	<i>B. napus</i>	+	Ortsausgang Vörden	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		40	-	0	-	2	+	6	-	0	-
017	017, 207	<i>B. napus</i>	+	L 78 zw. Vörden, Wittenfelde	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	10	-	30	+	0	-	0	-	0	-
018	018	<i>B. rapa 2x</i>		Lappenstuhl	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Arabidopsis thaliana</i>	25	-	0	-	0	-	0	-	0	-
019	019, 210	<i>B. rapa 2x, B. rapa 4x</i>		zw. Lappenstuhl, Bramsche	Brachfläche, Neubaugebiet		100	+	20	-	0	-	0	-	0	-
020	020, 213	<i>B. napus</i>	+	Engter, Auffahrt L 218, Bramsche	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Arabidopsis thaliana</i>	20	-	5	-	0	-	50	+	0	-
021	021, 185	<i>B. rapa 2x, B. rapa 4x</i>		Atter, nahe Flugplatz	Wildacker, Blühstreifen		50	+	1000	-	0	-	0	-	0	-
022	022, 187	<i>B. rapa 2x, B. rapa 4x</i>		Rubbenbruchsee	Wildacker, Blühstreifen		500	+	7	-	0	-	6	-	0	-
023	023	<i>B. napus</i>	+	Lotte, Bahnübergang Wersenerstr.	Gleisanlagen, Bahnübergang, Bahnhof		4	-	0	-	0	-	10	+	1	+
031	031	<i>B. napus</i>	+	OS, Römerschstr., An der Netter Heide	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		1	-	1	+	0	-	1	-	0	-
032	032, 204	<i>B. napus</i>	+	B68 Ausfahrt Osterkappeln	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Barbarea vulgaris</i>	30	-	2	-	0	-	1	-	0	-
033	033, 216	<i>B. napus</i>	+	Rulle, Kreisverkehr, Gasthaus Lingemann	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		2	-	7	-	0	-	0	-	0	-
034	034	<i>B. napus</i>	+	Rulle, Vehrter Landstr., Solveigshof	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Sinapis arvensis</i>	15	-	0	-	0	-	0	-	0	-
035	035, 215	<i>B. napus</i>	+	Engter, Drogerie Müller/ Luna Grill	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	7	+	1	-	0	-	6	-	0	-
036	036, 173	<i>B. napus</i>	+	OS, Eversburger Str. am Klärwerk	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Alaria petiolata</i>	3	-	1	-	0	-	1	-	0	-

Pop. Name KURZ	Pop. Name LABOR	Arten	verw. Raps	Fundort	Standort	<i>Brassicaceae</i> Begleitflora	Größe 2004	Saatgut 2004	Größe 2005	Saatgut 2005	Größe 2006	Saatgut 2006	Größe 2007	Saatgut 2007	Größe 2008	Saatgut 2008
040	040, 041	<i>B. napus</i>	+	OS, Meller Str., Stahlwerksweg	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		16	-	0	-	0	-	1	-	0	-
042	042	<i>B. rapa 2x</i> , <i>B. rapa 4x</i>		OS, Sandforter Str., zw. Voxtrup, Gretesch	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		3	-	0	-	0	-	0	-	0	-
043	043	<i>B. napus</i>	+	OS, Sandforter Str., Helmuth-Stockmeier-Str, Sportanlage	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Barbarea vulgaris</i> , 4 <i>Sinapis arvensis</i>	4	-	0	-	0	-	0	-	0	-
046	046	<i>B. napus</i>	+	Lüstringen, Mindener Str., Bauernschaft Lüstringen	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , <i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Sinapis arvensis</i>	50	-	0	-	0	-	0	-	0	-
048	048	<i>B. napus</i>	+	Lüstringen Ost, Jeggen	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Alliaria petiolata</i>	50	-	0	-	0	-	34	-	0	-
049	049, 165, 239	<i>B. napus</i>	+	Schledehausen, Kreissparkasse	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Sisymbrium officinale</i>	20	+	10	-	1	-	0	-	5	-
050	050	<i>B. napus</i>	+	Mönkehöfen	Ackerrand, Durchwuchs	<i>Cardamine pratensis</i>	10	+	0	-	0	-	0	-	0	-
051	051	<i>B. napus</i>	+	Wehrendorfer Berg	Ackerrand, Durchwuchs	<i>Alliaria petiolata</i> , <i>Cardamine pratensis</i>	20	+	Rapsfeld	+	0	-	0	-	50	+
052	052, 166, 240	<i>B. napus</i>	+	Mökehöfen, Bushaltestelle Kirchhegge	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Cardamine pratensis</i>	10	+	1	-	2	+	0	-	0	-
053	053	<i>B. napus</i>	+	Hitzhausen, Heidegarten	Ackerrand, Durchwuchs		10	+	Rapsfeld	+	0	-	0	-	Rapsfeld	+
054	054, 055, 167	<i>B. napus</i> , <i>B. rapa 2x</i>	+	Hitzhausen, Ostercappeln, Naturdenkmal	Ackerrand, Durchwuchs	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	20	+	50 B. rapa, Rapsfeld	+	0	-	0	-	50 B. rapa, Rapsfeld	+
056	056, 130, 175, 262, 294	<i>B. napus</i> , <i>B. rapa 2x</i> <i>B. rapa 4x</i>		Pye, To Pyer	Wildacker, Blühstreifen	<i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Raphanus sativus</i> , <i>Sinapis alba</i>	10000	+	1000	-	2	-	30	-	0	-
057	057, 176	<i>B. napus</i>	+	A1 zw. OS Hafen, OS Nord	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		100	+	30	-	30	+	200	+	4	-
058	058	<i>B. napus</i>	+	Wuif, Kanalbrücke	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Barbarea vulgaris</i> , <i>Capsella bursa-pastoris</i>	25	+	0	-	0	-	0	-	0	-

Pop. Name KURZ	Pop. Name LABOR	Arten	verw. Raps	Fundort	Standort	Brassicaceae Begleitflora	Größe 2004	Saatgut 2004	Größe 2005	Saatgut 2005	Größe 2006	Saatgut 2006	Größe 2007	Saatgut 2007	Größe 2008	Saatgut 2008
059	059, 272	<i>B. napus</i>	+	L584, Am Windmühlenhügel	Ackerrand, Durchwuchs		50	+	0	-	45	+	0	-	4	-
060	060	<i>B. napus</i>	+	L 584, zw. Schukte, Velpe	Ackerrand, Durchwuchs	<i>Sisymbrium officinale</i>	20	+	Rapsfeld	+	0	-	20	-	2	-
061	061, 190, 273	<i>B. napus</i>	+	Neubaugebiet Velpe	Brachfläche, Neubaugebiet		25	+	50	-	3	-	0	-	0	-
069	069, 205	<i>B. napus</i>	+	B68, Wallenhorst, Toys 'r us	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Barbarea vulgaris</i> , <i>Capsella bursa-pastoris</i> , <i>Sinapis arvensis</i> , <i>Sisymbrium officinale</i>	15	+	5	-	0	-	0	-	0	-
070	070, 217	<i>B. napus</i>	+	A 30, Hellern, Brücke Nordhausweg	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		20	+	7	-	0	-	1000	+	50	+
071	071, 172	<i>B. napus</i>	+	Malbergerstr., zw. Holzhausen, GM-Hütte	Ackerrand, Durchwuchs		1000	-	1	-	0	-	Rapsfeld	+	0	-
072	072, 171, 270	<i>B. napus</i>	+	Oesede, Glückaufstr., Neue Apotheke Oesede	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Arabidopsis thaliana</i>	25	+	15	-	7	-	0	-	0	-
073	073, 150	<i>B. napus</i>	+	Gewerbegebiet Ebbendorf	Brachfläche, Neubaugebiet	<i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Capsella bursa-pastoris</i> , <i>Cardamine hirsuta</i> , <i>Erysimum cheiranthoides</i> , <i>Sisymbrium officinale</i>	50	+	3	-	0	-	0	-	0	-
075	075, 253	<i>B. napus</i>	+	Ausbergen, Königsbach	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	50	-	0	-	16	+	1	-	0	-
077	077	<i>B. napus</i>	+	OS, Lotter Str., Restaurant "Nil"	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Sisymbrium irio</i>	6	-	0	-	0	-	0	-	0	-
076	076	<i>B. napus</i>	+	L 84, Brücke über die Hase	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Alliaria petiolata</i>	10	+	0	-	0	-	4	+	1	-
079	079	<i>B. napus</i>	+	Sutthausenstr., BMW Walkenhorst	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	50	-	0	-	0	-	0	-	5	-

Pop. Name KURZ	Pop. Name LABOR	Arten	verw. Raps	Fundort	Standort	Brassicaceae Begleitflora	Größe 2004	Saatgut 2004	Größe 2005	Saatgut 2005	Größe 2006	Saatgut 2006	Größe 2007	Saatgut 2007	Größe 2008	Saatgut 2008
080	080	<i>B. napus</i>	+	Hasbergen, Plus Markt	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Sisymbrium officinale</i>	4	-	0	-	0	-	0	-	0	-
082	082	<i>B. napus</i>	+	L 89, zw. Natrup-Hagen Lengerich	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Barbarea vulgaris</i> , <i>Capsella bursa-pastoris</i> , <i>Sisymbrium officinale</i>	30	-	0	-	0	-	0	-	0	-
084	084	<i>B. napus</i>	+	zw. Tecklenburg, Ibbenbüren, Ibbenbürener Aa	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Sisymbrium officinale</i>	50	-	0	-	0	-	0	-	0	-
087	087, 161	<i>B. napus</i>	+	Bissendorf, Gewerbegebiet Eistruper Feld	Brachfläche, Neubaugebiet	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , <i>Sinapis arvensis</i>	100	+	100	-	0	-	50	+	10000	+
088	088, 164, 277	<i>B. napus</i>	+	Bissendorf, Ecke Dr.-Schroder-Weg	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Sisymbrium officinale</i>	25	+	8	+	5	-	9	+	50	-
090	090, 268	<i>B. napus</i>	+	Harderberg, Am Harderberg	Brachfläche, Neubaugebiet	<i>Alliaria petiolata</i>	10000	+	0	-	20	+	1000	-	200	+
094	094, 095	<i>B. napus</i>	+	Astrup, Hiddinghausen	Ackerrand, Durchwuchs	<i>Alliaria petiolata</i> , <i>Sisymbrium officinale</i>	100	-	0	-	0	-	2	-	0	-
097	097, 152	<i>B. napus</i>	+	Ortsausgang Dratum, Heide	Ackerrand, Durchwuchs	<i>Sinapis arvensis</i> , <i>Thlaspi arvense</i>	1000	+	15	-	0	-	0	-	0	-
098	098, 124	<i>B. napus</i>	+	Parkplatz Bifurkation	Ackerrand, Durchwuchs	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	50	+	0	-	0	-	Rapsfeld	+	0	-
103	103, 191	<i>B. napus</i>	+	L595 zw. Wersen, Westerkappeln	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Alliaria petiolata</i> , <i>Sisymbrium officinale</i>	5	-	1	-	0	-	0	-	0	-
105	105	<i>B. napus</i>	+	L599 zw. Recke, Twenhusen	Ackerrand, Durchwuchs		20	+	0	-	0	-	0	-	0	-
106	106, 107, 108, 109	<i>B. napus</i> , <i>B. oleracea</i>	+	nahe Mülldeponie Dickenberg, Hopstedter Str.	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		100	+	0	-	0	-	0	-	0	-
111	111, 197	<i>B. napus</i>	+	Kreisverkehr L594, K26, L597 Brockmeyer	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Sisymbrium officinale</i>	20	+	3	-	0	-	50	-	4	-
114	114, 212	<i>B. napus</i>	+	A1, Brücke Mittellandkanal	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		50	-	15	-	0	-	5	-	25	-

Pop. Name KURZ	Pop. Name LABOR	Arten	verw. Raps	Fundort	Standort	Brassicaceae Begleitflora	Größe 2004	Saatgut 2004	Größe 2005	Saatgut 2005	Größe 2006	Saatgut 2006	Größe 2007	Saatgut 2007	Größe 2008	Saatgut 2008
115	115, 174	<i>B. napus</i>	+	OS, Piesberger Str., Domierstr., hinter Klärwerk	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Capsella bursa-pastoris</i> , <i>Sisymbrium altissimum</i> , <i>Sisymbrium officinale</i>	3	+	6	-	0	-	0	-	0	-
121	121, 198	<i>B. napus</i>	+	B 475, Kattenvenne, Ladbergen, vor Kreuzung L 597	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		30	+	30	-	0	-	50	-	6	+
123	123	<i>B. napus</i>	+	L599, Recke, Twenhusen, Tischlerei Riecke	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		50	+	0	-	0	-	0	-	0	-
125	125	<i>B. napus</i>	+	OS, B68, Ecke Clemensstr., Shell Tankstelle	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Sisymbrium officinale</i>	1	+	0	-	0	-	0	-	2	-
154	154	<i>B. napus</i>	+	Wellingholzhausen, Bushaltestelle Himmender Heide	Ackerrand, Durchwuchs	<i>Capsella bursa pastoris</i> , <i>Thlaspi arvense</i>	k.A.	k.A.	100	-	0	-	6	+	0	-
157	157, 158	<i>B. napus</i>	+	L98, Bad Iburg, Glane, Getränkemarkt	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Cardamine hirsuta</i>	k.A.	k.A.	45	+	0	-	1	-	0	-
160	160	<i>B. napus</i>	+	Wellendorf, Bahnübergang	Gleisanlagen, Bahnübergang, Bahnhof	<i>Cardamine hirsuta</i>	k.A.	k.A.	50	-	0	-	0	-	1	-
162	162, 163, 276	<i>B. napus</i> , <i>B. rapa</i> <i>B. rapa 4x</i>	+	Bissendorf, Kreisverkehr, Gewerbegebiet Eistruper Feld	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		k.A.	k.A.	25	-	25	-	20	-	0	-
170	170, 271	<i>B. napus</i>	+	Kloster Oesede, Bahn, Raiffeisen, RCG, RWO	Gleisanlagen, Bahnübergang, Bahnhof		k.A.	k.A.	25	-	17	-	0	-	10	+
184	184	<i>B. rapa 2x</i>		Atter, Bushaltestelle Storkamp	Brachfläche, Neubaugebiet	<i>Arabidopsis thaliana</i>	k.A.	k.A.	30	-	0	-	1	-	0	-
186	186, 291	<i>B. rapa 4x</i>		Atter, Weg zum Rubbenbruchsee	Wildacker, Blühstreifen		1000	k.A.	1000	+	0	-	50	-	0	-
189	189	<i>B. rapa 2x</i> , <i>B. rapa 4x</i>		zw. Lotte, Ibbenbüren, Bushaltestelle Frehmeyer	Wildacker, Blühstreifen	<i>Raphanus sativus</i>	k.A.	k.A.	1000	+	0	-	0	-	0	-
199	199, 248, 298	<i>B. napus</i> , <i>B. rapa 4x</i>	+	Kattenvenne, Gewerbegebiet	Ackerrand, Durchwuchs	<i>Arabidopsis thaliana</i>	k.A.	k.A.	15	-	10000	+	1000	+	0	-

Pop. Name KURZ	Pop. Name LABOR	Arten	verw. Raps	Fundort	Standort	Brassicaceae Begleitflora	Größe 2004	Saatgut 2004	Größe 2005	Saatgut 2005	Größe 2006	Saatgut 2006	Größe 2007	Saatgut 2007	Größe 2008	Saatgut 2008
201	201	<i>B. napus</i>	+	Lengerich, Richtug OS, Vergölst	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Arabidopsis thaliana</i> , <i>Diplotaxis muralis</i> , <i>Sisymbrium officinale</i>	k.A.	k.A.	100	-	0	-	0	-	100	-
202	202	<i>B. napus</i>	+	zw. Lengerich, Natrup-Hagen, Baumschonung OS, Sandforter Str., Helmuth-Stockmeier-Str, Hotel zur Post	Ackerrand, Durchwuchs Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Alliaria petiolata</i>	k.A.	k.A.	5000	+	0	-	0	-	0	-
203	203	<i>B. napus</i>	+	zw. Lengerich, Natrup-Hagen, Baumschonung OS, Sandforter Str., Helmuth-Stockmeier-Str, Hotel zur Post	Ackerrand, Durchwuchs Straßenrand, Grünstreifen, Beet		0	-	7	-	0	-	0	-	1	+
208	208	<i>B. napus</i>		zw. Vörden, Engter, "Zum Galgenhügel"	Wildacker, Blühstreifen	<i>Raphanus sativus</i>	k.A.	k.A.	10000	-	0	-	0	-	0	-
214	214, 247	<i>B. napus</i> , <i>B. rapa 2x</i>		Wallenhorst, Kuhkamp 6	Wildacker, Blühstreifen	<i>Raphanus sativus</i>	k.A.	k.A.	1000	+	1000	+	50	+	0	-
218	218, 242	<i>B. rapa 4x</i>		B 68, Haaren, Richtung Diepholz	Wildacker, Blühstreifen	<i>Cardamine pratensis</i>	k.A.	k.A.	100	-	10	-	0	-	0	-
219	219, 267, 292	<i>B. napus</i> , <i>B. rapa 2x</i>	+	Atterfeld, Feldweg, Silage	Ackerrand, Durchwuchs		k.A.	k.A.	50	+	3	-	100	-	0	-
222	222, 243, 289	<i>B. napus</i> , <i>B. rapa 4x</i>		Oberhaaren, zw. Ostercappeln, Belm	Wildacker, Blühstreifen	<i>Raphanus sativus</i> , <i>Sinapis alba</i>	k.A.	k.A.	1000	+	1000	-	100	-	0	-
223	223, 241	<i>B. napus</i>	+	Ostercappeln, Schledehauser Str. 1	Ackerrand, Durchwuchs		k.A.	k.A.	10000	+	3	-	Rapsfeld !	+	0	-
224	224	<i>B. napus</i>	+	Lüstringen, Lüstringer Str., Darmstr.	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		k.A.	k.A.	10	-	0	-	0	-	0	-
226	226, 265	<i>B. napus</i>		Bahnhof Lotte	Straßenrand, Grünstreifen, Beet	<i>Raphanus raphanistrum</i> , <i>Sinapis arvensis</i>	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	10000	+	18	-	0	-
231	231, 232, 245, 262, 283	<i>B. napus</i> , <i>B. rapa 2x</i>		Rulle, neue Strasse, NP-Markt	Straßenrand, Grünstreifen, Beet		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	10000	+	300	-	5	+
235	235, 236, 244, 290	<i>B. napus</i> , <i>B. rapa 2x</i> , <i>B. rapa 4x</i> , <i>B. oleracea</i>		Ostercappeln, Richtung Vehrte, Vehrter Landstr. 5	Wildacker, Blühstreifen		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	10000	+	10	-	0	-
249	249, 300	<i>B. napus</i> , <i>B. rapa 4x</i>		zw. Glandorf, Iburg, zw. Brockmeyers Weg, An der Schleppenburg	Wildacker, Blühstreifen		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	100	-	100	-	0	-
250	250, 251	<i>B. rapa 2x</i> , <i>B. rapa 4x</i> , <i>B. oleracea</i>		L 94, zw. Bad Laer, Bad Rothenfelde, hinter Umspannwerk	Wildacker, Blühstreifen		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	350	+	0	-	100	+

Pop. Name KURZ	Pop. Name LABOR	Arten	verw. Raps	Fundort	Standort	Brassicaceae Begleitflora	Größe 2004	Saatgut 2004	Größe 2005	Saatgut 2005	Größe 2006	Saatgut 2006	Größe 2007	Saatgut 2007	Größe 2008	Saatgut 2008
255	255	<i>B. rapa 4x</i>		Gewerbegebiet Ebbendorf, Firma E	Brachfläche, Neubaugebiet		0	-	0	-	2	-	0	-	0	-
259	259, 260	<i>B. napus, B. rapa 2x, B. rapa 4x</i>		Engter Richtung Wallenhorst, gegenüber Holzlagerplatz	Wildacker, Blühstreifen		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	10000	+	0	-	1000	-
261	261	<i>B. rapa 4x</i>		Piesberg, Gut Horneburg, Flächen Stadtgärtnerei	Wildacker, Blühstreifen		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	10000	-	2000	-	1000	-
263	263, 294	<i>B. rapa 4x</i>		Pye, Pyer Ding	Durchwuchs Ackerrand, Durchwuchs		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	100	+	30	-	5	-
264	264	<i>B. rapa 4x</i>		Brockhauser Str., Am Kanal	Durchwuchs		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	30	+	20	-	4	-
274	274, 275	<i>B. napus, B. rapa 2x, B. rapa 4x</i>		Hasbergen, Tecklenburger Str., Goldbach	Wildacker, Blühstreifen	<i>Raphanus sativus, Sinapis spec.</i>	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	1000	+	0	-	50	-
279	279, 280, 281	<i>B. napus, B. rapa 2x, B. rapa 4x, B. oleracea</i>		Engter Richtung Wallenhorst, gegenüber Holzlagerplatz	Ackerrand, Durchwuchs		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	200	+	200	-
284	284, 285, 286	<i>B. napus, B. rapa 2x, B. oleracea</i>		zw. Hagen, Lengerich, Am Ritterkamp	Wildacker, Blühstreifen		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	1500	-	20	-
287	287, 288	<i>B. napus, B. rapa 2x, B. rapa 4x</i>		zw. Schleddehausen, Wulften, Teichhausweg	Wildacker, Blühstreifen		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	1000	-	1000	-
293	293	<i>B. napus, B. rapa 2x, B. rapa 4x</i>		Weg zur Horneburg	Wildacker, Blühstreifen		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	2000	+	0	-
295	295	<i>B. napus, B. rapa B. rapa 4x</i>		Pye, Pyer Ding	Wildacker, Blühstreifen		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	10000	-	0	-
296	296	<i>B. rapa B. rapa 4x</i>		zw. Lotte, L501, Velpe	Wildacker, Blühstreifen		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	10000	+	50	-
297	297	<i>B. rapa 2x</i>		Hambüren, Brockmeyer, Tecklenburg, Am Habichtswald	Wildacker, Blühstreifen		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	1000	+	0	-
299	299	<i>B. rapa B. rapa 4x</i>		Glandorf, B51, Bad Iburg, Im Walwerdieck	Wildacker, Blühstreifen		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	1000	-	1000	+
301	301	<i>B. napus, B. rapa 2x, B. rapa 4x</i>		L 94, zw. Bad Laer, Bad Rothenfelde, vorm Umspannwerk	Wildacker, Blühstreifen		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	1000	-	1000	+
302	302	<i>B. rapa 4x B. rapa 2x</i>		L 94, zw. Bad Laer, Bad Rothenfelde, hinter Umspannwerk	Wildacker, Blühstreifen		k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	1000	-	0	-

Anhang C: Sortenlisten

Tabelle 7.2: Verwendete Kultursorten. WR: Winterraps, SR: Sommerraps, H: Hybridsorte, L: Liniensorte. Züchterangaben und Zulassung nach www.Bundessortenamt.de. Bewertung der Bedeutung der Sorten für den Raum Osnabrück nach Einschätzung der LWK Weser-Ems (2004, pers. comm.) in der Praxis (P), in Klammern Bedeutung nach Typen aufgeschlüsselt: Hybridsorten (H), Liniensorten (L) und Probeanbau (Probe). Verwendet von: FV: Freilandversuch, FC: Flow Cytometry, SSR: Mikrosatellitenanalysen.

Labor- nummer	Sorte/ Bezeichnung	Art	Typ	Züchter*	Zulassung*	Empf. LWK Weser-Ems: Praxis (Typ)	Verwendet von:		SSR	FC	4x <i>B. rapa</i>
							Elling et al. 2008, verwild. Raps	FV Unkraut- raps			
64	Forte 00	<i>B. napus</i>	Sommerraps, Linie	KWS Saat AG, Einbek	Anmerkungs- fähig §55 Abs. 5 SaatG von 07/2005- 06/2008						+
67	Heros	<i>B. napus</i>	Sommerraps, Linie	RAPS GbR, Grundhof	2000		+	+	+	+	
65	Elektra	<i>B. napus</i>	Winterraps, Hybrid, (aus Express)	RAPS GbR, Grundhof	2002	(H3)		+	+	+	
192	Artus	<i>B. napus</i>	Winterraps, Hybrid	Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Holtsee	1996	P4, (H2)	+		+	+	
194	Mendel	<i>B. napus</i>	Winterraps, Hybrid, kohlermie-resistent	Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Holtsee	2002	P5	+		+	+	
195	Titan	<i>B. napus</i>	Winterraps, Hybrid	W. von Borries-Eckendorf GmbH & Co., Leopoldshöhe	2002	(Probe2)			+		
196	Libretto	<i>B. napus</i>	Winterraps, Hybrid	DSV AG, Lippstadt	2003	(Probe3)			+	+	
101 (zertif.), (127: F1)	Talent	<i>B. napus</i>	Winterraps, Hybrid, (aus Express)	Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Holtsee	1999	P2, (H1)	+	(+)	+	+	+
62	Digger	<i>B. napus</i>	Winterraps, Linie	KWS Saat AG, Einbek	2002						+
63	Allure	<i>B. napus</i>	Winterraps, Linie	Advanta GmbH, Grünberg	2002						+
66	Frederic	<i>B. napus</i>	Winterraps, Linie	RAPS GbR, Grundhof	2003						+

Labor- nummer	Sorte/ Bezeichnung	Art	Typ	Züchter*	Zulassung*	Empf. LWK Weser-Erns: Praxis (Typ)	Verwendet von: Elling et al. 2008, verwild. Raps				4x <i>B. rapa</i>
							FV Unkraut- raps	SSR	FC		
99	Express	<i>B. napus</i>	Winterraps, Linie	Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Holtsee	1993	P3	+	+	+	+	
100	Oase	<i>B. napus</i>	Winterraps, Linie	DSV AG, Lippstadt	2004						+
139	Fortis	<i>B. napus</i>	Winterraps, Linie	Syngenta Seeds GmbH, Kleve	2000	(L3)		+	+	+	
140	Smart	<i>B. napus</i>	Winterraps, Linie	Syngenta Seeds GmbH, Kleve	1996	P1, (L1)	+	+	+	+	+
193	Viking	<i>B. napus</i>	Winterraps, Linie	Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Holtsee	2002	(L2)			+	+	
141	Steckrübe	<i>B. napus</i>	Steckrübe	- (Vertrieb: Revierberatungsstelle Wolmersdorf)	-		+		+	+	
26	Blumenkohl	<i>B. oleracea</i>	Blumenkohl	- (Vertrieb: Kalkriese, Bioerzeuger)	-				+	+	
179	Blumenkohl	<i>B. oleracea</i>	Blumenkohl	- (Vertrieb: Samen Freese)	-						+
27	Brokkoli	<i>B. oleracea</i>	Brokkoli	- (Vertrieb: Kalkriese, Bioerzeuger)	-				+	+	
178	Brokkoli	<i>B. oleracea</i>	Brokkoli	- (Vertrieb: Samen Freese)	-				+	+	
128	Markstamm- kohl	<i>B. oleracea</i>	Futterkohl	- k.A.	-				+	+	
135	Grüner Ring	<i>B. oleracea</i>	Futterkohl	Carl Sperling & Co, Lüneburg	1955			+			
228	Halbhoher grüner krauser	<i>B. oleracea</i>	Grünkohl	Carl Sperling & Co, Lüneburg	1955				+	+	
24	Kohlrabi, weiß	<i>B. oleracea</i>	Kohlrabi	- (Vertrieb: Kalkriese, Bioerzeuger)	-				+	+	
25	Kohlrabi, rot	<i>B. oleracea</i>	Kohlrabi	- (Vertrieb: Kalkriese, Bioerzeuger)	-				+	+	
183	Kohlrabi, weiß	<i>B. oleracea</i>	Kohlrabi	- (Vertrieb: Samen Freese)	-				+	+	
181	Rotkohl	<i>B. oleracea</i>	Rotkohl	- (Vertrieb: Samen Freese)	-						+
180	Weißkohl	<i>B. oleracea</i>	Weißkohl	- (Vertrieb: Samen Freese)	-				+	+	
182	Spitzkohl	<i>B. oleracea</i>	Spitzkohl	- (Vertrieb: Samen Freese)	-				+	+	

Labor- nummer	Sorte/ Bezeichnung	Art	Typ	Züchter*	Zulassung*	Empf. LWK Weser-Ems: Praxis (Typ)	Verwendet von:			4x <i>B. rapa</i>	
							Elling et al. 2008, verw. wild. Raps	FV Unkraut- raps	SSR		FC
177	Wirsing	<i>B. oleracea</i>	Wirsing	- (Vertrieb: Samen Freese)	-				+	+	
221	Chinakohl	<i>B. rapa</i>	Chinakohl	-	-				+	+	
230	Cantonner Witkrop	<i>B. rapa</i>	Chinakohl	- (Vertrieb: Quendlinburger Saatgut, Quendlinburg)	-				+	+	
142	Herbstrübe Rondo	<i>B. rapa</i>	Herbstrübe	Feldsaaten Freudenberger GmbH, Krefeld	1987				+	+	
220	Mairübchen	<i>B. rapa</i>	Mairübchen	-					+	+	
229	Pak Choi, japanischer Stängelkohl	<i>B. rapa</i>	Pak Choi	- (Vertrieb: Quendlinburger Saatgut, Quendlinburg)	-				+	+	
227	Namenia	<i>B. rapa</i>	Rübstiel	- (Vertrieb: Quendlinburger Saatgut, Quendlinburg)	-				+	+	
136	Buko	<i>B. rapa</i>	Winterrübsen, 4x	KWS Saat AG, Einbek	1978			+	+	+	+
137	Perko PVH	<i>B. rapa</i>	Winterrübsen, 4x	KWS Saat AG, Einbek	1969			+	+	+	+
37	Sommerrettich Florian	<i>Raphanus sativus</i>	Rettich	- (Vertrieb: Flora Frey Saatgut)						+	

Anhang D: Freilandversuch Unkrautraps

Tabelle 7.3: Verwendetes Saatgut im Freilandversuch mit Unkrautraps. SR: Sommerraps, WR: Winterraps, -: Saatgut stammt von einer unbekanntenen Anzahl von Mutterpflanzen

Labornummer	Arten, Sorte	Anzahl der Mutterpflanzen (Individuen)	Standorttyp / Züchter
<i>Rapspopulationen</i>			
002	<i>B. napus</i>	5 (50)	Ackerrand, Durchwuchs
011	<i>B. napus</i>	5 (50)	Brachfläche, Neubaugebiet
051	<i>B. napus</i>	3 (30)	Ackerrand, Durchwuchs
053	<i>B. napus</i>	4 (40)	Ackerrand, Durchwuchs
057	<i>B. napus</i>	3 (30)	Straßenrand, Grünstreifen, Beet
059	<i>B. napus</i>	4 (40)	Ackerrand, Durchwuchs
061	<i>B. napus</i>	5 (50)	Brachfläche, Neubaugebiet
069	<i>B. napus</i>	3 (30)	Straßenrand, Grünstreifen, Beet
087	<i>B. napus</i>	5 (50)	Brachfläche, Neubaugebiet
090	<i>B. napus</i>	5 (50)	Brachfläche, Neubaugebiet
097	<i>B. napus</i>	5 (50)	Ackerrand, Durchwuchs
105	<i>B. napus</i>	4 (40)	Ackerrand, Durchwuchs
121	<i>B. napus</i>	5 (50)	Straßenrand, Grünstreifen, Beet
123	<i>B. napus</i>	5 (50)	Straßenrand, Grünstreifen, Beet
<i>Mischbestände</i>			
106	<i>B. napus</i> , <i>B. oleracea</i>	7 (70)	Straßenrand, Grünstreifen, Beet
054	<i>B. napus</i> , <i>B. rapa 2x</i>	4 (40)	Ackerrand, Durchwuchs
056	<i>B. napus</i> , <i>B. rapa 2x</i> , <i>B. rapa 4x</i>	7 (70)	Wildacker, Blühstreifen
<i>Rapsorten</i>			
067	<i>B. napus</i> , SR, Heros	5 (50)	RAPS GbR, Grundhof
127	<i>B. napus</i> , WR, Talent	5 (50)	F1, Acker bei Osnabrück (Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Holtsee)
065	<i>B. napus</i> , WR, Elektra	- (50)	RAPS GbR, Grundhof
099	<i>B. napus</i> , WR, Express	- (50)	Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Holtsee
139	<i>B. napus</i> , WR, Fortis	- (50)	Syngenta Seeds GmbH, Kleve
140	<i>B. napus</i> , WR, Smart	- (50)	Syngenta Seeds GmbH, Kleve
<i>Kreuzungspartner</i>			
018	<i>B. rapa 2x</i>	2 (20)	Straßenrand, Grünstreifen, Beet
019	<i>B. rapa 2x</i> , <i>B. rapa 4x</i>	5 (50)	Brachfläche, Neubaugebiet
021	<i>B. rapa 4x</i>	5 (50)	Wildacker, Blühstreifen
022	<i>B. rapa 4x</i>	5 (50)	Wildacker, Blühstreifen
129	<i>Raphanus sativus</i>	- (10)	Wildacker, Blühstreifen
135	<i>B. oleracea</i> , Grüner Ring	- (10)	Carl Spering & Co, Lüneburg
136	<i>B. rapa 4x</i> , Perko	- (10)	KWS Saat AG, Einbek
137	<i>B. rapa 4x</i> , Buko	- (10)	KWS Saat AG, Einbek
138	<i>Sinapis arvensis</i>	- (10)	Genbank OS, Arbeitsnr 04-380, Holger Oldekamp NRW, Brochterbeck
Gesamt		- (1310)	

Tabelle 7.4: Blühbeginn im Freilandversuch mit Unkrautraps und verwandten Arten. Angegeben sind nur vernalisierte Individuen, die im Untersuchungsjahr 2005 zur Blüte gekommen sind. In Klammern: einzelne Extremwerte.

	Anzahl Individuen	Minimum [Tage]	Maximum [Tage]	Mittelwert [Tage]	+/- SD [Tage]
Rapspopulation	277	95	149	114,8	8,2
Winterraps Sorten	111	106	122 (150)	112,3	5,2
Sommerraps Sorte	25	103	121	106,3	3,9
2x <i>B. rapa</i> Population	5	103	103	103	0
4x <i>B. rapa</i> Population	50	103	133 (146)	107,7	5,9
4x <i>B. rapa</i> Sorten	5	105	110	107,4	2,1
<i>Raphanus sativus</i>	4	111	114	112	1,4
<i>Sinapis arvensis</i>	5	106	111	109,4	1,9

Anhang E: Ergebnisse der Kartierungen

Teil 1: Untersuchungen an Unkrautraps

Tabelle 7.5: Charakteristika einzelner, auffälliger Unkrautrapspopulationen

Population	SSR-Untersuchungen (Kapitel 3.3)	Blütezeit im Freilandversuch (Kapitel 3.2)	Sonstiges	Standort & Persistenz (Kapitel 3.1)
Pop90	15 Allele, 2/3 der Individuen nicht zugeordnet	bienn (evt. Vernalisierung zu schwach - alte Sorte?)	Kartierungen: blüht eher später	Baugebiet, bis 2008 persistent , wahrsch. schon vor 2004 vorhanden
Pop105	15 Allele, Individuen nicht zugeordnet	spät	Blüht eher später	Ackerrand, ephemere
Pop123	Nicht untersucht	früh - wie Sommerraps	Kartierung: blüht erst im Juli, später als Winterraps	Wegrand, ephemere
Pop59	Hohe Allel-diversität: (27 Allele), zugeordnet zu 2 Sorten (v. a. Sommerraps)	Eher spät	Individuen mit weißgelben und goldgelben Blüten	Ackerrand, bis 2008 persistent , (intermittierend)
Pop54	Hohe Alleldiversität (unauffällig) (26 Allele), zugeordnet zu 3 Sorten, ein Hybrid		Sympatrische Population aus Raps und Rübsen (einzig potenziell wildes Vorkommen), F1 Hybride im Saatgut nachgewiesen, Hinweise auf Introgression von Raps in Rübsen	Ackerrand, Rübsen bis 2008 persistent (intermittierend), Neueintrag von Raps durch Anbau (2005, 2008)
Pop11	Hohe Alleldiversität (22 Allele), zugeordnet zu 3 Sorten, ein Hybrid	Breite Streuung		Baubrache, bis 2007 persistent (dauerhaft)

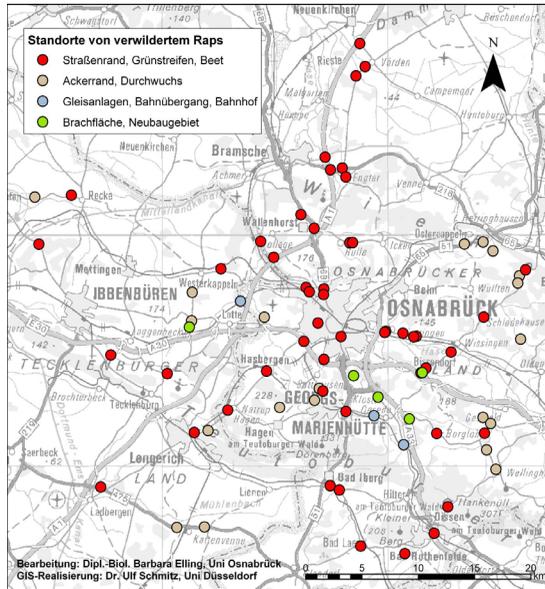


Abbildung 41: Standorttypen der verwilderten Rapspopulationen im Raum Osnabrück 2004-2008.

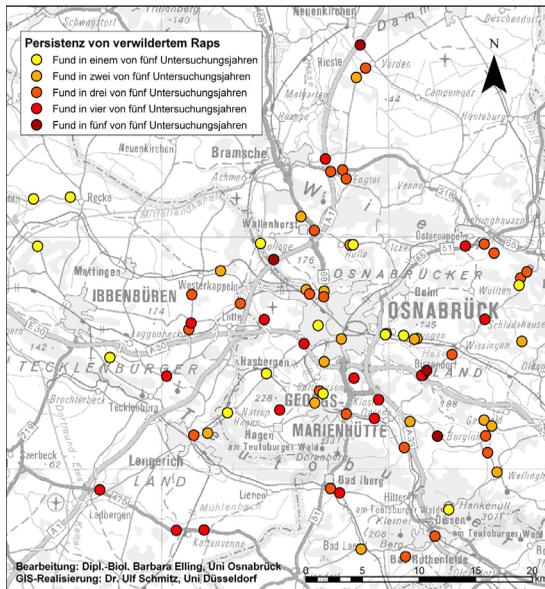


Abbildung 42: Detaillierte Darstellung der Persistenz der verwilderten Rapspopulationen während der fünf Untersuchungs Jahre im Raum Osnabrück.

Tabelle 7.6: Vorkommen von verwildertem Raps im Untersuchungsgebiet während des Untersuchungszeitraumes von 2004 bis 2008. ^R: eine verwilderte Rapspopulation ist nur scheinbar persistent, d.h. nur in einem Jahr ist verwilderter Raps vorhanden, in den anderen Jahren sind Rapsfelder präsent (insgesamt 5).

Anzahl der Jahre in denen eine Fläche von Raps besiedelt wurde	Jahre 2004-2008	Anzahl der Fundorte
<i>Ein Jahr</i>	<i>Gesamt</i>	16
	2004	14
	2005	2
<i>Zwei Jahre</i>	<i>Gesamt</i>	21
aufeinander folgend	2004/2005	9 ^R
	2005/2006	0
nicht aufeinander folgend	2004/2006	0
	2004/2007	4 ^R
	2004/2008	3 ^R
	2005/2007	2
	2005/2008	3
<i>Drei Jahre</i>	<i>Gesamt</i>	25
aufeinander folgend	2004-2006	3
	2005-2007	4
nicht aufeinander folgend	2004/2005/2007	8
	2004/2005/2008	3 ^{RR}
	2004/2006/2007	3
	2004/2006/2008	1
	2004/2007/2008	2
	2005/2006/2008	1
	2005/2007/2008	0
<i>Vier Jahre</i>	<i>Gesamt</i>	12
aufeinander folgend	2004-2007	2
	2005-2008	0
nicht aufeinander folgend	2004/2005/2006/2008	1
	2004/2005/2007/2008	8
	2004/2006/2007/2008	1
<i>Fünf Jahre</i>	2004-2008	4
<i>Gesamtzahl der untersuchten Flächen mit verwildertem Raps 2004-2008</i>		78

Teil 2: Potenzielle Kreuzungs-partner

Abbildung 43: Populationsgrößen der *Brassica*-Bestände in den Jahren 2004 bis 2008. Alle im betreffenden Jahr aufgefundenen *Brassica*-Bestände sind mit Kreisen eingezeichnet. Die Größe der Kreise gibt die geschätzte Populationsgröße im betreffenden Jahr an.

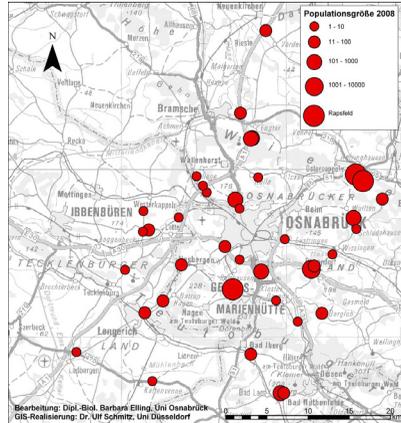
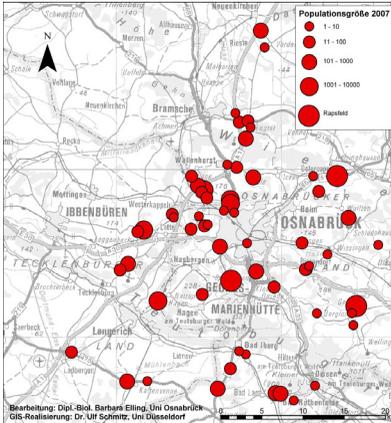
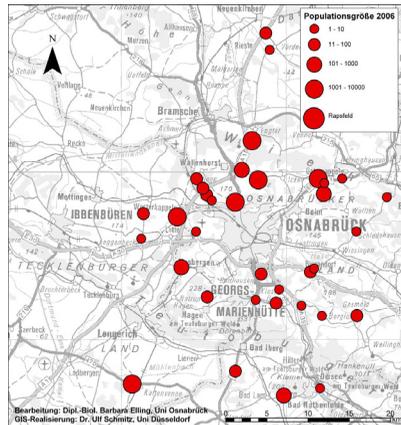
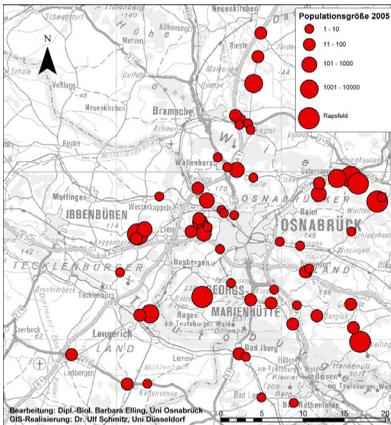
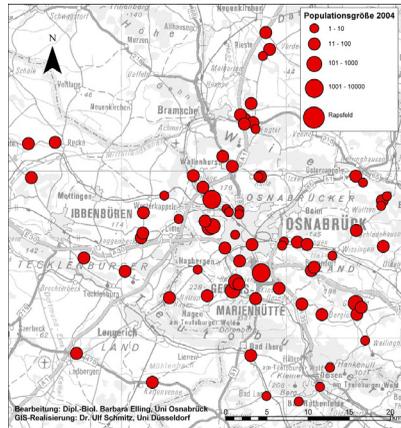
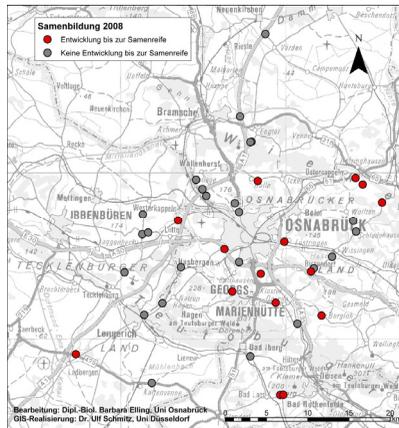
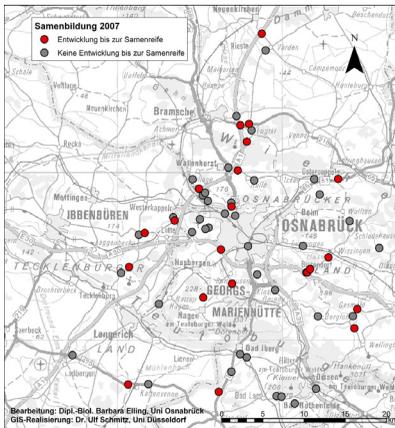
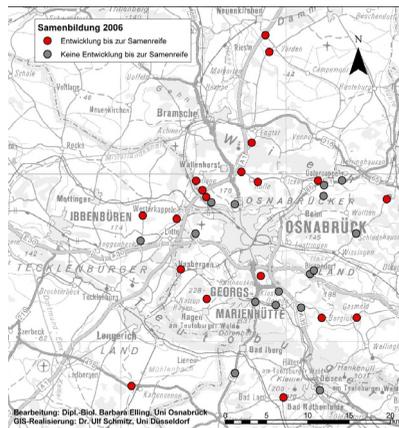
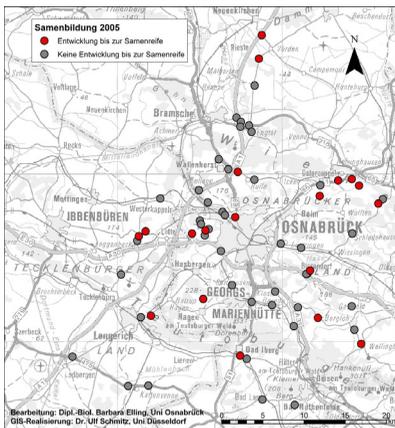
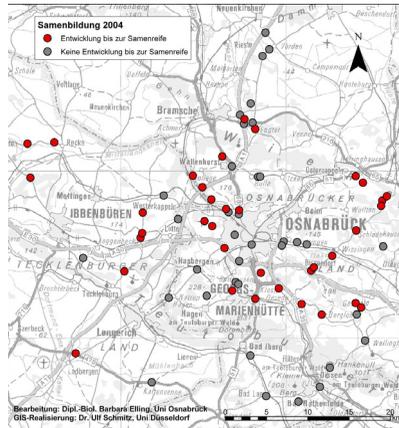


Abbildung 44: Samenbildung der *Brassica*-Bestände in den Jahren 2004 bis 2008. Alle im betreffenden Jahr aufgefundenen Bestände sind mit Kreisen eingezeichnet, rot: Bestände, in denen ein erfolgreicher Samenansatz beobachtet werden konnte, grau: keine reifen Samen vorhanden.



Anhang F: Berechnung der IHP Werte

Tabelle 7.7: Fragenkatalog zur Berechnung von IHP-Werten (engl. introgressive hybridisation propensity) auf Landschaftsebene für die potenziellen Kreuzungspartner von Raps nach Devos et al. (2009).

Schritt	Frage	Wertung
S1	Gemeinsames Auftreten von angebautem Raps und dem wilden/ verwilderten Verwandten	
1a	Kommt der kreuzkompatible wilde/ verwilderte Verwandte von Raps im Interessengebiet vor?	0/1
1b	Ist der kreuzkompatible wilde/ verwilderte Verwandte innerhalb einer Entfernung von 200m (1), 400m (2), 1.500m (3) und 4.000m (4) von einem Rapsfeld vorhanden?	1/2/3/4
1c	Ist die Häufigkeit des Verwandten niedrig (1), mittel (2) oder groß (3)?	1/2/3
S2	Überlappung der Blühzeitpunkte	
2a	Überlappen die Blühzeitpunkte von Raps und dem wilden/ verwilderten Verwandten?	0/1
2b	Ist der kreuzkompatible wilde/verwilderte Verwandte ein ausschließlicher Selbstbestäuber (0), zeigt er ein gemischtes Befruchtungssystem mit Selbst- und Fremdbestäubung (1) oder ist er ein obligater Auskreuzer (2)?	0/1/2
S3	Bildung lebensfähiger und fertiler F₁-Hybride	
3a	Konnten Hybride der ersten Generation zwischen Raps und dem wilden/ verwilderten Verwandten unter kontrollierten (optimalen experimentellen) Bedingungen (inklusive künstlicher/ Handbestäubung und Embryo-Rescue-Techniken) beobachtet werden?	0/1
3b	Wurden Hybride der ersten Generation zwischen Raps und dem wilden/verwilderten Verwandten unter Feldbedingungen (landwirtschaftlichen Bedingungen) beobachtet?	0/1
3c	Sind die beobachteten F ₁ -Hybride lebensfähig und fertil?	0/1
3d	Ist die Häufigkeit von F ₁ -Hybriden sehr niedrig (0), niedrig (1) oder mittel (2)?	0/1/2
S4	Bildung lebensfähiger und fertiler F₂-Hybride und Rückkreuzungs-generationen	
4a	Wurden F ₂ -Hybride und Rückkreuzungsnachkommen zwischen Raps und dem wilden/ verwilderten Verwandten unter kontrollierten (optimalen experimentellen) Bedingungen beobachtet?	0/1
4b	Wurden F ₂ -Hybride und Nachkommen aus Rückkreuzungen zwischen Raps und dem wilden/verwilderten Verwandten unter Feldbedingungen (landwirtschaftlichen Bedingungen) beobachtet?	0/1
4c	Sind die F ₂ -Hybride und Nachkommen aus Rückkreuzungen zwischen Raps und dem wilden/ verwilderten Verwandten lebensfähig und fertil?	0/1
4d	Ist die Häufigkeit von F ₂ -Hybriden und Nachkommen aus Rückkreuzungen sehr niedrig (0), niedrig (1) oder mittel (2)?	0/1/2
S5	Introgression (Stabilisierung und Integration des Transgens im Genom des wilder/ verwilderten Verwandten)	
5a	Wurde die Introgression von Raps-(trans-)genen unter kontrollierten (experimentellen) Bedingungen beobachtet?	0/1
5b	Wurde die Introgression von Raps-(trans-)genen unter Feldbedingungen (landwirtschaftlichen Bedingungen) beobachtet?	0/1
5c	Ist die Häufigkeit von Introgressanten sehr niedrig (0), niedrig (1) oder mittel (2)?	0/1/2
S6	Persistenz des Transgens in wilden/ verwilderten Populationen	
6a	Persistieren die introgressierten Eigenschaften in wilden/ verwilderten Populationen?	0/1

Tabelle 7.8: Berechnung von IHP-Werten (engl. introgressive hybridisation propensity) auf Landschaftsebene für die potenziellen Kreuzungspartner von Raps, die im Osnabrücker Land kartiert wurden (verändert und ergänzt nach Devos et al. 2009). Die Berechnung erfolgt aufgrund aufeinanderfolgender Schritte bis zum Erreichen introgressiver Hybridisierung. Der zugehörige Fragenkatalog ist in Tabelle 7.7 aufgeführt. Die IHP-Werte sind jeweils die Summe der gewichteten, mittleren Werte pro Schritt. Dabei werden die sechs Schritte jeweils gleich gewertet. Bei Frage 1b wurde in den Fällen ein Minimalwert eingetragen, wo Abschätzung möglich war, da Populationen in direkter Nachbarschaft zu Rapsfeldern kartiert wurden. ?: keine geeigneten Daten vorhanden. * Aufgrund eines einzigen Raps-Ackersenf-Hybriden unter Feldbedingungen (Daniels et al. 2005), erhält *S. arvensis* Rang 3 und *R. sativus* Rang 4.

Schritt Frage	S1			S2		S3			S4				S5			S6	IHP		
	1a	1b	1c	2a	2b	3a	3b	3c	3d	4a	4b	4c	4d	5a	5b	5c	6a	Wert	Rang
<i>Brassica rapa</i>	1	4	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	13,9	1
<i>Raphanus raphanistrum</i>	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	0	-	-	-	-	-	-	6,3	2
<i>Sinapis arvensis</i>	1	4	2	1	2	1	0*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	3*
<i>Raphanus sativus</i>	1	4	2	1	2	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,6	4*
<i>Brassica oleracea</i>	1	?	1	1	2	1	1	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	4,9	5
<i>Sinapis alba</i>	1	1	2	1	2	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,6	6
<i>Diplotaxis tenuifolia</i>	1	?	1	1	2	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,9	7
<i>Diplotaxis muralis</i>	1	?	1	1	1	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,0	8
Maximalwert	1	4	3	1	2	1	1	1	2	1	1	1	2	1	1	2	1		
Wichtung	1			1,8	2,1				2,1					2			2,7	16,0	

Anhang G: Ergebnisse des Kreuzungsversuches mit tetraploiden *B. rapa*

Tabelle 7.9: Mittelwerte der Kreuzungstypen. A) Anteil der Schoten pro Kreuzung, B) Anzahl normal entwickelter Samen pro Schote, C) Anzahl der normal entwickelten Samen pro Kreuzung und D) Anteil normal entwickelter Samen pro Schote. In Klammer: Standardfehler (SF) und Anzahl (n)

	n×n	r2×r2	r4×r4	n×r2	r2×n	n×r4	r4×n	r2×r4	r4×r2
A) Anteil Schoten/ Kreuzung (SF, n)	0,61 (0,054; 84)	0,25 (0,112; 16)	0,51 (0,068; 55)	0,43 (0,061; 67)	0,15 (0,044; 67)	0,41 (0,042; 67)	0,22 (0,040; 110)	0,15 (0,044; 66)	0,10 (0,060; 54)
B) Normal entwickelte Samen/ Schote (SF, n)	15,37 (1,121; 51)	2,00 (0,707; 4)	2,36 (0,739; 28)	8,24 (1,399; 29)	2,20 (0,879; 10)	1,21 (0,379; 56)	1,13 (0,373; 24)	0,70 (0,300; 10)	0,6 (0,245; 5)
C) Normal entwickelte Samen/ Kreuzung (SF, n)	9,33 (1,067; 84)	0,5 (0,274; 16)	1,2 (0,406; 55)	3,57 (0,782; 67)	0,33 (0,158; 67)	0,5 (0,164; 136)	0,25 (0,091; 110)	0,11 (0,053; 66)	0,06 (0,031; 54)
D) Anteil normal entwickelte Samen/ Schote (SF, n)	0,836 (0,281; 51)	0,658 (0,149; 4)	0,483 (0,085; 23)	0,718 (0,070; 28)	0,356 (0,075; 9)	0,178 (0,038; 56)	0,348 (0,094; 23)	0,322 (0,143; 9)	1 (0; 3)

Anhang H: Freilandversuch tetraploider *B. rapa*

Abbildung 45: Versuchsanordnung des Freilandversuches: a) Einzelne Kreise bestehen aus einer zentralen tetraploiden Rübsenpflanze, umgeben von sieben *B. napus* Pflanzen. b) Der Abstand zwischen den zentralen Rübsen beträgt mindestens 10 Meter. c) Anordnung der Kreise auf dem Versuchsfeld des Botanischen Gartens der Universität Osnabrück.

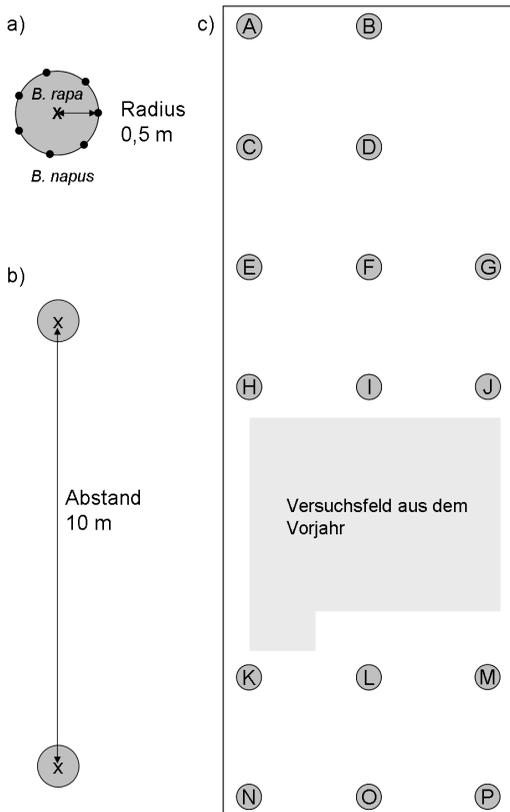


Tabelle 7.10: Ergebnisse des Freilandversuches. B: Buko, P: Perko PVH, S: Smart, T: Talent. *Kreis P von starkem Schädlingsbefall betroffen, deshalb 39 zusätzliche Samen ausgesät. Merk: Merkmale, morphol: morphologisch

		Anzahl lebensfähiger Nachkommen:						
		b) mit relativem DNA-Gehalt c) mit			f) mit <i>B. napus</i> - Merkm.			
Sorten- kombi- Kreis		a) pro Kreis	abweichend von 4x <i>B. rapa</i>	morphol. <i>B. napus</i> - Merkm.	d) SSR ana- lysiert	e) mit <i>B. napus</i> SSR Allelen	Merkm. morphol. und/ oder SSR	Mittlere Pollen- fertilität [%]
A	B/S	26	8	4	15	4	8 (30,8%)	96,1
B	P/S	21	3	1	8	4	4 (19,0%)	89,0
C	B/T	26	3	0	9	2	2 (7,7%)	93,5
D	P/T	35	5	2	12	3	3 (8,6%)	81,4
E	B/S	29	2	3	11	1	3 (10,3%)	98,8
F	P/S	33	7	2	19	4	4 (12,1%)	80,8
G	B/T	12	4	3	6	4	5 (41,7%)	82,6
H	P/T	30	2	0	7	0	0 (0,0%)	-
I	B/S	30	2	3	11	2	4 (13,3%)	95,0
J	P/S	39	9	6	15	7	9 (23,1%)	77,9
K	B/T	39	18	10	25	19	20 (51,3%)	76,2
L	P/T	37	2	1	12	2	2 (5,4%)	92,8
M	B/S	33	0	0	8	0	0 (0,0%)	-
N	P/S	40	1	1	12	0	1 (2,5%)	-
O	B/T	36	2	0	7	0	0 (0,0%)	-
P	P/T	51	16	9	28	18	19 (37,3%)	79,1
								Mittel:
								82,5 +/-
Gesamt		517	84	45	205	70	84 (16,2%)	SD=12

Danksagung

Barbara Neuffer, Walter Bleeker und Herbert Hurka möchte ich für die Aufnahme in die Osnabrücker Brassicaceen-AG und das INVASION-Team danken, für die Ermöglichung dieser Studie, für Betreuung & Begleitung, für konstruktive Denkanstöße, für die Übernahme der Gutachten sowie für zahlreiche schöne, gemeinsame Erlebnisse!

Mein Dank gilt dem BMBF für die fortlaufende Finanzierung dieses Teilprojektes im Rahmen des BIOLOG Europa Projektes „Evolutionäre, ökologische und gesellschaftliche Konsequenzen biologischer Invasionen“ (INVASION).

Im Labor, im Gewächshaus und im Feld geholfen und unterstützt haben mich Frank Buschermöhle, Andreas Mühlhausen und Rudi Hungerland-Grube. Aufmunterung und Unterstützung gab es aus dem „Doktorandenzimmer“ – Euch allen vielen Dank für gute Stimmung & Schokolade! Dear Lucille Schmieding, special thank to you not only for language editing but all the other small things you did! Vielen Dank auch allen weiteren Mitarbeitern der AG Botanik!

Einen lieben Dank an die fleißigste und tollste Diplomandin der Welt - Maren Hochkirch (geb. Müller)! Trotz gefühlter Million Kreuzungen hast du nie den Mut verloren und mit deiner Freundschaft für mich nicht nur im Labor die Sonne scheinen lassen. DANKE!

Danke auch an Friede Koller und die tausenden Rapssamen.

Und nicht zu vergessen: mein Dank an alle Mitarbeiter des Botanischen Gartens Osnabrück, die uns bei den Freilandversuchen so wunderbar eingewiesen, fachmännisch beraten und immer unterstützt haben.

Herzlichen Dank an Ulf Schmitz (Universität Düsseldorf) für bunte GIS-Karten und ungewöhnliche Restaurants in fremden Städten!

Barbara Rudolph und Gisela Bertram haben mich begeistert für Pflanzen & Fingerprints. Barbara möchte ich herzliche danken für die Zusage als Gutachterin bei meiner Disputation.

Allen meinen lieben Freunden aus dem Studium in Hamburg möchte ich für ihre menschliche Nähe & ihre enge Verbindung trotz räumlicher Trennung und geographischer Streuung herzlich danken! Liebe Anne, danke für deine Motivation, deine Besuche und das Finden des Roten Fadens!

Meine Familie weiß ich immer hinter mir – Danke, dass es Euch alle gibt!

Hey Chrisch, wünsch dir Motivation für den Endspurt! Lieber Dieter, danke für 1000 Kommata und genauso viel Zuspruch! Liebe Mama, du glaubst immer an mich - in Höhen und Tiefen - und bist immer für mich da. Für deine Liebe, deine riesengroße Unterstützung und vor allem für deine Freundschaft werde ich immer dankbar sein!

Tim, du bist meine Liebe, mein Fels, mein Anker. Auf in den nächsten Lebensabschnitt – aber nur mit dir zusammen!

Erklärung über die Eigenständigkeit der erbrachten wissenschaftlichen Leistung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Bei der Auswahl und Auswertung folgenden Materials haben mir die nachstehend aufgeführten Personen in der jeweils beschriebenen Weise unentgeltlich geholfen:

1. Prof. Barbara Neuffer als Betreuerin der Arbeit und Projektleitung des Teilprojektes, sowie Unterstützung Begleitung und Beratung während der gesamten Arbeit.
2. PD Dr. Walter Bleeker: Begleitung und Beratung während der Ausarbeitung insbesondere bei der Auswahl und Auswertung des Materials für die beiden anstehenden Veröffentlichungen (Elling et al. 2009a, sowie Elling, Hochkirch, Neuffer, Bleeker 2009b, zur *Veröffentlichung angenommen.*)
3. Prof. Herbert Hurka: Leitung des Projektverbundes INVASION sowie Unterstützung Begleitung und Beratung während der Arbeit.
4. Dr. Ulf Schmitz (Universität Düsseldorf, Abteilung für Gebotanik): Erstellung der GIS-basierten Karten der kartierten *Brassica*-Populationen im Osnabrücker Land 2004-2008.

Weitere Personen waren an der inhaltlichen, materiellen Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich hierfür nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Barbara Elling
Osnabrück, den 08.12.2008

Curriculum Vitae

Personalien

Name: Barbara Elling
Geburtsdatum: 21.09.1978
Geburtsort: Hamburg
Nationalität: Deutsch

Schulbildung

Schule: Grundschule Scheeßeler Kehre, Hamburg
Dauer: 09/1985 - 06/1989

Schule: Alexander von Humboldt Gymnasium, Hamburg
Dauer: 08/1989 - 06/1998
Abschluss: Abitur

Studium

Hochschule: Universität Hamburg
Studienfach: Biologie
Dauer: 10/1998 – 02/2004
Diplomarbeit: Untersuchungen der weltweiten Verbreitung von *Mesembryanthemum crystallinum* L. (Aizoaceae) mit molekularen Methoden. Unveröffentlicht. Biozentrum Klein Flottbek, Systematik, AG Prof. N. Jürgens
Abschluss: Diplom (Dipl. Biol.)

Promotion

Hochschule: Universität Osnabrück
Fachbereich: Biologie / Chemie
Arbeitsgruppe: Botanik
Fach: Biologie
Dauer: seit 04/2004 – voraussichtlich 2009
Abschluss: angestrebt Doktorgrad der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

Arbeitsverhältnisse

- ½ TVÖD 13 Stelle im BMBF-Projekt „BIOLOG Europa“, Teilprojekt „INVASION“ fortlaufend seit 04/2004

Publikationen

Wissenschaftliche Zeitschriften und Internetressourcen

- Elling, B., Neuffer, B. (seit 01/2007, aktualisiert 08/2009) *Verwildерungspotenzial von Rapspflanzen* (dt. und engl.). www.biosicherheit.de
- Elling, B., Neuffer, B. und Bleeker, W. (2009a) Sources of genetic diversity in feral oilseed rape (*Brassica napus* L.) populations. *Basic and Applied Ecology*, 10, 544-553
- Elling, B., Hochkirch, M., Neuffer, B. und Bleeker, W. (2009b, zur Veröffentlichung angenommen) Hybridisation between oilseed rape (*Brassica napus*) and tetraploid *B. rapa* under field conditions. *Flora*
- Elling, B., Hochkirch, M., Bleeker, W., Neuffer, B., Hurka, H. (2009) Verwildерter Raps im Osnabrücker Land: ausdauernd und auskreuzungsfreudig. Broschüre Biologische Invasionen und Phytodiversität. Universität Osnabrück

Posterpräsentationen und Vorträge auf nationalen und internationalen Tagungen und Kongressen

- Bertram, G., Elling, B., Schmiedel, U. (11/2002, Posterpräsentation) *Islands in an arid world: investigations on populations of Gibbaeum cryptopodium (Aizoaceae)*. International symposium on plant species-level systematics, Leiden, Netherlande, S. 14
- Elling, B., Bertram, G. (09/2003, Posterpräsentation) *Investigations into the worldwide distribution of Mesembryanthemum crystallinum L. (Aizoaceae)*. Biodiversity and Evolutionary Biology, DBG, Frankfurt a. M., S. 148
- Elling, G. Bertram, B. Rudolph (06/2004, Vortrag) *From Cape to California – The worldwide distribution of the invasive Iceplant (Mesembryanthemum crystallinum L.); investigations with molecular methods*. International Organization for Succulent Plant Study, 28th IOS Congress, Hamburg
- Elling, B., Mühlhausen, A., Bleeker, W., Neuffer B. (09/2004, Posterpräsentation) *Feral oilseed rape (Brassica napus L., Brassicaceae) in Lower Saxony*. DBG Botanikertagung, Braunschweig. S. 313
- Elling, B., Neuffer B. (02/2005, Vortrag) *Ruderaler Raps und mögliche Brassica-Hybride im Osnabrücker Raum*. AK Gentechnik und Ökologie der GfÖ, Bremen.

- Elling, B., Mühlhausen, A., Neuffer, B. (03/2005, Posterpräsentation) *Feral oilseed rape in Northern Germany*. AG Saatgut und Sortenwesen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften, Göttingen.
- Elling, B., Müller, M., Neuffer B. (07/2005, Posterpräsentation) *Cultigenes as a source for neophyta? – Feral oilseed rape and its putative natural hybrids in northern Germany*. International Botanical Congress (IBC), Wien, Österreich. S. 491
- Elling, B., Neuffer, B., Bleeker W. (09/2005, Vortrag) *Hybridisation between invasive and native plant species and its consequences*. Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie, Band 35, S. 25
- Elling, B., Bleeker, W., Neuffer, B. (09/2006, Vortrag) *Stepping stones for gene flow from cultivated oilseed rape*. Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie, Band 36, S. 89
- Bleeker, W., Schmitz, U., Ristow, M., Mühlhausen, A., Elling, B. (09/2006, Posterpräsentation) *How many neophytes hybridize with native plant species?* Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie, Band 36, S. 325
- Elling, B., Müller, M., Neuffer B. (09/2006, Posterpräsentation) *Cultigenes as a source of neophytes – gene flow from cultivated oilseed rape*. 4th European Conference on Biological Invasions NEOBIOTA – From Ecology to Control, Wien, Österreich. BfN-Skripten 184, S. 133
- Müller, M., Elling, B., Neuffer, B. (09/2007, Posterpräsentation) *Tetraploid Brassica rapa – Stepping stones for gene flow from cultivated into wild populations?* 4th European Conference on Biological Invasions NEOBIOTA – From Ecology to Control, Wien, Österreich. BfN-Skripten 184, S. 198
- Elling, B., Müller, M., Neuffer, B., (09/2007, Posterpräsentation) *Feral oilseed rape in northern Germany: Persistence, gene flow & hybridisation*. DBG Botanikertagung, Hamburg. S. 68
- Elling, B., Neuffer B., Bleeker, W. (09/2008, Posterpräsentation) *Persistence and genetic variation of feral oilseed rape (Brassica napus L.)*. 5th European Conference on Biological Invasions NEOBIOTA – Towards a Synthesis, Prag, Tschechische Republik. S. 182
- Bittner, C., Elling, B., Bleeker, W. (09/2008, Posterpräsentation) *Hybridisation between the invasive garden escape Lamium argentatum and native Lamium taxa in northwest Germany*. 5th European Conference on Biological Invasions NEOBIOTA – Towards a Synthesis, Prag, Tschechische Republik. S. 179

Verwilderter Raps im Osnabrücker Land

Erfassung, Charakterisierung & Auskreuzungspotenzial

Barbara Elling

Raps wurde als Fallstudie für eine Kulturpflanze ausgewählt, die sich außerhalb des Anbaus spontan etablieren kann und so als Quelle für Neophyten dient. In einer regionalen Studie im Osnabrücker Land wurde basierend auf Kartierungen (2004-2008) und kernkodierten Mikrosatellitenmarkern die Herkunft, Persistenz und genetische Variation verwilderter Rapspopulationen untersucht. Die wichtigsten Quellen für die erhöhte genetische Variation in verwilderten Rapspopulationen waren die mehrfache Einschleppung verschiedener Sorten und Hybridisierungen zwischen diesen. Raps tritt im Osnabrücker Land mit einer Reihe nah verwandter Arten, darunter *Brassica rapa* und *Raphanus raphanistrum*, sympatrisch in verwilderten Populationen auf. Hybride zwischen Raps und diploiden Rübsen konnten nachgewiesen werden. Tetraploider Rübsen wurde als Kreuzungspartner von Raps erstmals in dieser Studie untersucht. In Kreuzungsversuchen und in einem Freilandversuch konnten interspezifische Hybridisierungen zwischen tetraploiden Rübsen und Raps nachgewiesen werden. Unter natürlichen Bestäubungsbedingungen im Freilandversuch mit tetraploiden Rübsen-Mutterpflanzen wurde eine Hybridisierungsrate von 16,2% abgeschätzt.

Die Untersuchungen zeigen, dass verwilderte Rapspopulationen durchaus ein Potenzial zu evolutiven Entwicklungen besitzen. Verwilderte Rapspopulationen können als Trittsteine für intra- und interspezifischen Genfluss dienen und dadurch beim Anbau transgener Rapsorten die Koexistenz verschiedener Anbauformen erschweren. Sie können die Etablierung von Transgenen außerhalb des Anbaus ermöglichen, die Transgenausbreitung fördern und Introgression in nah verwandte Arten vermitteln. Die Wahrscheinlichkeit von Hybridisierungen zwischen Raps und Rübsen (diploid und tetraploid) könnte verringert werden, wenn vermieden würde, diese kreuzkompatiblen Arten gemeinsam in Saatgutmischungen zu verwenden.