

**Technische Universität München**  
Wissenschaftszentrum Weihenstephan  
für Ernährung, Landnutzung und Umwelt  
Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung

## Molekulargenetische Charakterisierung und Lokalisierung von Resistenzgenloci gegen Ährenfusariosen bei Winterweizen

**Michael Schmolke**

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

**Doktors der Agrarwissenschaften**

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. A. Gierl  
Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. G. Wenzel  
2. Univ.-Prof. Dr. F.J. Zeller  
3. A.o. Univ.-Prof. Dr. H. Bürstmayr  
(Universität für Bodenkultur, Wien - Österreich)

Die Dissertation wurde am 15.10.2004 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 23.12.2004 angenommen.

## **Veröffentlichungen der Dissertation**

Teilergebnisse dieser Arbeit wurden vorab veröffentlicht:

### Publikation

Schmolke M, Zimmermann G, Buerstmayr H, Schweizer G, Miedaner T, Korzun V, Ebmeyer E, Hartl L (2005): Molecular mapping of Fusarium head blight resistance in the winter wheat population Dream/Lynx. Theoretical and Applied Genetics, Manuskript Nr. TAG-2004-0381, eingereicht am 16.07.2004

### Tagungsbeiträge

Schmolke M, Zimmermann G, Buerstmayr H, Schweizer G, Miedaner T, Korzun V, Ebmeyer E, Hartl L (2004): Molecular mapping of Fusarium head blight resistance in two winter wheat populations using AFLP and SSR markers. International Triticeae Mapping Initiative 2004 Summer Workshop, University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota, USA.

Schmolke M, Zimmermann G, Ebmeyer E, Miedaner T, Schweizer G, Hartl L (2003): Molecular mapping of Fusarium head blight resistance QTLs in a winter wheat population using AFLP markers. Proceedings of the Tenth International Wheat Genetics Symposium, Paestum, Italy 1-6 September 2003, p. 1245-1247.

Schmolke M, Zimmermann G, Ebmeyer E, Miedaner T, Schweizer G, Hartl L (2003): Molekulargenetische Charakterisierung von QTLs für Fusariumresistenz in zwei Winterweizen-Populationen. Vorträge für Pflanzenzüchtung, 54: 303-306.

## Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung .....	3
1.1 Bedeutung der Ährenfusariosen bei Weizen.....	3
1.2 Resistenzkomponenten und Züchtung.....	6
1.3 Molekulargenetische Kartierung des Weizengenoms .....	10
1.3.1 AFLPs.....	11
1.3.2 Mikrosatelliten Marker.....	12
1.4 QTL-Analysen .....	13
1.5 Phänotypische Erfassung der Fusariumresistenz .....	15
1.6 Molekulare Kartierung der Fusariumresistenz.....	16
1.7 Zielsetzungen dieser Arbeit .....	20
2 Material und Methoden.....	22
2.1 Entwicklung der Kartierungspopulationen.....	22
2.2 Feldversuche.....	22
2.3 Molekulare Marker.....	24
2.3.1 DNA Extraktion.....	24
2.3.2 AFLP-Marker .....	25
2.3.3 SSR-Marker.....	28
2.3.4 STS-Marker .....	28
2.3.5 Gelelektrophorese .....	29
2.4 Statistische Auswertung .....	29
2.4.1 Analyse der Feldversuche .....	29
2.4.2 Molekulargenetische Kartierung .....	29
2.4.3 QTL-Analysen .....	30
2.5 Markervalidierung.....	31
3 Ergebnisse .....	32
3.1 Phänotypisierung der Dream/Lynx-Population.....	32
3.2 Phänotypisierung der G16-92/Hussar-Population.....	35
3.3 Genotypisierung der Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar.....	38
3.4 QTL-Analysen der Dream/Lynx-Population .....	46
3.5 QTL-Analysen der G16-92/Hussar-Population.....	52
3.6 Phänotypisierung der Validierungspopulation.....	57
3.7 Markervalidierung.....	58

4 Diskussion.....	63
4.1 Phänotypische Daten aus den Feldversuchen.....	63
4.2 Molekulare Kartierung von Fusariumresistenz-QTLs .....	64
4.3 Colokalisierung von Resistenz-QTLs und QTLs für Wuchshöhe und den Zeitpunkt des Ährenschiebens.....	72
4.4 Markervalidierung .....	76
4.5 Ausblick.....	79
5 Zusammenfassung .....	83
6 Summary.....	84
7 Literaturverzeichnis .....	85
8 Anhang.....	92
8.1 Abkürzungsverzeichnis.....	92
8.2 Chemikalienverzeichnis.....	92

## 1 Einleitung

### 1.1 Bedeutung der Ährenfusariosen bei Weizen

Die wirtschaftliche Bedeutung der Ährenfusarien bei Weizen (*Triticum aestivum* L.) hat in den letzten Jahren in den Getreideanbaugebieten der humiden und semihumiden Klimaregionen weltweit zugenommen. Die durch Fusariumpilze verursachte partielle Weiß- oder Taubährigkeit (engl. Fusarium head blight, Scab) kann epidemische Ausmaße annehmen und zu beträchtlichen Ertrags- und Qualitätsverlusten führen. Insbesondere die Kontamination der Körner von infizierten Pflanzen mit pilzlichen Toxinen bereitet Probleme. Pilze der Gattung *Fusarium* haben einen breiten Wirtskreis und können alle Getreidearten einschließlich Mais infizieren. Die weltweit wichtigsten Krankheitserreger der partiellen Taubährigkeit sind *Fusarium graminearum* und *Fusarium culmorum*. In den warmen Klimaregionen in Europa, China, Kanada und den USA ist vorwiegend *F. graminearum* Verursacher der Ährenfusariose, während in den kühleren Regionen Nordeuropas *F. culmorum* dominiert (Parry et al. 1995, Bottalico und Perrone 2002).

Als Inokulum für die Infektion der Weizenpflanzen können sowohl vegetativ durch Zellteilung produzierte Makrokonidien als auch die generativ gebildeten Ascosporen der Hauptfruchtform *Gibberella zeae* von *F. graminearum* dienen (Sutton 1982). Für *F. culmorum* ist keine Hauptfruchtform bekannt. Fusariumpilze können als Chlamydosporen oder als Myzel sowohl auf totem wie auf lebendem Wirtsgewebe existieren. Insbesondere nicht untergepflügte Pflanzenrückstände stellen eine wichtige Inokulumquelle dar. Die in Perithezien produzierten, flugfähigen Ascosporen werden Windverbreitet (Tschanz et al. 1975). Die Makrokonidien gelangen mit Hilfe von Spritzwasser in höhere Blattetagen bis zu den Ähren. Auf der Oberfläche des Wirtes keimen die Konidien bzw. Ascosporen sechs bis zwölf Stunden nach der Inokulation und innerhalb von zwei Tagen beginnt das Myzelwachstum. Das rötliche Myzel dringt über die innere Oberfläche der Hüllspelzen bis zu den Blüten vor, wo der Erreger in die Wirtspflanze eintritt. In den Ährenspindeln folgt die basipetale Ausbreitung bis zu den Kornanlagen (Kang und Buchenauer 2000). Die Unterbrechung der Nährstoffversorgung zu den Spindeln führt zur Entstehung von Schmachtkörnern oder zum Absterben der Kornanlagen. Oberhalb des Infektionspunktes kommt es zum Ausbleichen einzelner Ährchen und somit zur Entwicklung des typischen Schadbildes, der partiellen Taubährigkeit (Abbildung 1). Unterhalb der Infektionsstelle entstehen meist normal große Körner, welche aber mit Mykotoxinen belastet sein können. Kontaminierte Körner sind weißlich und teilweise stark verformt (Abbildung 2).

Für die Entwicklung und Ausbreitung der pilzlichen Krankheitserreger sind feucht-warme Witterungsbedingungen von Vorteil. Außerdem wird bei einer hohen Kornfeuchte die Keimung der Konidien gefördert und das Myzelwachstum über einen längeren Zeitraum ermöglicht. Somit wird die Infektion des Wirtes erleichtert und der Befallsdruck erhöht. Liegt

ausreichend Inokulum vor und befinden sich die Wirtspflanzen während der Infektionsphase in der Blüte, so ist bei feucht-warmer Witterung das Risiko eines epidemieartigen Befalls sehr hoch (Obst und Bechtel 2000).



**Abbildung 1:** Symptome der partiellen Taubaerigkeit bei Winterweizen



**Abbildung 2:** Körner von fusariuminfizierten Pflanzen

Das Absterben der Kornanlage hat eine geringere Kornzahl pro Ähre zur Folge und die Bildung von Schmachtkörnern führt zu einem vermindertem Tausendkorngewicht. Die Verarbeitungsqualität des Erntegutes verschlechtert sich ebenso wie die Keimfähigkeit der Körner von befallenen Pflanzen (Argyris et al. 2003).

Gravierender als die durch Fusariumpilze verursachten Ertragsverluste, ist die Kontamination der Körner infizierter Pflanzen mit Mykotoxinen. Sowohl *F. graminearum* als auch *F. culmorum* sind in der Lage Mykotoxine in infizierten Körnern zu produzieren (Bottalico 1998). Die Kontamination von Lebens- und Futtermitteln mit Pilzgiften stellt weltweit ein ernstes Problem dar. Als Mykotoxine bezeichnet man die sekundären Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen, die bei chronischer Aufnahme bereits in geringen Dosen toxisch auf den tierischen bzw. menschlichen Organismus wirken können. Im Getreide auftretende toxische Metabolite, wie Deoxynivalenol (DON), Nivalenol (NIV) und Zearalenon (ZEA) wurden in den letzten Jahren in beachtlichen Mengen festgestellt. Der Gruppe der Trichothecene (DON, NIV) kommen in Europa hinsichtlich der Häufigkeit des Auftretens und der gefundenen Mengen besondere Bedeutung zu (Bottalico und Perrone 2002). Die toxikologischen Eigenschaften der Trichothecene können u.a. zur Hemmung der Proteinbiosynthese und zu einer Beeinträchtigung des Verdauungstraktes führen sowie eine suppressive Wirkung auf

das Immunsystem haben. Einen Überblick über die chemische Struktur, die toxikologischen Eigenschaften und die Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit der Trichothecene ist bei Sudakin (2003) nachzulesen.

In der Europäischen Union wurden 2002 Richtlinien für Höchstgehalte von DON in Getreideprodukten für die menschliche Ernährung festgelegt. Im Februar 2004 hat das Deutsche Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft die Höchstmengenverordnung für Mykotoxine in Getreideerzeugnissen geändert und als bisher einziges EU-Mitglied Höchstgehalte u.a. für Deoxynivalenol eingeführt (Anonym 2004):

- in Getreideerzeugnissen und Teigwaren  $500 \mu\text{gkg}^{-1}$
- in Brot und Backwaren  $350 \mu\text{gkg}^{-1}$
- in diätischen Getreideerzeugnissen für Säuglinge und Kleinkinder  $100 \mu\text{gkg}^{-1}$

Problematisch für die Einhaltung der zulässigen Höchstmengen ist die Tatsache, dass noch keine einfache, kostengünstige und sichere Schnellbestimmungsmethode für die DON-Belastung in Korn-Partien zur Verfügung steht. Ein epidemischer Verlauf des Fusariumbefalls tritt zwar nur sporadisch auf, bei günstigen Infektionsbedingungen kann der DON-Gehalt die in der Verordnung genannten Höchstwerte jedoch schnell übersteigen.

Hohe wirtschaftliche Verluste durch Ährenfusariosen sind in den letzten Jahren insbesondere in den USA, in Kanada und in China entstanden. Das Ministerium für Landwirtschaft der USA (United States Department of Agriculture, USDA) hat die Ährenfusariose des Weizens als schlimmste Pflanzenkrankheit seit der Schwarzrostepidemie ausgelöst durch den Pilz *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in den 1950er Jahren eingestuft (McMullen et al. 1997).

Seit Mitte der 1980er Jahre wird auch in Deutschland ein epidemischer Fusariumbefall bei Weizen beobachtet. In Bayern kam es beispielsweise in den Jahren 1987, 1991, 1993, 1998, 1999 und 2002 zu einem starken Befall des Weizens mit Ährenfusarien. Die Ursachen für diese Entwicklung stehen im Zusammenhang mit einigen Faktoren des intensiven Getreideanbaus, welche den Krankheitserreger begünstigen. So wird die Produktion des Inokulums durch den verstärkten Anbau von Mais seit den 1960er Jahren in Verbindung mit einer engen Fruchtfolge (Winterweizen nach Mais) und der Tendenz zu einer konservierenden Bodenbearbeitung gefördert. Auch der Anbau von fusariumanfälligen, kurzstrohigen Hohertragssorten erhöht das Risiko eines starken Fusariumbefalls. Entsprechende pflanzenbauliche Maßnahmen, wie eine weite Fruchtfolge und das Unterpflügen von Pflanzenrückständen können die Anreicherung des Inokulums vermindern und so das Schadpotential der Ährenfusarien senken (Beck und Lepschy 2000, Dill-Macky und Jones 2000).

Fungizide mit einer Wirkung gegen Ährenfusarien sind prinzipiell vorhanden, allerdings ist die termingerechte Applikation problematisch. Der Fusariumbefall der Ähren tritt ohne vorherige Blattsymptome auf. Der Zeitraum, in dem ein wirksamer Einsatz von Fungiziden möglich ist, beträgt nur wenige Tage nach der Infektion (Obst und Gammel 2000). Wenn Ährensymptome sichtbar werden, ist es für einen Fungizideinsatz bereits zu spät. Da die Befallswahrscheinlichkeit und die Schwere des Befalls stark von Witterungsbedingungen beeinflusst werden, ist eine Prognose über die Notwendigkeit einer Fungizid-Applikation schwierig. Die Verwendung von Fungiziden ist grundsätzlich, sowohl aus ökonomischen als auch aus ökologischen Gründen, kritisch zu betrachten. Zudem wurde beobachtet, dass Fungizide mit dem Wirkstoff Strobilurin sogar zu erhöhten Toxingehalten führen können (Obst und Gammel 2000, Simpson et al. 2001). Einen Überblick über die Wirksamkeit von verschiedenen pflanzenbaulichen Maßnahmen, sowie von Fungiziden geben z.B. Parry et al. (1995), Dill-Macky und Jones (2000) und Pirgozliev et al. (2003).

Der Anbau von resistenten Sorten hat die besten Aussichten das Risiko einer Fusariumepidemie, sowie das Befallsniveau und das Schadpotential zu vermindern (Bai und Shaner 1994, Ruckenbauer et al. 2001, Rudd et al. 2001).

Das deutsche Bundessortenamt berücksichtigt bei Leistungsprüfungen für das amtliche Zulassungsverfahren bei Weizen auch die Resistenzeigenschaften gegenüber Ährenfusarien. Aufgrund der neuen Höchstmengenverordnung wird die Resistenz gegen Ährenfusarien in Deutschland noch an Bedeutung gewinnen. Wertprüfungsstämme mit einer überdurchschnittlichen Fusariumanfälligkeit werden in Zukunft wohl nicht mehr als Sorte zugelassen bzw. schon heute von der Officialberatung nicht mehr empfohlen. Daher ist die Züchtung von resistenten Sorten von großer Bedeutung.

## **1.2 Resistenzkomponenten und Züchtung**

Der Kontakt zwischen Pflanze und Krankheitserreger führt immer zur Aktivierung von Abwehrmechanismen, mit denen die Pflanze versucht die Ausbreitung des Pathogens zu verhindern. Dabei sind die Schnelligkeit und die Stärke der Abwehrreaktionen entscheidend für den Erfolg. Die Resistenz gegen Ährenfusarien hat horizontalen Charakter und ist rassenunspezifisch (Snijders und Van Eeuwijk 1991, Van Eeuwijk et al. 1995, Mesterházy et al. 1999).

Weltweit haben Züchter registriert, dass das im aktuellen Sortenmaterial vorhandene Resistenzniveau gegenüber Ährenfusariosen bei einem epidemieartigem Befall keinen ausreichenden Schutz bietet. Auch besteht selbst bei einer geringen Befallsstärke das Risiko der Mykotoxinkontamination. Daher wird verstärkt an der Züchtung von resistenten Sorten gearbeitet. Die Züchtung auf Resistenz gegen Ährenfusarium beinhaltet die Identifizierung, Evaluierung und Einbindung von Resistenzquellen in entsprechende Kreuzungsprogramme.



Resistente Genotypen sind sowohl bei Sommer- als auch bei Winterweizen vorhanden und werden im wesentlichen in drei Genpools unterteilt: Sommerweizen aus China und Japan, Sommerweizen aus Südamerika und Winterweizen aus Europa (Ruckenbauer et al. 2001, Rudd et al. 2001). Weitere potentielle Resistenzquellen wurden z.B. in *Triticum dicoccoides* (Stack et al. 2002, Buerstmayr et al. 2003a), *Triticum macha* (Buerstmayr et al. 1996, Mentewab et al. 2000) und *Agropyron* (auch als *Lophopyrum* bezeichnet) (Ban et al. 2001, Shen et al. 2004) identifiziert. Allerdings ist bis heute noch kein Genotyp mit vollständiger Resistenz bzw. Immunität gegen Ährenfusarien identifiziert worden. Die bisher, insbesondere in den USA, am häufigsten in der Züchtung verwendete Resistenzquelle ist Sumai3. Sumai3 stammt aus China, ist somit nicht an die mitteleuropäischen Klimabedingungen adaptiert und vererbt minderwertige agronomische Eigenschaften (Ruckenbauer et al. 2001, Rudd et al. 2001).

Die phänotypisch quantitative Ausprägung der Fusariumresistenz stellt für die Züchtung von resistenten Sorten eine Herausforderung dar. Da die Witterungsbedingungen sowohl die Infektion als auch die weitere Entwicklung der Krankheit beeinflussen, kommt es zu einer variablen Ausprägung von Krankheitssymptomen und somit zu starken Genotyp x Umwelt-Interaktionen (Miedaner et al. 2001). Dies hat eine niedrige Heritabilität für die Fusariumresistenz in frühen Generationen und auf Einzelpflanzen-Basis zur Folge (Snijders 1990b). Die phänotypische Selektion auf resistente Genotypen ist daher schwierig. Für eine verlässliche Einschätzung der Resistenzeigenschaften ist eine künstliche Inokulation in möglichst vielen Umwelten (Orte, Jahre) und in relativ späten Generationen (ab der F<sub>4</sub>) notwendig. Die Evaluierung von Genotypen hinsichtlich ihrer Resistenzeigenschaften wird somit langwierig und kostspielig.

Weiterhin ist die Tatsache, dass die Fusariumresistenz polygen oder zumindest oligogen vererbt wird, problematisch für die Züchtung. Mit Hilfe klassisch genetischer Studien (Snijders 1990a/b/c, Van Ginkel et al. 1996, Bai et al. 2000, Ban und Suenaga 2000), der Untersuchung von monosomen Populationen (Buerstmayr et al. 1999) und der molekularen Analyse von Substitutionslinien (Mentewab et al. 2000, Stack et al. 2002) wurde festgestellt, dass zwei bis fünf Hauptgene und eine unbestimmte Anzahl modifizierender Gene an der Kontrolle der Fusariumresistenz beteiligt sind.

Das Zusammenspiel unabhängig vererbter Resistenzgene wurde mit einer hauptsächlich additiven Genwirkung beschrieben. Allerdings können auch epistatische Effekte eine Rolle spielen (Snijders 1990a/b, Bai et al. 2000, Buerstmayr et al. 2000). Bei additiver Genwirkung führt die Pyramidisierung von verschiedenen Resistenzgenen zur Transgression. Zur Erhöhung des Resistenzniveaus einer Zuchtpopulation bietet sich aufgrund der additiven Genwirkung die rekurrente Selektion mit der Einkreuzung unterschiedlicher Resistenzquellen

an. Für eine signifikante Verbesserung der Resistenz-eigenschaften sind mehrere Zyklen notwendig (Jiang et al. 1994).

In der Literatur wird von diversen physiologischen Resistenzmechanismen berichtet. Über die Anzahl der beteiligten Gene, die einen Mechanismus kontrollieren und über das Zusammenspiel dieser Mechanismen auf molekularer Ebene ist wenig bekannt. Es muss davon ausgegangen werden, dass die quantitativen Anteile der verschiedenen Resistenzkomponenten an der Gesamtausprägung der Fusariumresistenz von Genotyp zu Genotyp unterschiedlich sein können. Schroeder und Christensen (1963) beschrieben zwei Resistenzkomponenten. Die TypI-Resistenz betrifft die Etablierung der Infektion. Sie vermeidet ein Eindringen des Erregers in das Wirtsgewebe. Außerdem haben Schroeder und Christensen (1963) festgestellt, dass sich *F. graminearum* in anfälligen Genotypen schneller ausbreitet als in resistenten Genotypen. Diesen Widerstand gegen die Ausbreitung des Erregers in der Ähre haben sie als TypII-Resistenz bezeichnet. Zwei weitere Resistenzmechanismen beschreiben die Reaktion des Wirtes auf die DON-Produktion des Erregers. Miller und Arnison (1986) haben in vergleichenden Studien festgestellt, dass die resistente Sorte Frontana Mechanismen zum Abbau von DON aktivieren kann (TypIII-Resistenz). Wang und Miller (1988) berichteten, dass resistente Genotypen verglichen mit anfälligen Genotypen eine höhere DON-Konzentration ohne negative Effekte auf Wachstumsprozesse tolerieren können (TypIV-Resistenz, auch als DON-Toleranz bezeichnet). Mesterházy et al. (1999) gehen von zwei weiteren Resistenztypen aus. Der Resistenz gegenüber der Infektion der Körner und der allgemeinen Toleranz von Genotypen hinsichtlich der Ertragsbildung bei Fusariuminfektionen.

Neben physiologischen Mechanismen können auch morphologische Eigenschaften der Pflanzen einen Einfluss auf die Etablierung der Infektion bzw. auf die Ausbreitung des Befalls innerhalb des Wirtes haben. Es wurde festgestellt, dass Genotypen mit einer großen Halmlänge, bei natürlicher Infektion einen geringeren Befall verglichen mit kurzstrohigen Genotypen zeigten (Mesterházy 1995). Da von einer derartigen Beziehung zwischen Wuchshöhe und Befallsstärke auch häufig nach Sprühhinokulation berichtet wurde (Hilton et al. 1999, Buerstmayr et al. 2000, Gervais et al. 2003, Paillard et al. 2004, Steiner et al. 2004), ist eine genetische Ursache für diesen Zusammenhang zu vermuten. Außerdem wurde beobachtet, dass Genotypen mit begrannnten Ähren und Genotypen mit einer kompakten Ähre bei natürlicher Infektion im Allgemeinen stärker befallen sind als Genotypen mit unbegrannnten bzw. lockeren Ähren (Mesterházy 1989, Mesterházy 1995). Die Kombination von kurzem Stroh und kompakten Ähren ist bei vielen hochanfälligen europäischen Halbzwegsorten zu beobachten. Da diese Merkmale die Einschätzung der physiologischen Resistenzen und damit eine effiziente Selektion schwierig gestalten, ist eine Abgrenzung dieser physiologischen Resistenzen von den morphologischen Merkmalen wünschenswert.

Neue Erkenntnisse hinsichtlich der Vererbung der Fusariumresistenz, sowie über die physiologische Wirkung und das Zusammenspiel unterschiedlicher Resistenzmechanismen sind notwendig, um die Züchtung resistenter Sorten effizienter zu gestalten.

Molekulargenetische Analysen von fusariumresistenten Weizengenotypen haben das Ziel, Genloci (**quantitative trait loci**, QTL), die bei der Ausprägung der Resistenz beteiligt sind, zu identifizieren und im Weizengenom zu lokalisieren. DNA-Marker, die eng mit diesen QTLs gekoppelt sind, können für eine markergestützte Selektion (**marker assisted selection**, MAS) in der Züchtung genutzt werden. Die indirekte Selektion von quantitativ ausgeprägten Merkmalen auf DNA-Ebene über den Einsatz molekularer Marker hat den Vorteil, dass sie keiner Beeinflussung durch Umwelteffekte unterliegt. Die MAS ist in allen Entwicklungsstadien der Pflanzen möglich und kann bereits in frühen Generationen des Zuchtschemas durchgeführt werden. Daher kann die Anzahl der Linien und somit der Arbeitsaufwand bei der Resistenzprüfung, sowie die benötigte Fläche in den folgenden Generationen reduziert werden. QTL-Analysen liefern zudem Informationen über die Anzahl der beteiligten Loci bei der Ausprägung der Resistenz. Der Einsatz geeigneter Methoden zur phänotypischen Evaluierung der Resistenz-eigenschaften liefert Hinweise welche Resistenzmechanismen im Zusammenhang mit den identifizierten Loci stehen. Außerdem sollte es möglich sein, die verschiedenen Resistenzkomponenten voneinander und von den morphologischen Effekten auf den Fusariumbefall abzugrenzen. Über die MAS kann auch das Einbringen von Resistenzgenen aus exotischen Genotypen in adaptiertes Material sowie die gezielte Kombination und Pyramidisierung verschiedener Resistenzgene beschleunigt werden.

DNA-Marker, die für eine MAS genutzt werden sollen, müssen allerdings eine Reihe von Bedingungen erfüllen. Die Voraussetzung für den sinnvollen Einsatz eines DNA-Markers in der Züchtung ist eine möglichst enge Kopplung des Markers mit einem Gen/QTL des Zielmerkmals. Der DNA-Marker muss in verschiedenen genetischen Hintergründen effektiv und reproduzierbar genutzt werden können, also diagnostisch sein. Die Handhabung des Markers sollte in Bezug auf Arbeitsschritte und Detektion einfach und unkompliziert sein. Zusätzlich sollten die Kosten für die Verwendung des Markers nicht den ökonomischen Nutzen in der praktischen Züchtung übersteigen.

Die Möglichkeiten der MAS in der Züchtung im Allgemeinen werden von Gupta et al. (1999) und Gupta und Varshney (2000) beschrieben. Die Fortschritte und der Einsatz von Markern bei der Züchtung von fusariumresistenten Sorten werden u.a. bei Miedaner (1997), Kolb et al. (2001), Ruckenbauer et al. (2001), Rudd et al. (2001) und Van Sanford (2001) diskutiert.

### 1.3 Molekulargenetische Kartierung des Weizengenoms

Molekulare Marker sind polymorphe DNA-Fragmente, die überwiegend auf Sequenzunterschiede in nichtcodierenden DNA-Abschnitten verschiedener Individuen basieren und somit phänotypisch nicht in Erscheinung treten. Molekulare Marker können u.a. genutzt werden, um eine genetische Karte eines Genoms zu entwickeln und somit dieses Genom auf DNA-Ebene zu analysieren. Eine genetische Karte repräsentiert die Anordnung von Loci entlang der Chromosomen eines Genoms. Die Genotypisierung einer spaltenden Population mit molekularen Markern ermöglicht die Identifizierung von Rekombinationsereignissen, welche die Grundlage für die Berechnung einer genetischen Karte sind. Die Zuordnung der DNA-Marker zu Kopplungsgruppen, die wahrscheinlichste Reihenfolge der Marker innerhalb einer Kopplungsgruppe, sowie die genetische Distanz zwischen den Markern einer Gruppe wird über die Rekombinationshäufigkeit zwischen den Markergenotypen ermittelt. Die Berechnung von genetischen Karten erfolgt mit Computerprogrammen wie z.B. MAPMAKER (Lander et al. 1987). In solchen Programmen wird die Wahrscheinlichkeit einer freien Spaltung bzw. einer Kopplung gegen einen festgelegten Schwellenwert (LOD, logarithm of odds) getestet. Die ermittelte Rekombinationsfrequenz zwischen den Markern wird über eine mathematische Formel z.B. der Haldane Funktion (Haldane 1919) in eine genetische Distanz (centi Morgan, cM) zwischen den Markern transformiert.

Da die Wahrscheinlichkeit für Rekombinationsereignisse entlang eines Chromosoms variiert, besteht zwischen der genetischen Distanz und der physikalischen Distanz kein direkter Zusammenhang. Dies wurde für den Weizen beispielsweise für die homöologen Chromosomen der Gruppe 7 gezeigt (Hohmann et al. 1994).

Das Genom des allohexaploiden Kulturweizens (*Triticum aestivum* L.,  $2n = 6x = 42$ ) setzt sich aus den zueinander homöologen Genomen A, B und D zusammen. Im haploiden Zustand umfasst das Weizengenom ca.  $1,7 \times 10^{10}$  Basenpaare (Arumuganathan und Earle 1991). Das vergleichsweise große Weizengenom ist über die Polyploidisierung und häufige Duplikationsereignisse entstanden, wobei über 80% des Genoms aus nichtcodierenden, repetitiven DNA-Sequenzen besteht. Die relative junge Geschichte des Saatweizens und die häufigen Verwendung verwandten Materials bei der Kreuzungszüchtung zusammen mit den Eigenschaften des hexaploiden Genoms sorgen für einen niedrigen Polymorphiegrad bei DNA-Markern und bereiten bei der Entwicklung und Kartierung von molekularen Markern Probleme (Chao et al. 1989, Hart und Gale 1990).

Die ersten genetischen Karten der homöologen Chromosomen des Weizens wurden mit RFLP-Markern (restriction fragment length polymorphism) entwickelt (Chao et al. 1989, Anderson et al. 1992, Devos et al. 1992, Devos et al. 1993, Nelson et al. 1995, Marino et al. 1996). Allerdings ist die Kartierung mit RFLP-Markern sehr zeit- und arbeitsintensiv.

Im Zusammenhang mit der PCR-Technik (**p**olymerase **c**hain **r**eaction) wurden neue Methoden zur Amplifikation von DNA-Markern entwickelt, welche auch beim Weizen einen relativ hohen Polymorphiegrad aufweisen, reproduzierbar und leicht durchführbar sind. Die PCR bewirkt mit Hilfe einer hitzestabilen Polymerase und kurzen Oligonukleotiden (Primern) die selektive Amplifikation eines DNA-Abschnitts. Dies wird über die zyklisch wiederholten Teilschritte Denaturierung, Annealing und Extension erreicht und führt theoretisch zu einer exponentiellen Akkumulation des gewünschten DNA-Abschnitts um das  $2^n$ -Fache ( $n$ = Anzahl der Zyklen). Ein wichtiger Aspekt dieser Methode ist die Tatsache, dass schon wenige Nanogramm DNA zu Beginn der PCR ausreichen (Saiki et al. 1985).

Der Einsatz von PCR-gestützten Markern hat die Entwicklung von genetischen Karten in den letzten Jahren dramatisch beschleunigt. Eine der ersten Mikrosatelliten-Karten des Weizens wurde von Röder et al. (1998) veröffentlicht. Häufig werden bei der Entwicklung von genetischen Karten verschiedene Markertechniken kombiniert. Eine Übersicht über die Entwicklung genetischer Karten des Weizens und die Lokalisierung verschiedener Gene in diesen Karten ist bei Gupta et al. (1999) nachzulesen. In der Datenbank von GrainGenes (<http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/maps.shtml>) werden die Informationen von genetischen Karten gesammelt und der Öffentlichkeit leicht zugänglich gemacht.

In dieser Arbeit wurden zwei PCR-gestützte Markertechniken, AFLP- und Mikrosatelliten-Marker, zur Entwicklung genetischer Karten verwendet, welche im Folgenden näher beschrieben werden.

### 1.3.1 AFLPs

Die AFLP-Methode (**a**mplified **f**ragment **l**ength **p**olymorphisms) wurde Anfang der 1990er Jahre von Zabeau und Vos (1993) entwickelt. Ein großer Vorteil dieser Markertechnik ist, dass über die simultane Amplifikation von Restriktionsfragmenten eine große Anzahl Marker generiert wird, ohne dass eine Zielsequenz bekannt sein muss (Zabeau und Vos 1993, Vos et al. 1995). Die AFLP-Methode besteht aus drei Teilschritten: 1) Restriktion und Ligation, 2) selektive Fragment-Amplifikation, 3) Gelanalyse der amplifizierten Fragmente. Durch einen zusätzlichen Schritt, die präselektive Amplifikation, können AFLPs auch bei Arten mit einem komplexen und sehr großen Genom, wie dem Weizengenom, eingesetzt werden (Zabeau und Vos 1993, Bai et al. 1999; Hazen et al. 2002).

Durch den Verdau genomischer DNA mit einem selten und einem häufig schneidenden Restriktionsenzym entstehen unterschiedlich große doppelsträngige DNA-Fragmente. Über die Ligation von Adaptoren an die Enden der Restriktionsfragmente werden Zielsequenzen generiert, die als Primerbindungsstelle dienen. Durch den Einsatz entsprechender Primerpaare werden nur Fragmente amplifiziert, welche an einem Ende die Sequenz des selten schneidenden Restriktionsenzym und am anderen Ende die Sequenz des häufig

schneidenden Enzyms besitzen. Die verwendeten Primer können ein bis drei selektive Nukleotide tragen, die in das Restriktionsfragment hineinragen. Liegen auf Ebene der genomischen DNA bei verschiedenen Genotypen Unterschiede bei den Enzymschnittstellen vor, entstehen nach der Amplifikation der Restriktionsfragmente polymorphe AFLP-Marker. Da AFLPs charakteristisch und heritabel sind, können sie als Grundlage für die Erstellung genetischer Kopplungskarten dienen. Für die Detektion der AFLPs werden die selektiven Primer radioaktiv oder mit einem fluoreszierenden Farbstoff am 5'-Ende markiert. Nach der Auftrennung der amplifizierten Fragmente in einem denaturierenden Polyacrylamidgel können die markierten Fragmente detektiert werden. Polymorphismen werden bei dominanter Auswertung über die An- bzw. Abwesenheit von Banden beobachtet. Nach der Klonierung und Sequenzierung von AFLP-Banden können allelspezifische, diagnostische STS-Marker (**sequence tagged site**) entwickelt werden. Dies wurde beispielsweise von Guo et al. (2003) für AFLP-Marker, die mit einem Fusariumresistenzloci gekoppelt sind, beschrieben.

### 1.3.2 Mikrosatelliten Marker

Mikrosatelliten sind kurze DNA-Sequenzabschnitte, in denen ein bestimmtes Nukleotidmuster von bis zu sechs Basenpaaren mehrfach wiederholt wird (**simple sequence repeats, SSR**). `Simple sequence repeats` kommen in eukaryotischen Organismen häufig vor, sind relativ gleichmäßig über das Genom verteilt und heritabel (Wang et al. 1994). Polymorphismen zwischen verschiedenen Genotypen entstehen durch die variierende Anzahl an Wiederholungen eines Nukleotidmusters. Sind die flankierenden Bereiche eines solchen DNA-Abschnitts bekannt, können die Mikrosatelliten über eine PCR spezifisch amplifiziert werden.

SSR-Marker weisen, verglichen mit anderen molekularen Markern (wie z.B. RFLPs), im hexaploiden Weizen einen hohen Polymorphiegrad auf. SSR-Marker sind locuspezifisch und werden meist codominant vererbt (Gupta et al. 1999). Diese Eigenschaften ermöglichen ihren Einsatz bei der MAS in der Weizenzüchtung.

Existierende Weizen-Mikrosatellitenkarten wie von Röder et al. (1998) ermöglichen die Zuordnung von SSR-Markern zu den Chromosomen des Weizens. Mittlerweile ist eine große Anzahl von SSR-Markern verfügbar (Bryan et al. 1997, Stephenson et al. 1998, Pestsova et al. 2000, Eujayl et al. 2002, Holton et al. 2002, Gupta et al. 2002, Gao et al. 2004, GrainGenes database <http://wheat.pw.usda.gov>).

## 1.4 QTL-Analysen

Bei Getreide werden Merkmale, wie Ertrag, Qualität und viele Krankheitsresistenzen quantitativ ausgeprägt. Phänotypisch zeigen quantitative Merkmale eine kontinuierliche Variation innerhalb einer spaltenden Population. Ein solches Merkmal wird durch mehrere Loci kontrolliert, wobei einzelne Loci nur einen Teil zur Ausprägung des Merkmals beitragen. Diese Loci werden als QTL (**q**uantitative **t**rait **l**oci) bezeichnet. Die Genotypisierung einer spaltenden Population und die phänotypische Charakterisierung des Zielmerkmals ermöglicht die Identifizierung der QTLs. Mit Hilfe von QTL-Analysen kann darüber hinaus der Beitrag einzelner QTLs an der gesamten phänotypischen Ausprägung des Zielmerkmals geschätzt werden. In der Literatur werden verschiedene Methoden zur Identifizierung von QTLs beschrieben. Grundsätzlich werden bei allen Methoden die spaltenden Markerdaten einer Population über statistische Verfahren mit der phänotypischen Varianz des Zielmerkmals innerhalb dieser Population verglichen.

Aufgrund der Informationen einzelner Marker kann über Varianzanalysen oder lineare Regressionsanalysen getestet werden, ob ein Markergenotyp einen signifikanten Zusammenhang mit den phänotypischen Daten aufweist. Bei diesen Analysen können Parameter eingeführt werden, welche die Rekombinationsfrequenz zwischen Marker und potentiell QTL berücksichtigen (Soller et al. 1976).

Bei der Intervallanalyse werden benachbarte Marker paarweise auf genetische Effekte mit Auswirkungen auf die phänotypische Ausprägung eines Merkmals getestet (**s**imple **i**nterval **m**apping, SIM). Ein statistisches Verfahren (Maximum Likelihood) für die Untersuchung von Markerintervallen wurde von Lander und Botstein (1989) beschrieben. Die Wahrscheinlichkeit für die Präsenz eines QTLs wird gegen die Hypothese, dass kein QTL in einem Markerintervall vorhanden ist, getestet. Die Signifikanz für die Präsenz eines QTL wird basierend auf den Daten der flankierenden Marker gegen einen LOD-Schwellenwert getestet. Von einer ähnlichen Methode der Intervallanalyse basierend auf Regressionsanalysen mit flankierenden Markern wurde von Haley und Knott (1992) berichtet. Die Identifizierung eines QTL in einem Markerintervall erfolgt aufgrund der erklärten Varianz der Regression zwischen den Markern und den phänotypischen Daten. Die Signifikanz für diese Regression wird über eine einfache F-Statistik ermittelt. Beim **composite interval mapping** (CIM) wird über die Einführung von Markern als Cofaktoren in die Regressionsanalyse der genetische Hintergrund einer Population mit einbezogen, da die Marker einer genetischen Karte berücksichtigt werden. Diese Methode steigert die Präzision der QTL-Kartierung, es können Interaktionen zwischen QTLs geschätzt werden und die Detektion von QTLs mit kleinen Effekten wird ermöglicht (Zeng 1994). Häufig sind die Marker einer genetischen Karte nicht gleichmäßig über das Genom verteilt und es können Marker-Cluster entstehen. Sehr eng gekoppelte Marker in einer Region können dazu führen, dass auch ungeeignete

Marker bei der multiplen Regression verwendet werden, womit das Risiko falsch-positive QTLs zu detektieren steigt bzw. der Effekt der identifizierten QTLs auf die phänotypische Varianz überschätzt wird (Zeng 1994).

Das Computerprogramm PLABQTL (Utz und Melchinger 1995) führt zur Bestimmung geeigneter Marker als Cofaktoren vor der eigentlichen QTL-Analyse eine stufenweise Regression für alle Marker der genetischen Karte mit den phänotypischen Daten durch. Marker werden dabei aufgrund ihrer relativen Bedeutung für die Regression mit den phänotypischen Beobachtungen als Cofaktoren ausgewählt oder abgelehnt. Ob die Aufnahme eines Markers in die Regressionsgleichung zu einer signifikanten Erhöhung der erklärten Varianz führt, wird gegen einen Schwellenwert (F-to-Enter) getestet. Über einen partiellen F-Test für jeden Marker ermittelt das Programm, ob ein Marker den vorgegebenen Schwellenwert überschreitet. Nach Festlegung der Cofaktoren werden die individuellen Effekte der identifizierten QTLs in einer multiplen Regressionsanalyse berechnet.

Das zuverlässige Kartieren von QTLs ist von verschiedenen Faktoren, wie der Qualität der genetischen Karte, der Populationsgröße und der Heritabilität des Zielmerkmals abhängig (Asins 2002).

Für QTL-Analysen stellt sich insbesondere die Frage, bei welchem LOD-Schwellenwert ein QTL als statistisch signifikant betrachtet werden kann (Hackett et al. 2002). Eine allgemein gültige Aussage ist schwierig, da auch die Festlegung eines geeigneten LOD-Schwellenwerts im Zusammenhang mit den oben genannten Faktoren steht. Eine Möglichkeit zur Bestimmung eines empirischen LOD-Schwellenwerts ist die Durchführung eines Permutationstests (Churchill und Doerge 1994).

Auch die notwendige Populationsgröße zur Identifizierung von QTLs mit geringen Effekten, sowie für eine „realistische“ Einschätzung der QTL-Effekte wird diskutiert. Melchinger et al. (1998) haben in vergleichenden Studien festgestellt, dass bei Populationen mit einer geringen Linienanzahl QTLs mit kleinen Effekten möglicherweise nicht detektiert werden. Zusätzlich wird die erklärte phänotypische Varianz der identifizierten QTLs in kleinen Populationen häufig überschätzt. Eine zuverlässigere Einschätzung der QTL-Effekte soll die Option `five-fold cross-validation` von PLABQTL ermöglichen (Utz und Melchinger 2000).

Ein wichtiger Aspekt bei QTL-Analysen ist die Art der Population im Zusammenhang mit den verwendeten Markern zur Genotypisierung der Linien. Klahr et al. (2004) haben Resistenz-QTLs gegen Ährenfusarien in einer spaltenden Cansas/Ritmo-Population bestehend aus rekombinanten Inzuchtlinien (recombinant inbred lines, RILs) in der F<sub>4</sub>-Generation kartiert. Vergleichende QTL-Analysen basierend auf unterschiedlichen Markerinformationen ergaben, dass bei einer dominanten Auswertung der Marker weniger QTLs mit einer geringeren erklärten phänotypischen Varianz detektiert werden als bei codominanter Auswertung der



Marker. Da in dieser Population noch 12,5% der Linien heterozygot für spaltenden Loci waren, konnten bei den QTL-Analysen mit dominanten Markern nicht die gesamte genetische Information dieser Linien berücksichtigt werden.

Die Kartierung von QTLs, sowie die Einschätzung der QTL-Effekte ist grundsätzlich zuverlässiger, je höher die Heritabilität des untersuchten Zielmerkmals ist. Die Heritabilität des Zielmerkmals bei der phänotypischen Evaluierung wird umso höher, je kleiner der Versuchsfehler und die Umwelteffekte sind und kann daher über die Methode der phänotypischen Erfassung beeinflusst werden. Bei quantitativen Merkmalen mit einem starken Einfluss der Umweltbedingungen auf die phänotypische Ausprägung, wie bei der Fusariumresistenz, sollte die Evaluierung des Merkmals in möglichst vielen Umwelten nach künstlicher Inokulation erfolgen (siehe Kapitel 1.3.4).

Im Allgemeinen sind die Populationen für experimentelle QTL-Analysen nicht sehr groß. Da mit der Anzahl der Linien einer Population auch die Kosten für die Erstellung einer genetischen Karte und die phänotypische Evaluierung steigen, werden nur selten die theoretisch idealen Bedingungen für QTL-Analysen erreicht. Daher ist eine Verifizierung der Ergebnisse von QTL-Analysen notwendig, um den Wert dieser Ergebnisse für den Einsatz in der Züchtung über eine MAS zu prüfen. Die identifizierten QTLs bzw. die flankierenden Marker, sollten in verschiedenen genetischen Hintergründen validiert und die Effekte der QTLs in nah-isogenen Linien (**near isogenic lines, NILs**) überprüft werden.

### **1.5 Phänotypische Erfassung der Fusariumresistenz**

Für eine zuverlässige visuelle Erfassung der Resistenzeigenschaften gegen Ährenfusarien ist aufgrund des starken Umwelteinflusses auf die Befallsstärke eine künstliche Inokulation in mehreren Umwelten notwendig (Miedaner et al. 2001). Es werden verschiedene Techniken der künstlichen Inokulation beschrieben. Welche Inokulationsmethode verwendet wird, ist abhängig vom Projektziel. Bei allen Methoden ist die Inokulation zum richtigen Zeitpunkt, also während der Weizenblüte, entscheidend.

Die Erfassung der TypII-Resistenz (Ausbreitungsresistenz) wird üblicherweise über die Punktinokulation ermittelt. Mit der Punktinokulation ist eine exklusive Untersuchung der TypII-Resistenz möglich, da die Eindringresistenz (TypI) umgangen wird. Diese Methode führt also zu einer Vereinfachung des komplexen Systems Fusariumresistenz. Es wird nur ein Ährchen je Ähre inokuliert und die Ausbreitung der Fusariumsymptome von dieser Infektionsstelle aus beobachtet. Für die Durchführung der Punktinokulation werden verschiedene Möglichkeiten beschrieben (Van Ginkel et al. 1996; Buerstmayr et al. 2002; Stack et al. 2002).

In Deutschland wurde in Zuchtprogrammen für die Leistungsprüfungen bisher die Sprühinokulation mit einer Konidien suspension verwendet, um eine große Anzahl von Linien

bei vergleichsweise geringem Aufwand evaluieren zu können. Mit dieser Methode wird die relative Schwere des Befalls als Prozent erkrankter Ährchen ermittelt und somit die kombinierte Ausprägung der Typl- und Typll-Resistenz erfasst. Zusätzlich besteht die Möglichkeit die Infektionsrate zu Beginn der Befallsentwicklung als Prozent der Ähren mit Symptomen (‘Incidence’) zu bestimmen, um eine exklusive Einschätzung der Typl-Resistenz zu erhalten.

Bei der Maisstoppelmethode werden mit *Fusarium* infizierte Maispflanzenreste zwischen die Reihen der zu untersuchenden Linien gestreut. Auf diese Weise sollen natürliche Inokulationsbedingungen mit hohem Befallsdruck simuliert werden. Diese Methode wird seit einigen Jahren in den Prüfungen für das amtliche Zulassungsverfahren von der Biologischen Bundesanstalt im Auftrag des Bundessortenamtes verwendet. Auch hier kann eine große Anzahl von Linien evaluiert werden, wobei die Symptomerfassung wie bei der Sprühinokulation erfolgt.

Einen Überblick über die Vor- und Nachteile der verschiedenen Methoden kann bei Rudd et al. (2001), Ruckenbauer et al. (2001) und Dill-Macky (2003) nachgelesen werden.

Eine wichtige Voraussetzung für die Nutzung der visuell erfassten Resistenzeigenschaften in der praktischen Weizenzüchtung ist, dass zwischen dem sichtbaren Ährenbefall und der Toxinbelastung der Körner ein enger Zusammenhang besteht. Untersuchungen von Wosnitza (2000) belegen, dass für den sichtbaren Befall und die Mykotoxinbelastung im Allgemeinen eine gute Korrelation zur Sortenrangreihenfolge und Sorteneinstufung nach der Maisstoppelinokulation besteht. Versuche mit unterschiedlicher Vorfrucht und verschiedenen Bodenbearbeitungsmaßnahmen in den USA von Dill-Macky und Jones (2000) ergaben eine gute Korrelation zwischen dem sichtbaren Befall und der Mykotoxinbelastung. Auch nach Punktinokulation konnte eine Korrelation zwischen dem sichtbaren Befall und der Mykotoxinbelastung nachgewiesen werden (Bai et al. 2001).

### **1.6 Molekulare Kartierung der *Fusarium*resistenz**

Weltweit beschäftigen sich Arbeitsgruppen mit der molekularen Kartierung von potentiellen Resistenzquellen gegenüber Ährenfusarien. Die meisten bisher veröffentlichten Ergebnisse liegen über die molekulare Charakterisierung der *Fusarium*resistenz bei Sommerweizen vor. Der resistente Genotyp Sumai3 aus China oder von Sumai3 abgeleitete Linien wurden als Resistenzdonor für die Entwicklung von verschiedenen Kartierungspopulationen verwendet. Ein wichtiger Resistenz-QTL liegt am distalen Ende des kurzen Schenkels von Chromosom 3B (*Qfhs.ndsu-3BS*). Dieser QTL mit einem großen Effekt auf die Ausbreitungsresistenz (Typll) wurde von mehreren Arbeitsgruppen identifiziert (Bai et al. 1999, Waldron et al. 1999, Gupta et al. 2000, Anderson et al. 2001, El-Badawy 2001, Buerstmayr et al. 2002, Zhou et al. 2002a).

Einer der ersten Berichte über einen Resistenz-QTL auf dem kurzen Schenkel des Chromosoms 3B stammt von Waldron et al. (1999). Sie untersuchten eine Population entwickelt aus einer Kreuzung zwischen Sumai3 und der moderat anfälligen Sorte Stoa. Der QTL auf 3BS erklärte 15% der phänotypischen Varianz für die TyplI-Resistenz und wurde mit *Qfhs.ndsu-3BS* bezeichnet. Neben *Qfhs.ndsu-3BS* identifizierten sie zwei QTLs auf 6BS, sowie zwei Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 2AL und 4BL.

Der Effekt von *Qfhs.ndsu-3BS* auf die TyplI-Resistenz konnte von Anderson et al. (2001) verifiziert werden. Nach Anreicherung der genetischen Karte des Chromosoms 3BS der Sumai3/Stoa-Population mit zusätzlichen SSR-Markern, identifizierten sie einen SSR-Marker, der 42% der phänotypischen Varianz erklärte. Außerdem analysierten sie eine Population von 139 RILs entstanden aus einer Kreuzung zwischen der resistenten Linie ND2603 (Sumai3/Wheaton) und der anfälligen Sorte Butte86. Der Resistenz-QTL auf 3BS erklärte in dieser Population 25% der phänotypischen Varianz. Weitere Resistenz-QTLs wurden in der ND2603/Butte86-Population auf den Chromosomen 3AL, 6AS und 6BS detektiert.

Auch bei molekulargenetischen Untersuchungen des resistenten Genotyps Ning7840 (Aurora/Anhui11/Sumai3) wurde ein Resistenz-QTL gegen Ährenfusarien auf Chromosom 3BS identifiziert. Die QTL-Analysen der Population Ning7840/Clark führten zur Identifizierung von 3 Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 2AS, 2BL und 3BS. Der QTL mit dem größtem Effekt erklärte 53% der phänotypischen Varianz und wurde zunächst dem Chromosom 7BS zugeordnet. Später wurde diese Zuordnung mit Hilfe von SSR-Markern auf Chromosom 3BS korrigiert (Bai et al. 1999, Zhou et al. 2002a). Ein AFLP-Marker, der mit dem QTL auf 3BS gekoppelt war, konnte zu einem codominanten STS-Marker transformiert werden (Guo et al. 2003). Zwei Populationen, entstanden aus Kreuzungen zwischen Ning7840 und der Linie OH542 bzw. der Sorte Freedom, wurden von Gupta et al. (2000) auf ihre Resistenzeigenschaften untersucht. Sie identifizierten in beiden Populationen einen Resistenz-QTL auf Chromosom 3BS. Weiterhin wurden Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 3AS und 5AL (Ning7840/OH542) sowie auf 2AS, 3AL 5AL, 6BS und 7BS (Ning7840/Freedom) identifiziert. El-Badawy (2001) untersuchte eine Population, die aus einer Kreuzung zwischen der resistenten Linie Sgv.NBxMM.Sum3 (Sagvari/Nobeoka Bozu/Mini Mano/Sumai3) mit der anfälligen Sorte Apollo entwickelt wurde. Er identifizierte vier Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 5AS, 3BS, 6BS und 7BS.

Eine Population, entwickelt aus einer Kreuzung zwischen der resistenten Linie CM-82036 (Sumai3/Thornbird-S) und der anfälligen Sorte Remus wurde von Buerstmayr et al. (2002, 2003b) nach Punkt- und Sprühhinokulation untersucht. Nach Punktinokulation konnten drei Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 1B, 3BS (*Qfhs.ndsu-3BS*) und 5A (*Qfhs.ifa-5A*)

identifiziert werden. Die QTLs auf 3BS und 5A erklärten 60% bzw. 11% der phänotypischen Varianz der Ausbreitungsresistenz. Die Evaluierung dieser Population nach Sprühhinokulation bestätigte die Resistenz-QTLs auf 3BS und 5A (Buerstmayr et al. 2003b). Hinsichtlich der kombinierten Typl- und TyplI-Resistenz erklärten die QTLs auf 3BS und 5A 29% und 20% der phänotypischen Varianz. Buerstmayr et al. (2003b) folgerten aus diesen Ergebnissen, dass *Qfhs.ndsu-3BS* mit der TyplI-Resistenz in Verbindung steht, während *Qfhs.ifa-5A* eher einen Effekt auf die Typl-Resistenz ausprägt.

Mit der Entwicklung von Populationen zur Erstellung hochauflösender genetischer Karten („Finemapping“) sowie mit der physikalischen Kartierung der *Qfhs.ndsu-3BS*-Region wurde bereits begonnen. Einige DNA-Marker, die mit diesem QTL eng gekoppelt sind, wurden in verschiedenen genetischen Hintergründen verifiziert (Del Blanco et al. 2003, Liu und Anderson 2003a/b, Yang et al. 2003, Zhou et al. 2003).

Auch die molekulargenetischen Analysen von resistenten Genotypen aus dem chinesischen Genpool, bei denen eine direkte Verbindung mit Sumai3 nicht bekannt ist (Wangshuibai, Huapei57-2, Ning894037) führten neben der Detektion von QTLs mit geringen Effekten zur Identifizierung eines bedeutenden Resistenz-QTLs auf Chromosom 3BS (Gonzalez-Hernandez et al. 2002, Bourdoncle und Ohm 2003, Shen et al. 2003b). Diese Ergebnisse deuten an, dass bei Sommerweizen aus dem asiatischen Genpool generell Loci auf dem kurzen Schenkel von Chromosom 3B lokalisiert sind, die einen Effekt auf die Ausprägung der Fusariumresistenz haben. Ob sich diese Resistenzquellen genetisch bezüglich der Fusariumresistenz von Sumai3 unterscheiden, ist noch nicht eindeutig geklärt. In Studien von Bai et al. (2003), Liu und Anderson (2003a) und McCartney et al. (2004) wurden verschiedene Genotypen mit geringer Anfälligkeit gegen Ährenfusarien mit Hilfe von DNA-Markern auf ihre genetische Diversität untersucht. Es zeigte sich, dass die meisten resistenten Genotypen des asiatischen Genpools die Markerallele von Sumai3 in der *Qfhs.ndsu-3BS*-Region tragen. Unterschiede wurden allerdings zwischen Genotypen aus dem asiatischen, dem südamerikanischen und dem europäischen Genpool festgestellt. Daher wird angenommen, dass Resistenzquellen aus unterschiedlichen Genpools auch verschiedene Resistenzgene besitzen.

Über Resistenzquellen im Sommerweizen, die nicht aus dem asiatischen Genpool stammen, liegen bisher kaum molekulargenetische Informationen vor. Steiner et al. (2004) haben eine Kartierungspopulation aus der Kreuzung zwischen der resistenten brasilianischen Sorte Frontana und der anfälligen deutschen Sorte Remus entwickelt. Die Evaluierung dieser Population nach Punkt- und Sprühhinokulation führte zur Identifizierung eines stabilen QTL für

die TypI-Resistenz auf Chromosom 3A in allen drei Versuchsjahren. Weitere QTLs wurden auf den Chromosomen 1B, 2A, 2B, 3B, 4B, 5A, 6A und 6B identifiziert.

Die bisher vorliegenden Ergebnisse molekulargenetischer Analysen von potentiellen Resistenzquellen gegen Ährenfusarien bei Winterweizen basieren auf unterschiedlichen Resistenzdonoren.

Shen et al. (2003a) untersuchten eine Population entstanden aus der Kreuzung zwischen der resistenten Linie Fundulea 201R mit der anfälligen Sorte Patterson nach Punktinokulation und identifizierten vier Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 1B, 3A, 5A und 3D. Diese vier QTLs erklärten zusammen 33% der phänotypischen Varianz.

Gervais et al. (2003) untersuchten eine Population entwickelt aus der Kreuzung Renan (resistent)/Recital (anfällig) nach Sprühinokulation und identifizierten neun Resistenz-QTLs, von denen drei QTLs in allen drei Versuchsjahren detektiert wurden. Diese drei stabilen QTLs erklärten, abhängig vom Versuchsjahr, zwischen 30% und 45% der phänotypischen Varianz. Einer dieser stabilen QTLs war auf Chromosom 2BS lokalisiert und die beiden anderen auf Chromosom 5A. Eine Colokalisierung der Resistenz-QTLs auf 2BS und 5A mit QTLs für die Wuchshöhe und/oder den Blühzeitpunkt wurde beobachtet. Weitere Resistenz-QTLs, die in einzelnen Umwelten detektiert wurden, befanden sich auf den Chromosomen 2A, 3A, 3B, 5D und 6D.

Paillard et al. (2004) veröffentlichten Ergebnisse der QTL-Analysen mit einer Arina/Forno-Population nach Sprühinokulation. Sie identifizierten für die Mittelwerte über die Umwelten acht Resistenz-QTLs, die zusammen 47% der phänotypischen Varianz erklärten. Drei dieser QTLs auf den Chromosomen 4AL, 5BL und 6DL wurden in vier von sechs Umwelten detektiert. Während bei den QTLs auf 4AL und 6DL die fusariumresistente Sorte Arina der Donor des Resistenzallels war, stammt das positive Allel des QTLs auf 5BL von der anfälligen Sorte Forno. Die QTL-Regionen auf 5BL und 6DL fielen mit QTLs für die Wuchshöhe und/oder den Zeitpunkt des Ährenschiebens zusammen. Weitere QTLs wurden auf den Chromosomen 2AL, 3AL, 3BL, 3DS und 5AL identifiziert.

QTL-Analysen in einer Population entwickelt aus der Kreuzung zwischen der resistenten Sorte Cansas mit der anfälligen Sorte Ritmo wurden von Klahr et al. (2004) nach Evaluierung der Resistenzeigenschaften in sechs Umwelten nach künstlicher Inokulation durchgeführt. Bei codominanter Auswertung der Markerdaten wurden fünf Resistenz-QTLs für die Mittelwerte über alle Umwelten auf den Chromosomen 1D, 1B, 5B, 7A und 7B identifiziert, die gemeinsam 54% der phänotypischen Varianz erklärten. Weitere QTLs wurden in ein oder zwei Umwelten auf den Chromosomen 1A, 3D, 4B, 5A, 5D detektiert.

Nicht nur im Kulturweizen (*Triticum aestivum* L.) wurden potentielle Resistenzquellen gegen Ährenfusariosen molekulargenetisch untersucht. Nach der Evaluierung der Resistenzeigenschaften von Substitutionslinien konnten verschiedene Chromosomen identifiziert werden, die einen Effekt auf die Resistenz hatten. Mentewab et al. (2000) untersuchten 21 Substitutionslinien mit *Triticum macha* Chromosomen im genetischen Hintergrund der fusariumanfälligen Sorte `Hobbit Sib` und prüften diese Linien hinsichtlich ihrer Feldresistenz nach Sprühinokulation. Für die Chromosomen 1B, 4A und 7A konnte ein Zusammenhang mit der Fusariumresistenz festgestellt werden. Stack et al. (2002) identifizierten eine moderat resistente Substitutionslinie mit dem Chromosom 3A von *Triticum dicoccoides*. Otto et al. (2002) entwickelten daraufhin aus dieser Substitutionslinie eine Population von 83 RILs zur Erstellung einer genetischen Karte. Sie identifizierten einen Resistenz-QTL auf dem kurzen Schenkel von 3A, der 37% der phänotypischen Varianz erklärte. Shen et al. (2004) analysierten 19 Chinese Spring –*Lophopyrum elongatum* Substitutionslinien auf ihre Resistenzeigenschaften nach Sprühinokulation. Mit Hilfe von SSR-Markern konnte ein Zusammenhang zwischen den Substitutionslinien mit den Chromosomen 7A, 7B und 7D und der Fusariumresistenz festgestellt werden.

Bei den hier vorgestellten Ergebnissen wurde unterschiedliches Pflanzenmaterial bzw. unterschiedliche Populationen mit teilweise verschiedenen Evaluierungsmethoden untersucht. Basierend auf diesen Analysen wurde für alle Chromosomen des Weizens mit Ausnahme von 4D ein Zusammenhang mit der Resistenz gegenüber Ährenfusariosen festgestellt.

### **1.7 Zielsetzungen dieser Arbeit**

Da auch innerhalb des europäischen Sortiments Variation hinsichtlich der Fusariumresistenz vorhanden ist, werden verstärkt europäische Genotypen bzw. Sorten molekulargenetisch analysiert. Die Identifizierung von neuen Resistenzgenloci in europäischem Zuchtmaterial würde einerseits die Züchtung von resistenten Sorten erleichtern und außerdem eine Kombination mit Resistenzgenloci aus exotischem Material ermöglichen.

Diese Arbeit ist Teil eines EUREKA-Projektes mit der Zielsetzung, durch den Einsatz optimierter Markertechniken die Selektion auf Resistenz gegen Ährenfusarien effizienter zu gestalten.

Die Zielsetzung dieser Arbeit war die molekulargenetische und phänotypische Charakterisierung von Resistenzeigenschaften gegenüber Ährenfusarien in adaptierten Winterweizen-Populationen. Im Weizengenom lokalisierte QTLs mit einem stark ausgeprägten Effekt auf die Fusariumresistenz, die stabil in mehreren Umwelten detektiert

werden können, sollen auf ihren möglichen Nutzen in der Züchtung über den Einsatz einer markergestützten Selektion untersucht werden.

Parallel zur QTL-Kartierung wurde im Rahmen des EUREKA-Projektes mit den Resistenzdonoren Dream und G16-92 eine unabhängige Population für ein rekurrentes Selektionsprogramm entwickelt. Diese Population wurde in der vorliegenden Arbeit zur Validierung von DNA-Markern, die mit bedeutenden Resistenz-QTLs gekoppelt sind bzw. zur Verifizierung dieser QTLs verwendet. Basierend auf den Ergebnissen dieser Arbeit wird das EUREKA-Projekt im Winterweizen fortgeführt.

Partner des EUREKA-Projektes:

- Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 8, 85354 Freising, <http://www.lfl.bayern.de/>
- Lochow-Petkus GmbH, Bollersener Weg 5, 29303 Bergen, <http://www.lochow-petkus.de/>
- Landessaatzuchtanstalt, Universität Hohenheim, Fruwirthstraße 21, 70599 Stuttgart, <http://www.uni-hohenheim.de/>
- Universität für Bodenkultur Wien, Department IFA-Tulln, Konrad Lorenz Strasse 20A, 3430 Tulln - Österreich, <http://www.ifa-tulln.boku.ac.at/>

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Entwicklung der Kartierungspopulationen

Eine Population wurde aus der Kreuzung zwischen der deutschen Sorte Dream (Saatzucht Schweiger) mit der britischen Sorte Lynx (Cambridge Plant Breeders) entwickelt. Dream (Disponent/Kronjuwel//Monopol/3/Orestis) ist eine seit 1999 in Deutschland zugelassene Winterweizensorte der Qualitätsgruppe E und wird in der beschreibenden Sortenliste mit einer Fusariumresistenz der Ausprägungsstufe 3 (Anonymus 2002) geführt. Lynx (CWW-4442-64/Rendezvous) ist eine 1992 in England zugelassene und fusariumanfällige Halbzwegsorte. Die Kreuzungseltern Dream und Lynx unterscheiden sich neben ihren Resistenzeigenschaften gegen Ährenfusarien, in der Wuchshöhe, dem Zeitpunkt des Ährenschiebens und der Morphologie der Ähren.

Die zweite Population ist aus der Kreuzung zwischen dem moderat resistenten Zuchtstamm G16-92 und der anfälligen Sorte Hussar entstanden. Die Linie G16-92 wurde am Institut für Resistenzgenetik der Bundesanstalt für Züchtungsforschung in Grünbach entwickelt (Dr. H. Walther). Die Eltern von G16-92 sind Arina, Cariplus (Caribo/lbis) sowie ein Weihenstephaner Stamm (Töring5/mexikanischer Stamm). Hussar ist eine britische Sorte (Squadron/Rendezvous) entwickelt von Imperial Chemical Industries. Auch G16-92 und Hussar unterscheiden sich in der Wuchshöhe, dem Zeitpunkt des Ährenschiebens und der Morphologie der Ähren.

Die Nachkommen der Kreuzungen Dream/Lynx und G16-92/Hussar wurden ab der  $F_2$  über einen Einkornramsch (single seed descent, SSD) bis zur  $F_{7:8}$  bzw.  $F_{8:9}$  fortgeführt. Auf diese Weise sind 145 bzw. 136 rekombinante Inzuchtlinien (recombinant inbred lines, RILs) mit einem hohen Homozygotiegrad (>98%) entstanden. Die Resistenzdonoren Dream und G16-92 sind an die mitteleuropäischen Klimabedingungen adaptiert. Die Ähren der Kreuzungspartner beider Populationen sind unbegrannt.

Die Populationen wurden in der  $F_3$ -Generation von der Saatzeit Schweiger (Feldkirchen) zur Verfügung gestellt.

### 2.2 Feldversuche

Zur Evaluierung der Resistenzeigenschaften wurden 2001 mit beiden Kartierungspopulationen Feldversuche in zwei Umwelten (Freising, Hohenheim) nach Sprühinokulation durchgeführt. Die Linien wurden als Blockanlage einreihig mit einer Reihenlänge von 1,5m und einem Reihenabstand von 0,2m in einer Wiederholung geprüft. Da der primäre Grund für den Anbau der Populationen die Saatgutvermehrung für die Feldversuche 2002 war, wurde nur ein Drittel der Pflanzen je Linie inokuliert. Bei beiden Populationen konnten einige Linien (13 bei Dream/Lynx, 27 bei G16-92/Hussar) mit schlechtem Aufgang nicht inokuliert werden,



um die Saatgutvermehrung zu gewährleisten. Diese Feldversuche werden daher als Vorversuch betrachtet. Für die erhobenen Daten 2001 wurden die Mittelwerte über die beiden Umwelten gebildet und bei den QTL-Analysen als eine Umwelt behandelt.

Das Hauptaugenmerk bei der Erfassung der spaltenden Merkmale der Kartierungspopulationen lag auf den Feldversuchen 2002. Beide Populationen wurden als Gitteranlage in zwei Wiederholungen in vier Umwelten angebaut (Freising, Hohenheim, Wetze und Wohlde, Abbildung 3). Die RILs der Populationen wurden getrennt voneinander, aber gemeinsam mit den Kreuzungseltern, sowie einigen Vergleichssorten und –Linien zur Komplementierung des Versuchsdesigns angebaut. Die Gitteranlage der Population Dream/Lynx bestand aus 180 Prüfgliedern je Wiederholung und 36 Teilblöcken mit 10 Prüfgliedern je Teilblock. Die Gitteranlage der Population G16-92/Hussar umfasste 160 Prüfglieder je Wiederholung und setzte sich aus 32 Teilblöcken mit 10 Prüfgliedern je Teilblock zusammen. Der Anbau erfolgte zweireihig mit einer Parzellenfläche von etwa 0,6m<sup>2</sup>.

Die Sprühinokulation wurde bei allen Feldversuchen mit einer Konidiensuspension aus zwei mittel bis hoch aggressiven *Fusarium culmorum*-Isolaten (FC33, FC46) durchgeführt. Die Produktion des Inokulums erfolgte an der Landessaatzuchtanstalt Hohenheim nach Miedaner et al. (1996). Die Konidien wurden auf einem MS-Nährmedium auf ihre Keimfähigkeit geprüft und die Konidiensuspension nach Zählung der Konidien mit einer Fuchs-Rosenthal-Kammer auf 500.000 Konidien/ml eingestellt. Die ausgebrachte Suspensionsmenge betrug 100ml pro m<sup>2</sup>. Die Sprühinokulation wurde nicht spezifisch für jede Linie vorgenommen, sondern erfolgte jeweils für die gesamte Population. Die erste Inokulation erfolgte zu einem Zeitpunkt, als sich bei dem überwiegenden Anteil der Linien etwa 50% der Pflanzen in der Blüte befanden. Da bei den Linien innerhalb der Populationen Variation hinsichtlich des Blühzeitpunktes vorhanden war, wurde die Inokulation je nach Umwelt und Entwicklungsstadium der Linien ein- bis zweimal in einem Intervall von 4 bis 6 Tagen wiederholt.

Die Erfassung der Krankheitssymptome erfolgte visuell als Prozent befallener Ährchen. Abhängig von der Befallsentwicklung wurden die Symptome standortspezifisch erstmalig 9 bis 11 Tage nach der letzten Inokulation erfasst. Diese Bonitur wurde in einem Intervall von 3 bis 5 Tagen zweimal wiederholt (Freising 2002 nur zwei Bonituren). Die Wuchshöhe wurde als Distanz vom Boden bis zur Ährenmitte in cm gemessen. Der Zeitpunkt des Ährenschiebens wurde als Anzahl der Tage nach dem 1. Januar bestimmt. Die Ährendichte wurde auf einer Skala von 1 (locker) bis 9 (kompakt) geschätzt.

Der Anbau der Feldversuche, die Inokulation und die Durchführung der Bonituren wurden in Hohenheim von der Landessaatzuchtanstalt Hohenheim, sowie in Wetze und Wohlde von der Lochow-Petkus GmbH durchgeführt.



**Abbildung 3:** Versuchstandorte für die Evaluierung des sichtbaren Befalls

## 2.3 Molekulare Marker

Zur Untersuchung der genetischen Variation der RILs beider Kartierungspopulationen wurden im wesentlichen zwei PCR-gestützte Markertechniken, AFLPs und Mikrosatelliten, verwendet.

### 2.3.1 DNA Extraktion

Für die DNA-Extraktion wurden Blattproben von jungen Weizenpflanzen genommen. Dieses Blattmaterial wurde in einer Vakuum-Gefriertrocknung getrocknet und anschließend in einer Kugelmühle vermahlen. Die Extraktion der genomischen DNA wurde mit der Natriumbisulfit-Methode nach Anderson et al. (1992) mit einigen Modifikationen durchgeführt.

Der Zellaufschluss von jeweils 1g gemahlenem Blattmaterial erfolgte in 20ml Extraktionspuffer unter Zugabe von 3,8g/l Natriumbisulfit und nachfolgender Inkubation bei 65°C für 60min im Wasserbad. Zur Phasentrennung folgte die Zugabe von 10ml Chloroform-Isoamylalkohol (24:1) mit anschließender Zentrifugation (15min bei 5000Upm).

Dieser Vorgang wurde nach Überführung des wässrigen Überstands in neue Reaktionsgefäße wiederholt. Nach erneuter Überführung des wässrigen Überstands erfolgte unter Zugabe von 10µl RNase der RNA-Verdau (30min bei Raumtemperatur). Die Fällung

der genomischen DNA wurde mit 5ml Isopropanol durchgeführt. Nach der Zentrifugation (5min bei 5000Upm) der Suspension wurde das DNA-Pellett in neue Reaktionsgefäße überführt. Anschließend erfolgte die Aufreinigung der DNA in zwei aufeinander folgenden Schritten in 76%igem Ethanol (Waschlösung I und II). Die Waschlösungen wurden nach jedem Reinigungsschritt verworfen. Zur Beseitigung von Ethanolresten wurde die aufgereinigte DNA in einem Vakuum getrocknet und anschließend in TE-Puffer gelöst. Nach Bestimmung der vorliegenden Konzentration auf einem 1%igem Agarosegel mit Hilfe eines *Lamda/HindIII* Standards (Fa. EUROGENTEC, Belgien) erfolgte die Einstellung der DNA-Konzentration auf 50ng/µl.

### 2.3.2 AFLP-Marker

Für die Genotypisierung der RILs und der Kreuzungseltern beider Populationen mit der AFLP-Technik (Vos et al. 1995) wurde die genomische DNA mit zwei Kombinationen von Restriktionsenzymen, *Sse8387I/MseI* und *PstI/MseI*, verdaut. Der Restriktionsverdau, die Adapter-Ligation und die selektive PCR-Amplifikation wurde nach Hartl et al. (1999) mit einigen Modifikationen durchgeführt.

Die Restriktion und Ligation wurden in einem Reaktionsschritt durchgeführt. Die Reaktionslösung von 12,5µl Volumen enthielt 250ng genomische DNA, 3,0 Units des Restriktionsenzym *Sse8387I* oder 2,5 Units *PstI* und 1 Unit des Enzym *MseI*, 2,0pmol *Sse8387I*- bzw. *PstI*-Adapter und 20,0pmol *MseI*-Adapter, 1 Unit T4-Ligase, sowie 1mM ATP, 1x BSA und 1x NEB2-Puffer. Dieser Reaktionsansatz wurde zunächst für 2 Stunden bei 37°C, dann für 8 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend vierfach mit Wasser verdünnt. Für die Präamplifikation der *Sse8387I/MseI* Kombination wurden Primer verwendet, deren Sequenz zu den entsprechenden Adaptoren und den Schnittstellen der Restriktionsenzyme homolog waren. Im Falle der *PstI/MseI* Kombination besaßen die Primer ein selektives Nukleotid. Nach der PCR wurde der Präamplifikationsansatz 1:40 mit Wasser (bidest.) verdünnt.

Für die selektive Amplifizierung wurden 43 *Sse8387I/MseI*-Primerkombinationen mit je zwei selektiven Nukleotiden bzw. 23 *PstI/MseI*-Primerkombinationen mit je drei selektiven Nukleotiden am 3` Ende eingesetzt. Die 5` Enden der *Sse8387I*- und *PstI*-Primer waren bei der selektiven Amplifikation entweder mit Fluorescein oder Cy3 markiert. Nach der PCR wurden die Lösungen 1:1 mit Loading Dye verdünnt und denaturiert.

Die Reaktionslösungen für die PCR hatten ein Volumen von 10µl. In den Lösungen waren bei der Präamplifikation 3,0µl der ligierten Restriktionsfragmente bzw. bei der selektive Amplifikation 3,0µl der Präamplifikate enthalten. Außerdem enthielten die Reaktionslösungen je 0,3µM der entsprechenden Primer, 0,2mM von jedem dNTP, 1,5mM MgCl<sub>2</sub>, 0,5 Units Taq-Polymerase und 1x konzentrierten PCR-Puffer.

PCR-Programm Präamplifikation:

2 min bei 72 °C  
 20 Zyklen: 30 sec bei 94 °C; Denaturierung  
           1 min bei 60 °C; Annealing  
           2 min bei 72 °C; Extension  
 4 °C Lagertemperatur

PCR-Programm selektive Amplifikation:

3 min bei 94 °C; Denaturierung  
 9 Zyklen: 30 sec bei 94 °C; Denaturierung  
           30 sec bei 65 °C (-1 °C/Zyklus); Annealing  
           2 min bei 72 °C; Extension  
 23 Zyklen: 30 sec bei 94 °C; Denaturierung  
           30 sec bei 56 °C; Annealing  
           2 min bei 72 °C; Extension  
 4 °C Lagertemperatur

Restriktionssequenzen der Enzyme:

*Sse8387I*: 5`- CCTGA\_GG  
*PstI*: 5`- CTGCA\_G  
*MseI*: 5`-. AAT\_T

Adapter Sequenzen (für *Sse8387I* und *PstI* identisch):

*Sse8387I*-1 bzw. *PstI*-1: 5`- CTCGTAGACTGCGTACATGCA -3`  
*Sse8387I*-2 bzw. *PstI*-2: 3`- CATCTGACGCATGT -5`  
*MseI*-1: 5`- GACGATGAGTCCTGAG -3`  
*MseI*-2: 3`- TACTCAGGACTCAT -5`

Sequenzen der selektiven Primer

*Sse8387I*-Primer: 5`- GACTGCGTACATGCAGG **NN**  
*PstI*-Primer: 5`- GACTGCGTACATGCAG **NNN**  
*MseI*-Primer: 5`- GAT GAG TCC TGA GTA A **NN(N)**

Primer für die Präamplifikation

*Sse8387I*-00: 5`- GTAGACTGCGTACATGCAG  
*MseI*-00: 5`- GATGAGTCCTGAGTAA

*PstI*-03: 5`- GACTGCGTACATGCA **G\***  
*MseI*-02: 5`- GATGAGTCCTGAGTAA**C**

\* für Pst = selektives Nukleotid

In Tabelle 1 sind die verwendeten Primerkombinationen bei der selektiven Amplifikation aufgeführt.

**Tabelle 1:** Verwendete Primerkombinationen mit den jeweiligen selektiven Basen bei der AFLP-Methode

<b>Sse8387I</b> (NN -3')	<b>MseI</b> (NN -3')	<b>PstI</b> (NNN -3')	<b>MseI</b> (NNN -3')
S12 (AA)	M15 (CA) M19 (GA)		
S14 (AT)	M13 (AG) M16 (CC) M17 (CG) M20 (GC) M21 (GG) M24 (TC)	P66 (GAT)	M49 (CAG) M52 (CCC) M53 (CCG) M55 (CGA) M56 (CGC)
S15 (CA)	M24 (TC)		
S16 (CC)	M16 (CC) M24 (TC)	P68 (GCC)	M51 (CCA) M52 (CCC) M53 (CCG) M56 (CGC)
S17 (CG)	M16 (CC)		
S18 (CT)	M12 (AC) M15 (CA) M18 (CT) M22 (GT) M24 (TC) M25 (TG)		
S19 (GA)	M16 (CC)		
S20 (GC)	M19 (GA) M20 (GC)	P72 (GGC) P73 (GGG)	M59 (CTA) M60 (CTC) M60 (CTC)
S22 (GT)	M12 (AC) M14 (AT) M25 (TG)	P74 (GGT)	M52 (CCC) M53 (CCG)
S23 (TA)	M17 (CG) M20 (GC) M21 (GG) M24 (TC) M25 (TG)	P75 (GTA)	M48 (CAC) M51 (CCA) M53 (CCG) M60 (CTC)
S24 (TC)	M15 (CA) M16 (CC)		
S25 (TG)	M12 (AC) M13 (AG) M15 (CA) M18 (CT) M19 (GA) M20 (GC) M23 (TA) M24 (TC) M26 (TT)	P77 (GTG)	M51 (CCA) M53 (CCG)
S26 (TT)	M12 (AC) M13 (AG) M17 (CG)	P78 (GTT)	M51 (CCA) M55 (CGA) M56 (CGC)

Die Bezeichnung der Primerkombinationen wurde laut Standardliste für AFLP Primer übernommen (<http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/keygeneAFLPs.html>). Die Namen der AFLP-Loci basieren auf der verwendeten Primerkombination, gefolgt von einer Nummer, die der Fragmentgröße in Basenpaaren entspricht. So bezieht sich z.B. die Bezeichnung S25M15\_187 auf ein Fragment von 187 Basenpaaren, das mit der Primerkombination *Sse8387I*- 25 und *MseI*- 15 amplifiziert wurde.

Parallel zur Genotypisierung der RILs wurden auch nulli-tetrasome Linien von Chinese Spring (Sears 1966) mit einem Teil der AFLP-Primerkombinationen untersucht, um einige der AFLP-Loci/Marker den Weizenchromosomen zu zuordnen. Die nulli-tetrasomen Linien wurden von Prof. Zeller zur Verfügung gestellt.

### 2.3.3 SSR-Marker

Basierend auf den Primerinformationen von Röder et al. (1998), Gupta et al. (2002) und der GrainGenes Datenbank (<http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/maps.shtml>) wurden 150 SSR-Marker, die über das gesamte Weizengenom verteilt sind, auf Polymorphie zwischen den Kreuzungseltern getestet. Mit polymorphen SSR-Markern wurden die RILs der Kartierungspopulation genotypisiert. Die unveröffentlichten Primersequenzen für die Marker GWM1011, GWM1027 und GWM1067 wurden freundlicherweise von M. Röder (IPK Gatersleben) zur Verfügung gestellt.

Die Amplifikation der SSRs wurde nach Röder et al. (1998) mit einigen Modifikationen durchgeführt. Die Reaktionslösungen für die PCR hatten ein Volumen von 12,5µl und enthielten 50ng genomische DNA, je 0,3µM Primer, 0,2mM von jedem dNTP, 1,5mM MgCl<sub>2</sub>, 0,5 Units Taq-Polymerase und 1x PCR-Puffer. Die Primer waren am 5` Ende mit Fluorescin markiert oder die Gele wurden bei unmarkierten Primern nach der elektrophoretischen Trennung der Fragmente mit Vistra Green (Amersham, Braunschweig) angefärbt. Nach der Amplifikation wurden der Reaktionslösung 10µl Loading Dye zugeben und diese anschließend denaturiert.

#### PCR-Programm für die Amplifikation von Mikrosatelliten

3 min bei 94 °C; Denaturierung

35 Zyklen: 1 min bei 94 °C; Denaturierung  
1 min bei 50, 55 oder 60 °C; Annealing  
2 min bei 72 °C; Extension

10 min bei 72 °C; final Extension

4 °C Lagertemperatur

### 2.3.4 STS-Marker

Der STS-Marker IAG95 wurde basierend auf einem RFLP-Marker für die vom Roggen stammenden Mehlauresistenzgene *Pm8/Pm17* des Weizens entwickelt. Mit IAG95 werden DNA-Fragmente amplifiziert, welche diagnostisch für die Weizen-Roggen Translokationen T1AL.1RS und T1BL.1RS sind. Die Amplifikation des IAG95 Markers erfolgte wie bei Mohler et al. (2001) beschrieben.

### 2.3.5 Gelelektrophorese

Alle amplifizierten DNA-Fragmente wurden auf einem 5%igem denaturierendem Polyacrylamidgel elektrophoretisch nach ihren Basenpaargrößen aufgetrennt. Die Fragmenttrennung erfolgte in einer vertikalen Elektrophoresekammer bei einer angelegten Spannung von 1580 V bei 50 W für 1,5 bis 2 Stunden. Die Bestimmung der Fragmentgrößen wurde über einen auf den Gelen mitlaufenden Längenstandard ermittelt. Die Detektion der Fragmente auf den Gelen erfolgte mittels eines Typhoon 9200 Fluoreszenz-Scanners (Amersham, Braunschweig). Die digitalen Bilder der Mikrosatelliten wurden visuell ausgewertet. Die AFLPs wurden zunächst mit Hilfe des Programms AFLP Quantar® 1.0 (Keygene, Wageningen, Niederlande) ausgewertet und visuell überprüft.

## 2.4 Statistische Auswertung

### 2.4.1 Analyse der Feldversuche

Die Analyse der phänotypischen Daten aus den Feldversuchen 2002 wurde zunächst für die jede Umwelt einzeln mit dem Programm PLABSTAT, Version 2P (UTZ 2001) durchgeführt. Die Versuche in den einzelnen Umwelten waren als Gitter in zwei Wiederholungen angelegt. Die Auswertung der Daten mit PLABSTAT über die „Lattice“ Option liefert adjustierte Mittelwerte für jede Umwelt, wobei auftretende Blockeffekte berücksichtigt werden. Basierend auf den adjustierten Mittelwerten wurden die Varianzanalysen über die Umwelten vorgenommen. Die Heritabilität im weiteren Sinne wurde nach Fehr (1987) mit 95%igen Konfidenzintervallen (Knapp und Bridges 1987) berechnet.

Das Programm SAS, Version 8.0 (SAS INSTITUTE 2000) wurde für die Berechnung der Spearman-Korrelationskoeffizienten verwendet. Die Korrelationsanalyse wurden basierend auf den adjustierten Mittelwerten der Umwelten durchgeführt. Regressionsanalysen zwischen einzelnen DNA-Markern und den Felddaten sowie mehrfaktorielle Varianzanalysen wurden mit der Prozedur GLM bzw. mit der Prozedur Mixed vorgenommen.

### 2.4.2 Molekulargenetische Kartierung

Für RILs mit einem hohen Homozygotiegrad ist eine Spaltung der Marker im Verhältnis von 1:1 zu erwarten. Jeder DNA-Marker wurde mittels Chi-Quadrat-Test auf eine gestörte Spaltung überprüft.

Die spaltenden Markerdaten für die Dream/Lynx und die G16-92/Hussar-Population wurden mit MAPMAKER/Exp. 3.0b (Lander et al. 1987) unter Verwendung der Haldane Transformation verrechnet. Für die Gruppierung der Marker wurde ein LOD-Wert von mindestens 3.0 und eine maximale genetische Distanz zwischen den Markern von 35 cM festgelegt. Die

wahrscheinlichste Anordnung der Marker innerhalb einer Kopplungsgruppe wurde mit den Befehlen 'order' und 'compare' (in Ausnahmefällen mit 'ripple' und 'try') ermittelt.

Basierend auf den veröffentlichten Mikrosatelliten-Karten von Röder et al. (1998), Gupta et al. (2002) und der GrainGenes-Datenbank wurde die Zuordnung einiger Kopplungsgruppen zu den Chromosomen des Weizens sowie die Orientierung dieser Gruppen vorgenommen. Einige Gruppen konnten aufgrund der Bandenmuster von AFLP-Markern bei den nullitetrasomen Linien den Chromosomen zugeordnet werden.

### 2.4.3 QTL-Analysen

Die QTL-Analysen wurden mit dem Programm PLABQTL, Version 1.1 (Utz und Melchinger 2000) durchgeführt. Mit PLABQTL können Intervallanalysen basierend auf dem Modell von Haley und Knott (1992), sowohl ohne als auch mit Markern als Cofaktoren durchgeführt werden (Simple Interval Mapping, SIM bzw. Composite Interval Mapping, CIM). Im „Final simultaneous fit“ kalkuliert PLABQTL für alle identifizierten QTLs die erklärte phänotypische Varianz des Gesamtmodells. QTLs, die im Gesamtmodell keinen hoch signifikanten Einfluß ( $p < 0,01$ ) auf die erklärte phänotypische Varianz haben, werden im Ergebnissteil nicht berücksichtigt.

Die Cofaktorauswahl für die CIM-Analysen erfolgte automatisch, wobei die F-to-Enter-Schwellenwerte stufenweise erhöht wurden. Unter Berücksichtigung der SIM-Analysen wurde abhängig von der Population, dem untersuchten Merkmal und der Umwelt ein F-to-Enter-Schwellenwert von 8, 9 oder 10 verwendet.

Basierend auf den Ergebnissen von Permutationstests ( $n = 1000$ ) wurden die LOD-Schwellenwerte festgelegt, bei denen ein QTL als signifikant angenommen wurde. Die Permutationstests der einzelnen Umwelten wurden mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha = 25\%$  und die Tests der Mittelwerte über die Umwelten 2002 mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha = 10\%$  durchgeführt.

Mit der Option `five-fold cross-validation` wurde für die Mittelwerte der Krankheitssymptome über die Umwelten 2002 getestet, ob Stichprobeneffekten (`sampling effects`) einen Einfluß auf die erklärte phänotypische Varianz und die Position identifizierter Resistenz-QTLs haben. In fünf Wiederholungen wird mit einer Subpopulation von 4/5 der Linien eine QTL-Analyse durchgeführt und mit 1/5 der Linien die Einschätzung der erklärten phänotypischen Varianz und der Positionen validiert. Die `five-fold cross-validation` kann so modifiziert werden, dass PLABQTL Analysen mit 1000 voneinander unabhängig ausgewählten Subpopulationen zur Validierung der identifizierten QTLs durchführt.

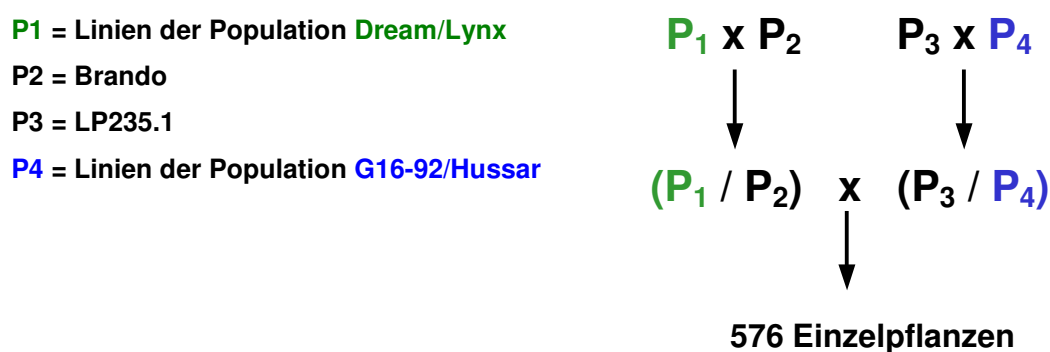
Die Option `smodel` wurde genutzt um festzustellen, ob signifikante epistatische Effekte zwischen den identifizierten QTLs vorliegen.



## 2.5 Markervalidierung

Parallel zu den Kartierungspopulationen wurde für das rekurrente Selektionsprogramm des EUREKA-Projekts eine Population mit einem unabhängigen genetischen Hintergrund entwickelt. In der vorliegenden Arbeit wurde diese unabhängige Population für die Validierung von DNA-Markern verwendet und daher als Validierungspopulation bezeichnet.

Je drei Linien der Kartierungspopulationen wurden nach phänotypischer Beurteilung der Resistenzeigenschaften in der  $F_4$ -Generation des SSD ausgewählt. Die drei Linien der Dream/Lynx-Population wurden zunächst mit der hochanfälligen Sorte Brando gekreuzt und die ausgewählten Linien der Population G16-92/Hussar mit der anfälligen Zuchtlinie LP235.1 (Lochow-Petkus GmbH). Zufällig ausgewählte Nachkommen dieser beiden Kreuzungen wurden anschließend miteinander verkreuzt. Das Schema dieser Vierfach-Kreuzung ist in Abbildung 4 dargestellt.



**Abbildung 4:** Kreuzungsschema für die Entwicklung der Validierungspopulation

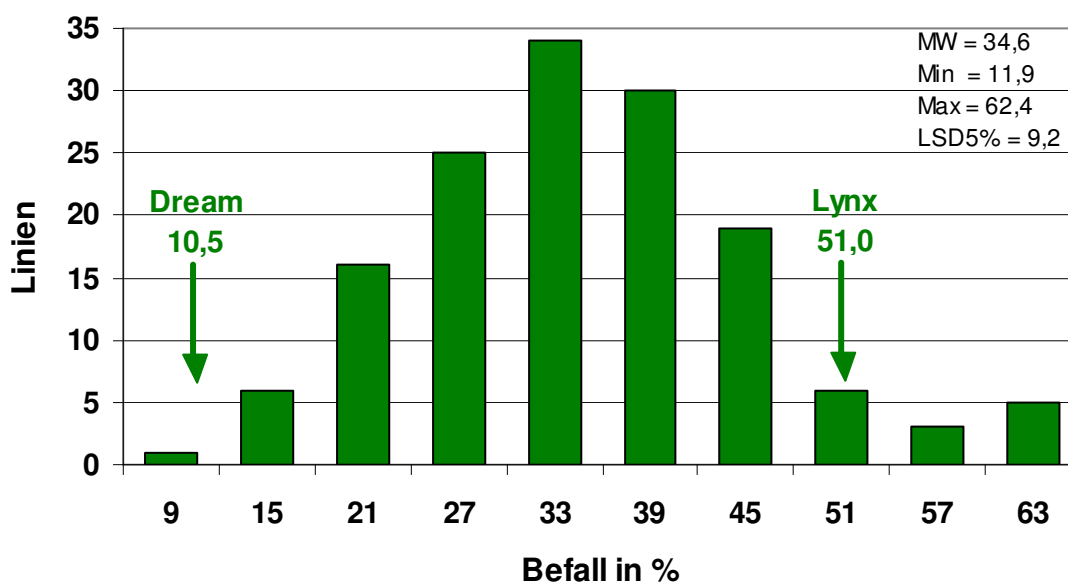
Aus Blattproben der 576 Einzelpflanzen wurde genomische DNA für die Genotypisierung mit den entsprechenden DNA-Markern extrahiert. Die Ähren jeder Pflanze wurden geerntet und das Saatgut für Feldversuche verwendet. Die Entwicklung dieser Population und die DNA-Extraktion wurde von der Lochow-Petkus GmbH (Bergen, Deutschland) durchgeführt.

Die phänotypische Charakterisierung der Validierungspopulation erfolgte in Feldversuchen 2002 nach Sprühhinokulation an den vier Standorten Freising, Hohenheim, Wetze und Wohlde. Die 576 Linien wurden als Gitteranlage in zwei Wiederholungen angebaut. Die Durchführung der Feldversuche und die Erfassung des Fusariumbefalls sowie der Wuchshöhe und des Zeitpunkts des Ährenschiebens wurde von den Partnern des EUREKA-Projektes gemeinschaftlich durchgeführt. Der resultierende Datensatz für die Mittelwerte über die Umwelten wurde von den EUREKA-Partnern für die vorliegende Arbeit zur Verfügung gestellt.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Phänotypisierung der Dream/Lynx-Population

Die Linien der Dream/Lynx-Population zeigten eine kontinuierliche Variation hinsichtlich der erfassten Krankheitssymptome für die Mittelwerte über die Umwelten 2002 (Abbildung 5). Bei den Mittelwerten 2002 zeigte keine Linie weniger Fusariumbefall als der Resistenzdonor Dream, allerdings waren fünf Linien signifikant stärker befallen als der anfällige Kreuzungselter Lynx. Auch bei den Merkmalen Wuchshöhe, Ährendichte und Zeitpunkt des Ährenschiebens war für die Mittelwerte über die Umwelten eine kontinuierliche Variation innerhalb der Population zu beobachten (Daten nicht gezeigt). Die wichtigsten Populationskenngrößen für alle erfassten Merkmale sind in Tabelle 2 zusammengefasst.



**Abbildung 5:** Häufigkeitsverteilung der 145 RILs der Population Dream/Lynx für die Befallsmittelwerte über die vier Umwelten 2002. Die Pfeile markieren die Werte der Kreuzungseltern. Dargestellt sind der Mittelwert (MW) und die Variationsbreite (Min, Max) der Population, sowie die Grenzdifferenz bei 5%iger Irrtumswahrscheinlichkeit (LSD5%).

**Tabelle 2:** Kenngrößen der Population Dream/Lynx und der Kreuzungseltern für die erfassten Merkmale 2002.

Merkmal	Ort	Populationsmittel	Variationsbreite	Dream	Lynx
Fusariumbefall (%)	Freising	30,8	6,1 – 57,9	15,1	41,9
	Hohenheim	33,4	3,5 – 80,6	4,5	53,3
	Wetze	43,8	24,7 – 68,3	15,1	63,3
	Wohlde	30,6	6,4 – 58,4	7,5	45,6
	MW 2002	34,6	11,9 – 62,4	10,5	51,0
Wuchshöhe (cm)	MW 2002	94,7	69,5 – 112,7	99,1	77,1
Ährendichte (1-9)	MW 2002	5,8	2,9 – 8,7	3,3	7,6
Ährenschieben (Tage)	MW 2002	156,3	152,7 – 160,5	158,5	155,8

Die Varianzanalyse für die ermittelten Krankheitssymptome ergab für die Umwelten, die Genotypen und die Genotyp x Umwelt-Interaktion signifikante Varianzen. Die Ergebnisse der Varianzanalysen für alle erfassten Merkmale sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

**Tabelle 3:** Varianzanalyse der 145 RILs der Population Dream/Lynx für den Befall, die Wuchshöhe, Ährendichte und Zeitpunkt des Ährenschiebens. Die Ergebnisse basieren auf den adjustierten Mittelwerten der vier Umwelten 2002.

Varianz- ursache	FG <sup>1</sup>	Fusariumbefall		Wuchshöhe		Ährendichte		Ährenschieben	
		Vk <sup>2</sup>	F-Wert	Vk <sup>2</sup>	F-Wert	Vk <sup>2</sup>	F-Wert	Vk <sup>2</sup>	F-Wert
Umwelten (U)	3	38,5	128,0**	167,4	1101,1**	0,2	21,3**	5,1	828,8**
Genotypen (G)	144	102,3	10,3**	111,3	21,2**	1,0	4,0**	2,4	11,8**
G x U Interaktion	432	33,9	4,4**	16,8	4,2**	0,8	2,3**	0,3	1,6**
Fehler	580	10,0	---	5,3	---	0,6	---	0,6	---

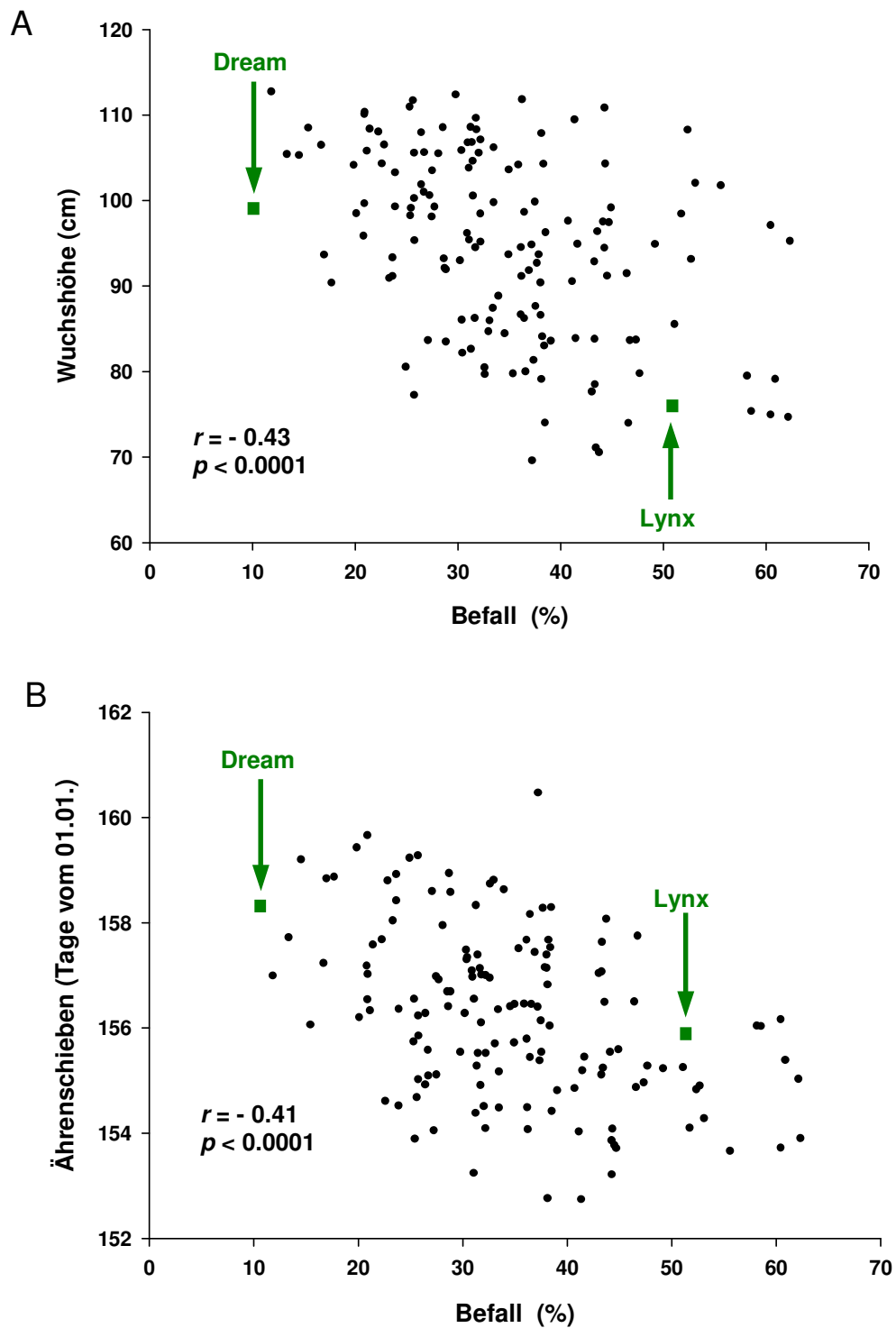
<sup>1</sup>Freiheitsgrade; <sup>2</sup>Varianzkomponente; \*\* $p < 0,0001$

Die Heritabilität im weiteren Sinne war für alle Merkmale hoch:

- Fusariumbefall:  $H^2 = 0,90$  (95%iges Konfidenzintervall = 0,87 - 0,93)
- Wuchshöhe:  $H^2 = 0,95$  (0,94 – 0,96)
- Ährendichte:  $H^2 = 0,75$  (0,67 – 0,81)
- Ährenschieben:  $H^2 = 0,92$  (0,89 – 0,93)

Die Korrelationskoeffizienten für den erfassten Befall zwischen den vier Umwelten 2002 lagen zwischen 0,70 und 0,81 ( $p < 0,0001$ ).

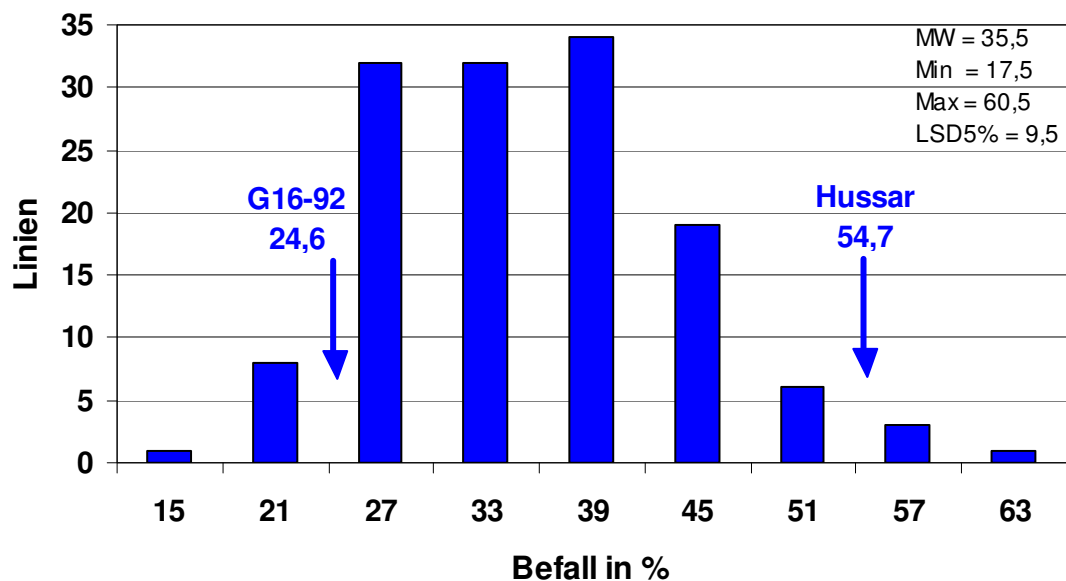
Für die Mittelwerte über die Umwelten ergab sich eine negative Korrelation zwischen dem Befall und der Wuchshöhe ( $r = -0,43$ ;  $p < 0,0001$ ) sowie zwischen dem Befall und dem Zeitpunkt des Ährenschiebens ( $r = -0,41$ ;  $p < 0,0001$ ). Linien mit großer Wuchshöhe und späterem Ährenschieben tendierten zu geringerem Befall. Die Zusammenhänge zwischen dem Befall und der Wuchshöhe bzw. dem Zeitpunkt des Ährenschiebens sind in Abbildung 6 illustriert.



**Abbildung 6:** Scatter-Plots für die 145 RILs der Population Dream/Lynx für den Fusariumbefall und die Wuchshöhe (A) bzw. den Zeitpunkt des Ährenschiebens (B) für die Mittelwerte über die Umwelten 2002. Die Pfeile markieren die Position der Kreuzungseltern.

### 3.2 Phänotypisierung der G16-92/Hussar-Population

Auch die Linien der Population G16-92/Hussar zeigten für die Mittelwerte über die Umwelten 2002 eine kontinuierliche Variation für die Ährensymptome (Abbildung 7). Keine Linie wies einen signifikant geringeren Befall auf als der Resistenzdonor G16-92 bzw. einen signifikant stärker ausgeprägten Befall als der anfällige Elter Hussar. Für die Mittelwerte 2002 der Merkmale Wuchshöhe, Ährendichte und Zeitpunkt des Ährenschiebens konnte ebenfalls eine kontinuierliche Variation beobachtet werden (Daten nicht gezeigt). Die wichtigsten Populationskenngrößen für alle erfassten Merkmale sind in Tabelle 4 zusammengefasst.



**Abbildung 7:** Häufigkeitsverteilung der 136 RILs der Population G16-92/Hussar für die Befallsmittelwerte über die vier Umwelten 2002. Die Pfeile markieren die Werte der Kreuzungseltern. Dargestellt sind der Mittelwert (MW) und die Variationsbreite (Min, Max) der Population, sowie die Grenzdifferenz bei 5%iger Irrtumswahrscheinlichkeit (LSD5%).

**Tabelle 4:** Kenngrößen der Population G16-92/Hussar und der Kreuzungseltern für die erfassten Merkmale 2002.

Merkmal	Ort	Populations-Mittel	Variationsbreite	G16-92	Hussar
Fusariumbefall (%)	Freising	27,8	13,6 – 44,9	19,7	38,6
	Hohenheim	32,1	3,3 – 76,9	16,5	60,5
	Wetze	48,8	31,4 – 76,9	36,9	67,1
	Wohlde	33,3	20,5 – 55,0	25,4	53,1
	MW 2002	35,5	17,5 – 60,5	24,6	54,7
Wuchshöhe (cm)	MW 2002	100,2	75,6 – 121,7	108,8	80,1
Ährendichte (1-9)	MW 2002	5,0	2,1 – 8,3	4,2	5,7
Ährenschieben (Tage)	MW 2002	153,4	148,0 - 156,7	152,9	154,3

Die Varianzanalyse für die ermittelten Krankheitssymptome ergab signifikante Varianzen für die Umwelten, die Genotypen und die Genotyp x Umwelt-Interaktion. Die Ergebnisse der Varianzanalysen für alle erfassten Merkmale sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

**Tabelle 5:** Varianzanalyse der 136 RILs der Population G16-92/Hussar für den Befall, die Wuchshöhe, Ährendichte und Zeitpunkt des Ährenschiebens. Die Ergebnisse basieren auf den adjustierten Mittelwerten der vier Umwelten 2002.

Varianz- ursache	FG <sup>1</sup>	Fusariumbefall		Wuchshöhe		Ährendichte		Ährenschieben	
		Vk <sup>2</sup>	F-Wert	Vk <sup>2</sup>	F-Wert	Vk <sup>2</sup>	F-Wert	Vk <sup>2</sup>	F-Wert
Umwelten (U)	3	84,1	245,6**	146,5	844,6**	0,02	3,7*	4,9	4559,4**
Genotypen (G)	135	61,6	6,3**	111,0	19,8**	1,0	5,2**	2,4	9,0**
G x U Interaktion	405	35,5	4,2**	15,8	3,0**	0,4	1,6**	0,6	2,2**
Fehler	516	11,3	---	7,8	---	0,6	---	0,6	---

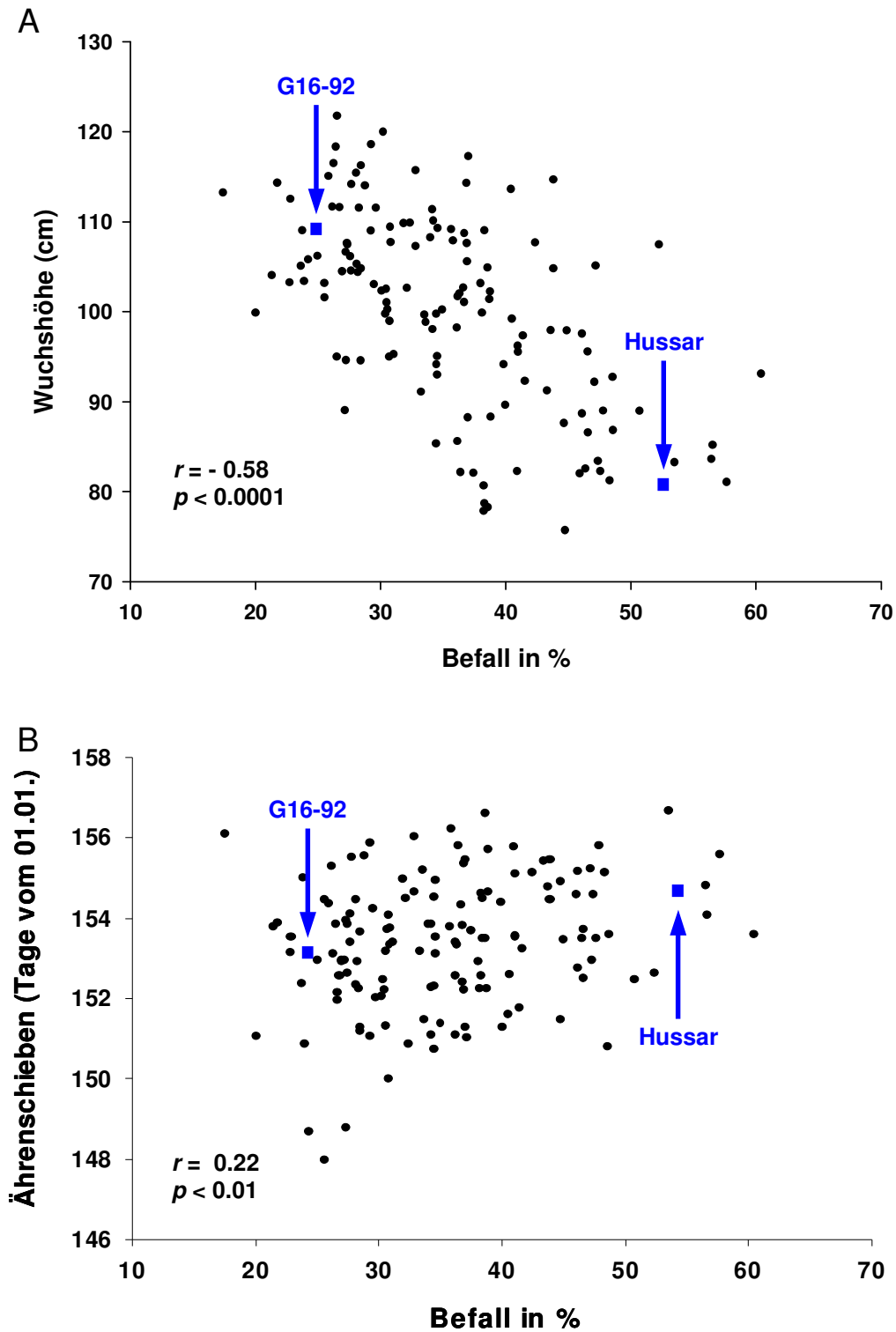
<sup>1</sup>Freiheitsgrade; <sup>2</sup>Varianzkomponente; \* $p < 0,01$ ; \*\* $p < 0,0001$

Die Heritabilität im weiteren Sinne war für alle Merkmale hoch:

- Fusariumbefall:  $H^2 = 0,84$  (95%iges Konfidenzintervall = 0,79 - 0,88)
- Wuchshöhe:  $H^2 = 0,95$  (0,93 – 0,96)
- Ährendichte:  $H^2 = 0,81$  (0,75 – 0,85)
- Ährenschieben:  $H^2 = 0,89$  (0,85 – 0,92)

Die Korrelationskoeffizienten für den erfassten Befall zwischen den vier Umwelten 2002 lagen zwischen 0,60 und 0,71 ( $p < 0,0001$ ).

Für die Mittelwerte über die Umwelten 2002 ergab sich eine signifikante negative Korrelation zwischen dem sichtbarem Befall und der Wuchshöhe ( $r = -0,58$ ;  $p < 0,0001$ ). Zwischen der Befallsbonitur und dem Zeitpunkt des Ährenschiebens konnte in dieser Population eine positive Korrelation festgestellt werden ( $r = 0,22$ ;  $p < 0,01$ ). Linien mit großer Wuchshöhe und frühem Ährenschieben wiesen einen geringeren Befall auf. Der Zusammenhang zwischen und Befall und Wuchshöhe bzw. dem Zeitpunkt des Ährenschiebens ist in Abbildung 8 dargestellt.



**Abbildung 8:** Scatter-Plots für die 136 RILs der Population G16-92/Hussar für den Fusariumbefall und die Wuchshöhe (A) bzw. den Zeitpunkt des Ährenschiebens (B) für die Mittelwerte über die Umwelten 2002. Die Pfeile markieren die Position der Kreuzungseltern.

### 3.3 Genotypisierung der Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar

Von den etwa 150 mit Dream und Lynx getesteten SSR-Markern waren nur 45 polymorph. Der Marker GWM1011 hatte zwei unabhängig spaltende Loci. Die 145 RILs der Population Dream/Lynx wurden mit 617 AFLPs, 45 SSRs und dem STS-Marker IAG95 genotypisiert. Die genetische Karte umfasst 38 Kopplungsgruppen mit insgesamt 476 Markern. Einige Marker verblieben ungekoppelt oder wurden aufgrund nicht klar identifizierbarer Bandenmuster nicht verrechnet. Zu den nicht gekoppelten Markern gehörten die SSR-Marker GWM6 (4BL), GWM44 (7D), GWM52 (3DL), GWM165 (4BL), GWM169 (6AL), GWM174 (5DL), GWM190 (5DS), GWM200 (6AS), GWM205 (5DS), GWM259 (1BL), GWM297 (7B), GWM325 (6DS), GWM469 (6DS) und GWM494 (6A). Sehr eng gekoppelte Marker wurden aus der genetischen Karte entfernt und die QTL-Analysen mit einem Kartengerüst aus 283 Markern durchgeführt. Diese reduzierte Karte umfasste 1690 cM. Mit Hilfe der 31 SSR-Marker in den Kopplungsgruppen und der Analyse der nulli-tetrasomen Linien von Chinese Spring mit AFLP-Markern war die Zuordnung von 29 Gruppen zu den Chromosomen des Weizens möglich. Dem A-Genom wurden 13 Kopplungsgruppen mit 100 Markern, dem B-Genom 11 Kopplungsgruppen mit 98 Markern, dem D-Genom 5 Gruppen mit 21 Markern und neun Kopplungsgruppen mit 64 Markern konnten keinem Chromosom zugeordnet werden. Den Chromosomen 4B, 1D, 4D und 6D konnte keine Kopplungsgruppe zugeordnet werden.

Von den etwa 150 mit G16-92 und Hussar getesteten SSR-Markern waren nur 33 polymorph. Die Marker GWM55, GWM191 und GWM293 hatten je zwei unabhängig spaltende Loci. Die 136 RILs der Population G16-92/Hussar wurden mit 600 AFLPs, 33 SSRs und dem STS Marker IAG95 genotypisiert. In der resultierenden genetischen Karte wurden 518 Marker verrechnet. Zu den nicht gekoppelten Markern gehörten die SSR-Marker GWM44 (7D), GWM52 (3DL), GWM165 (4BL), GWM174 (5DL), GWM190 (5DS), GWM257 (2BS), GWM265 (2AL), GWM325 (6DS), GWM570 (6AL) und Barc107 (6AL). Die genetische Karte für die QTL-Analysen umfasste 2131 cM und bestand aus 314 Markern verteilt auf 42 Kopplungsgruppen, von denen 32 den Chromosomen des Weizens zugeordnet werden konnten. Das A-Genom wurde durch 14 Kopplungsgruppen mit 107 Markern, das B-Genom durch 15 Gruppen mit 136 und das D-Genom durch 3 Gruppen mit 11 Markern repräsentiert. Zehn Kopplungsgruppen mit 60 Markern konnten keinem Chromosom zugeordnet werden. Den Chromosomen 2D, 4D, 6D und 7D konnte keine Kopplungsgruppe zugeordnet werden.

Die genetischen Karten der Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar ähnelten sich in der Verteilung der Marker und Kopplungsgruppen über das Weizengenom. Insgesamt waren



188 DNA-Marker in beiden Populationen polymorph, von denen 90 Marker in den reduzierten Karten für die QTL-Analysen vorlagen.

Bei beiden Populationen war je eine Kopplungsgruppe auf Chromosom 1B vorhanden, in der über 30 Marker eng gekoppelt vorlagen. In diesen Gruppen der entsprechenden Populationen war die Rekombinationsfrequenz sehr gering.

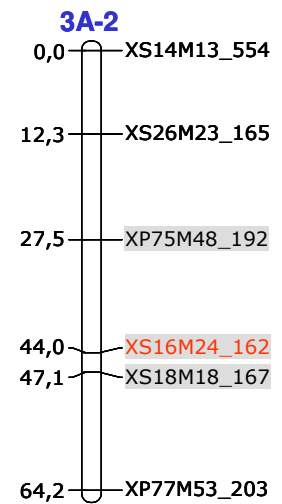
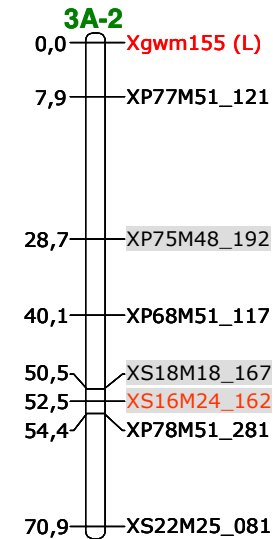
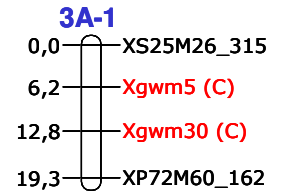
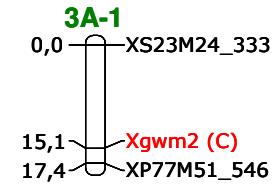
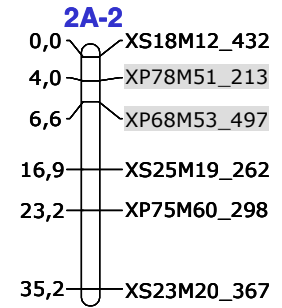
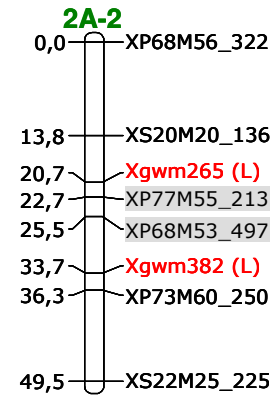
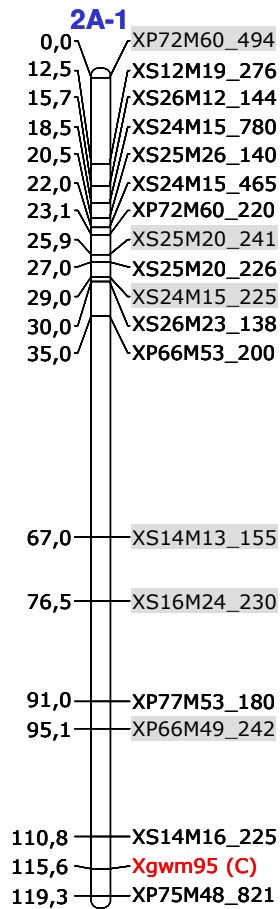
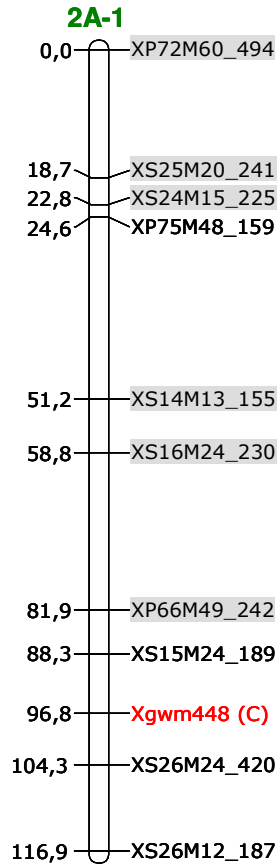
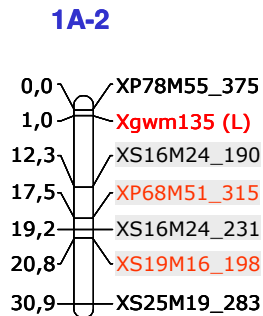
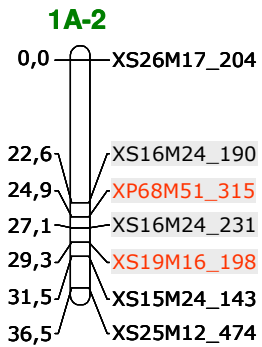
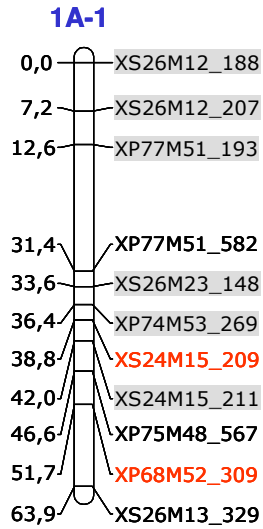
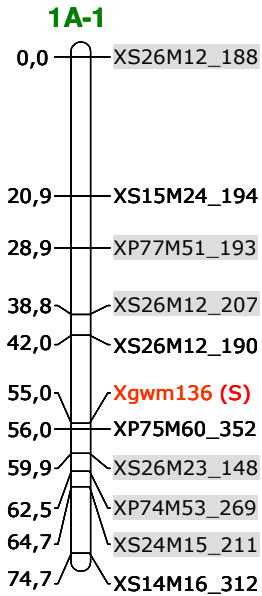
Die Kopplungsgruppe 1B-1 der Population Dream/Lynx bestand aus 39 Marker, von denen 33 AFLPs, der STS-Marker IAG95 und der SSR Marker GWM18 sehr eng miteinander gekoppelt waren. Diese eng gekoppelten Marker umfassten eine Distanz von nur 3,1 cM. Es wurden nur fünf mögliche Rekombinationsereignisse bei vier Linien zwischen diesen 35 Markern identifiziert. Der STS-Marker IAG95 ist diagnostisch für Weizen-Roggen-Translokationen und befand sich am Ende dieser Gruppe. IAG95 war vollständig mit 4 AFLP-Markern gekoppelt. Die Untersuchung der Kreuzungseltern mit dem IAG95-Marker und die Ergebnisse einer Speicherprotein-Elektrophorese (Killerman pers. Mitteilung) ergaben, dass Lynx die 1BL/1RS-Translokation bzw. das *GliR1*-Allel trägt. Die Gruppe der eng gekoppelten Marker zeigten eine signifikante Abweichung von der 1:1 Spaltung. Nur etwa 1/3 der Linien hatte die Translokation. Der SSR-Marker GWM18 ist in der Referenzkarte von Röder et al. (1998) nahe dem Centromer lokalisiert und nicht eindeutig dem langen oder kurzen Schenkel des 1B Chromosoms zugeordnet.

Auch in der G16-92/Hussar-Population befand sich eine Kopplungsgruppe 1B-1 in der 30 AFLPs, der STS-Marker IAG95 und GWM18 miteinander gekoppelt waren. IAG95 wurde auch in dieser Population am Ende der Kopplungsgruppe kartiert. Im Unterschied zur Dream/Lynx-Population war IAG95 hier nicht mit einem anderen Marker vollständig gekoppelt, sondern hatte einen Abstand von 5,6 cM zum nächsten Marker. Die 30 AFLPs sowie GWM18 waren wiederum fast vollständig miteinander gekoppelt. Es konnten nur vier mögliche Rekombinationsereignisse zwischen diesen 31 Markern identifiziert werden. Dieses Marker-Cluster umspannte eine genetischen Distanz von 4,1 cM. Das Bandenmuster von IAG95 unterschied sich bei sechs Linien von den geclusterten Markern. Bei den eng gekoppelten Markern dieser Gruppe war keine signifikante Abweichung von der erwarteten 1:1 Spaltung vorhanden. Der SSR-Marker GWM18, hatte eine Distanz von etwa 8cM zu IAG95. Die Untersuchung der Kreuzungseltern mit dem STS-Marker IAG95 und die Speicherprotein-Elektrophorese (Killerman pers. Mitteilung) ergaben, dass Hussar die 1BL/1RS-Translokation bzw. das *GliR1*-Allel trägt.

Die genetischen Karten beider Populationen, mit denen die QTL-Analysen durchgeführt wurden, sind in Abbildung 9 dargestellt.

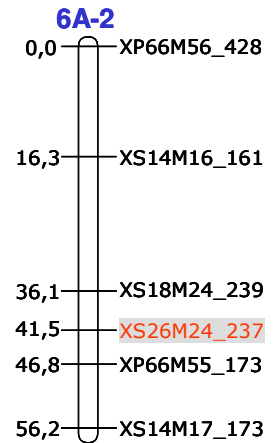
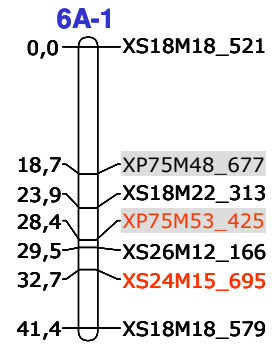
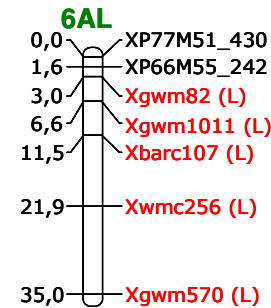
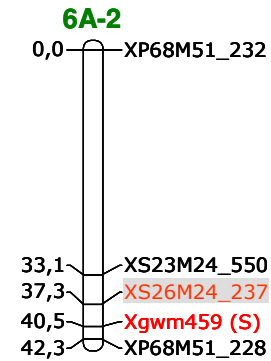
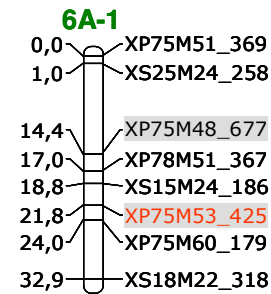
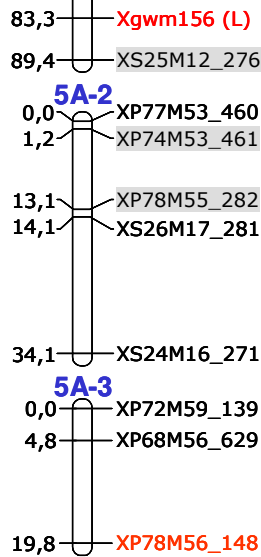
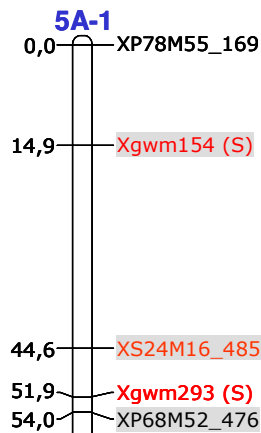
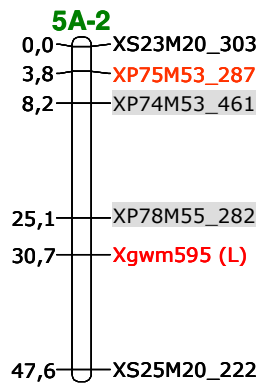
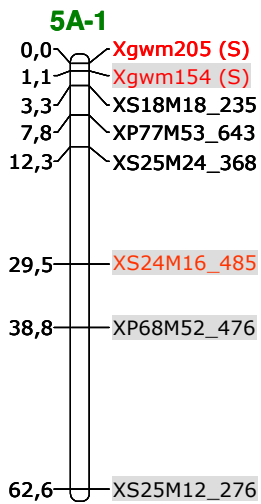
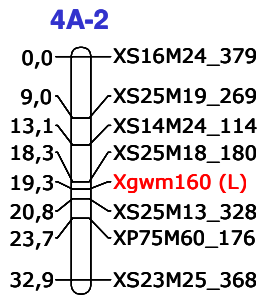
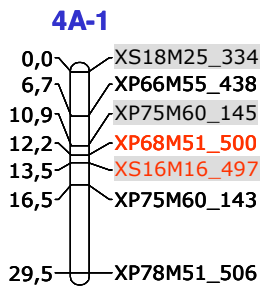
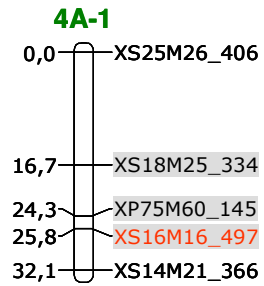
Dream/Lynx

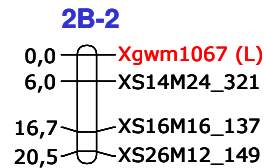
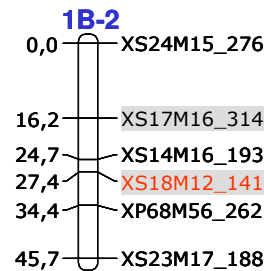
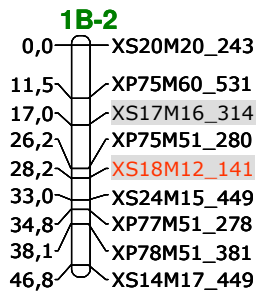
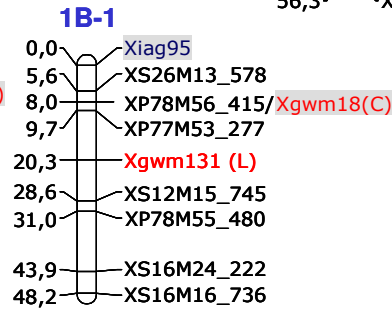
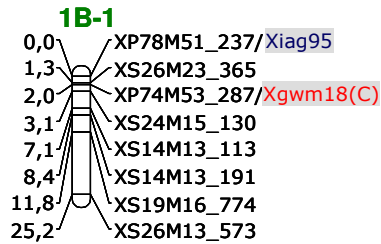
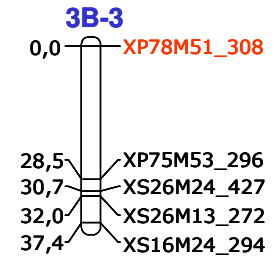
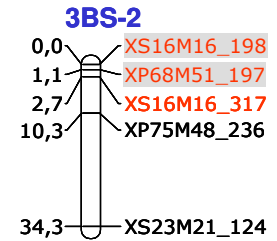
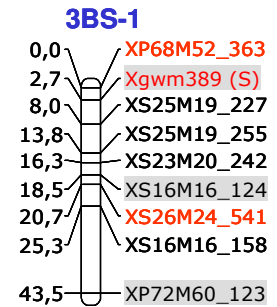
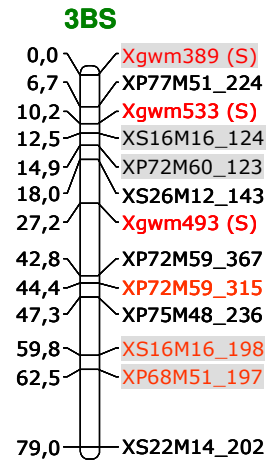
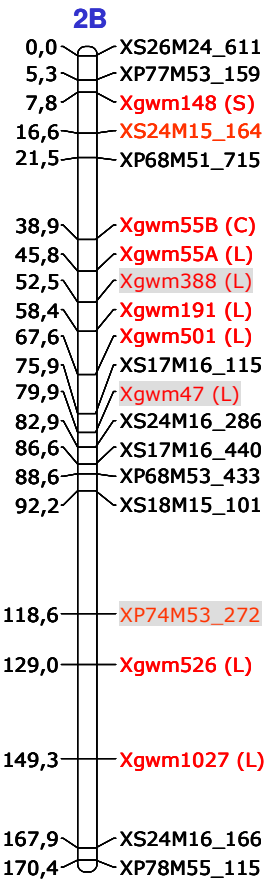
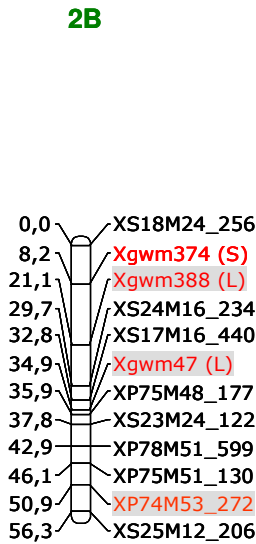
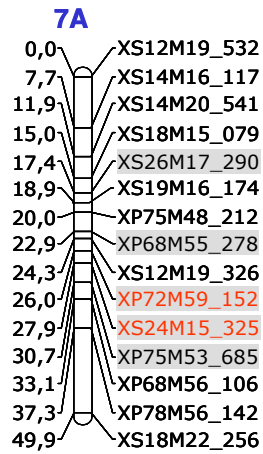
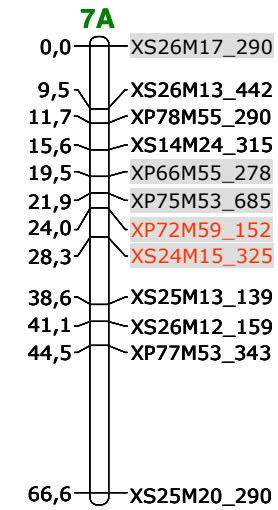
G16-92/Hussar



Dream/Lynx

G16-92/Hussar





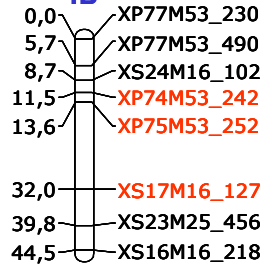
Dream/Lynx

G16-92/Hussar

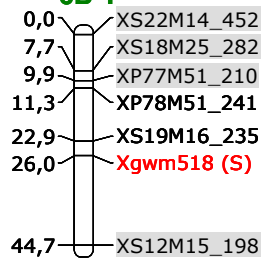
4B

---

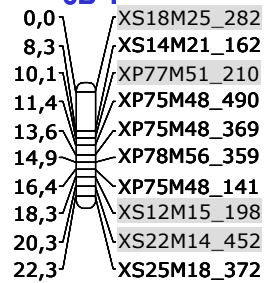
4B



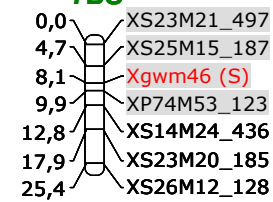
6B-1



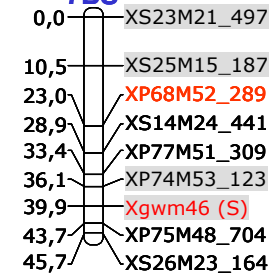
6B-1



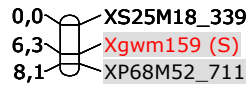
7BS



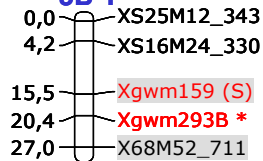
7BS



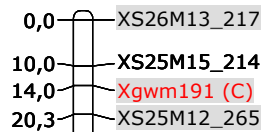
5B-1



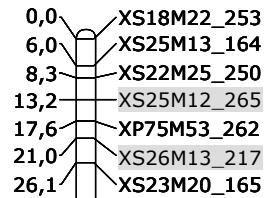
5B-1



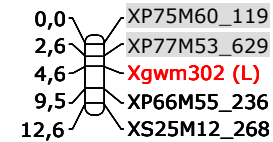
6B-2



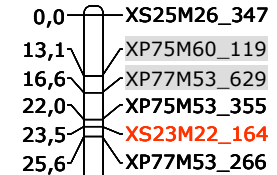
6B-2



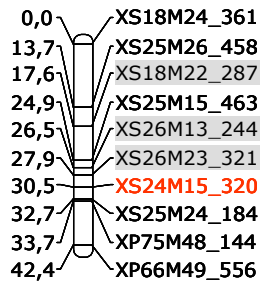
7BL-1



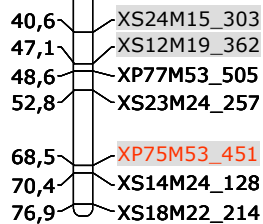
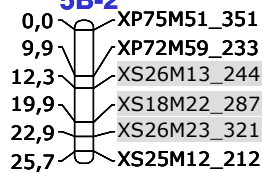
7BL



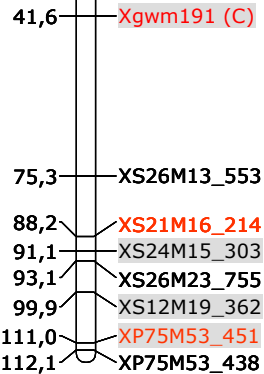
5B-2



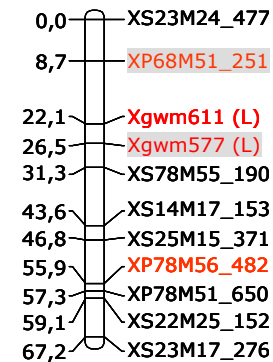
5B-2



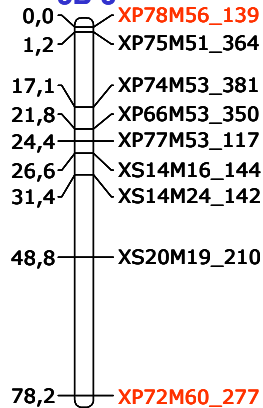
6B-2



7BL-2



5B-3



Dream/Lynx

G16-92/Hussar

1D

---

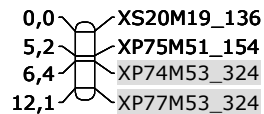
2DS



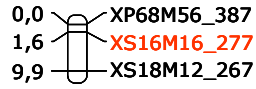
3D-1



3D-2



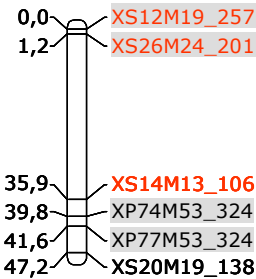
1D



2D

---

3D



4D

---

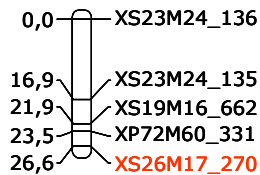
5D



6D

---

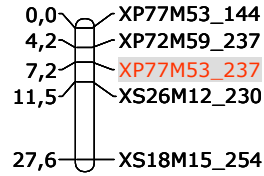
7D



4D

---

5D



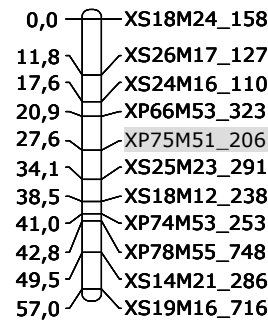
6D

---

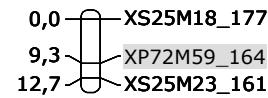
7D

---

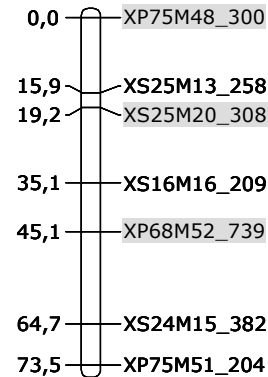
X1



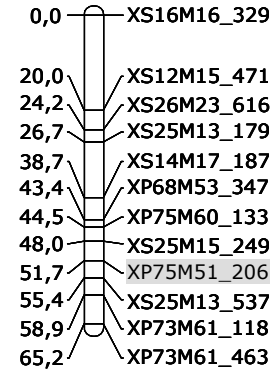
X2



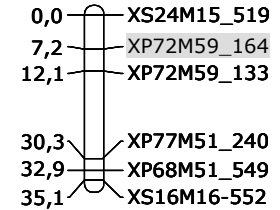
X3



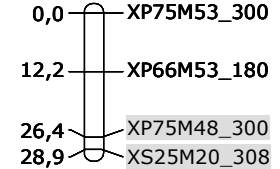
X1



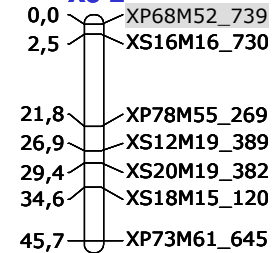
X2



X3-1

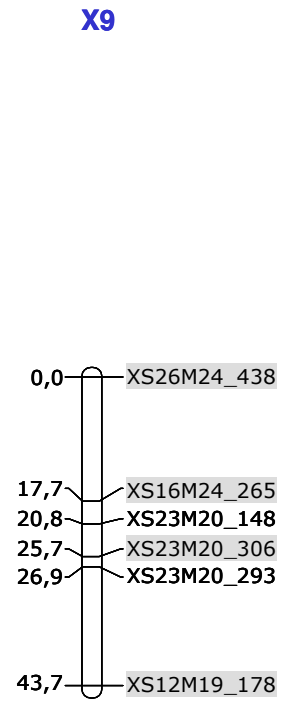
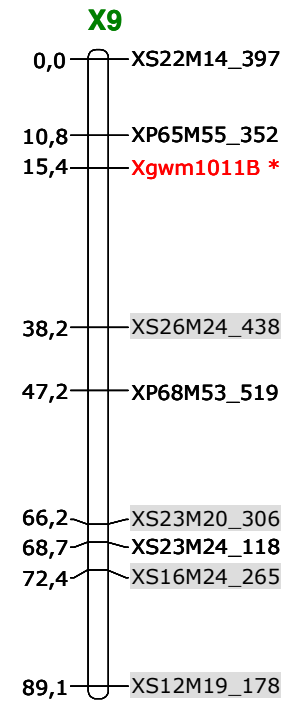
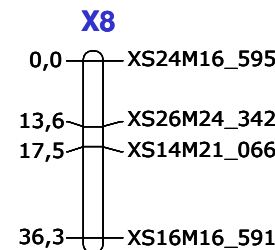
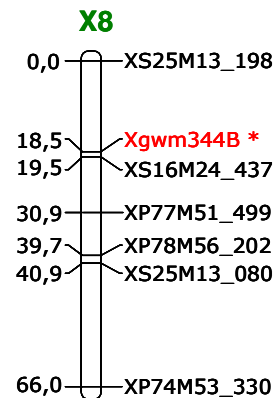
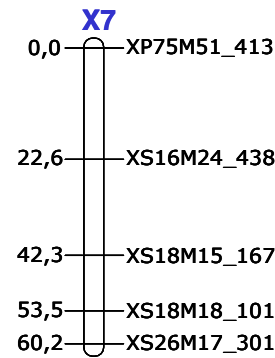
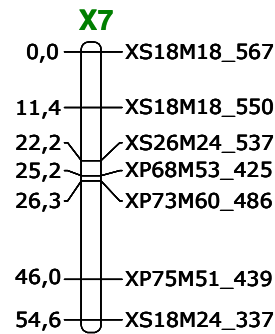
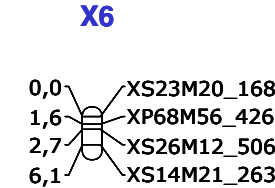
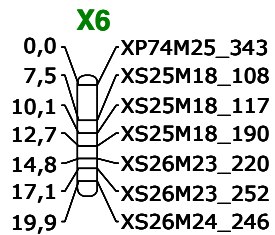
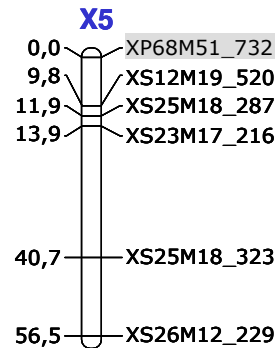
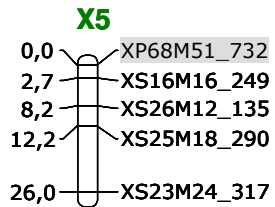
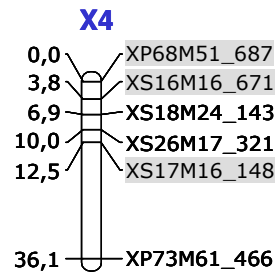
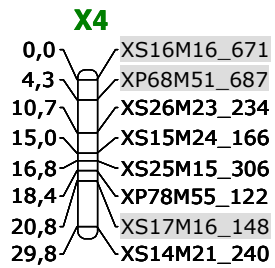


X3-2



Dream/Lynx

G16-92/Hussar



**Abbildung 9:** Die genetischen Karten der Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar. **Grau hinterlegt:** Marker, die in beiden Populationen kartiert wurden; **Rot:** SSR-Marker (S = kurzer Arm, L = langer Arm, C = am Centromer) bzw. AFLP-Marker, die nach der nulli-tetrasomen-Analyse den Chromosomen zugeordnet wurden; \*Markerallele, die nicht in der Referenzkarte kartiert waren.

### 3.4 QTL-Analysen der Dream/Lynx-Population

Für die QTL-Analysen der visuell erfassten Fusariumsymptome mit SIM ergaben die Permutationstests für die Umwelt 2001, sowie für alle Umwelten 2002 einen LOD-Schwellenwert von 2,3. Für den Mittelwert über die Umwelten 2002 ergab sich ein LOD-Schwellenwert von 2,7. Die SIM-Analysen identifizierten für den Befallsmittelwert über die Umwelten 2002 drei Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 6AL, 1B-1 und 7BS. Diese drei QTLs wurden auch in mindestens drei Umwelten des Jahres 2002 detektiert. Für die Daten des Jahres 2001 konnte der QTL auf 7BS detektiert werden. Neben diesen drei stabilen Resistenz-QTLs wurden mittels SIM noch fünf weitere QTLs in einzelnen Umwelten detektiert (Tabelle 6).

Die Permutationstests mit CIM ergaben für die erfassten Krankheitssymptome LOD-Schwellenwerte von 2,4 für die Umwelt 2001, sowie für Freising, Hohenheim und Wohlde 2002 und von 2,3 für Wetzze 2002. Für die Mittelwerte über die Umwelten 2002 ergab sich ein LOD-Schwellenwert von 2,7. Für die Mittelwerte 2002 detektierte die CIM-Analyse vier Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 6AL, 1B-1, 2B und 7BS. Die individuellen QTLs erklärten 16,9%, 14,9%, 10,1% und 17,4% der phänotypischen Varianz. Der QTL der Kopplungsgruppe 2B war auf dem langen Arm des Chromosoms lokalisiert. Die QTLs auf 1B-1 und 2B wurden in drei der vier Umwelten 2002 detektiert. Die QTLs auf 6AL und 7BS wurden in allen vier Umwelten 2002 und 7BS zusätzlich in der Umwelt 2001 identifiziert. Bei den QTLs auf 6AL, 2B, und 7BS war Dream der Donor des Resistenzallels, während der Resistenzeffekt des QTLs auf 1B-1 von Lynx ausgeht. Weitere Resistenz-QTLs wurden in einzelnen und teilweise in zwei Umwelten detektiert (Tabelle 7).

Bei den CIM-Analysen mit automatischer Cofaktorauswahl wurde für die Umwelt 2001, sowie für Freising und Wohlde 2002 der Marker GWM82 der Kopplungsgruppe 6AL ausgewählt. Dieser Cofaktor wurde aufgrund 15 fehlender Datenpunkte manuell durch den AFLP-Marker P66M55\_242 mit einer genetischen Distanz von 1,6cM zu GWM82 ersetzt. Dieser AFLP-Marker wurde auch bei der automatischen Cofaktorauswahl für die Umwelten Hohenheim und Wetzze 2002, sowie für den Mittelwert über die Umwelten 2002 selektiert.



**Tabelle 6:** Mit SIM identifizierte Resistenz-QTLs in der Dream/Lynx-Population. Dargestellt sind das Markerintervall, die chromosomale Lokalisierung (Chr), der Donor des Resistenzallels (Donor), die LOD-Werte (LOD), Prozent der erklärten phänotypischen Varianz ( $R^2\%$ ), das adjustierte  $R^2$  des Gesamtmodells (Adj.  $R^2\%$ ) und die additiven Effekte (Add.) für die Mittelwerte 2002.

Markerintervall	Chr	Donor	2001		Freising		Hohenheim		Wetze		Wohlde		Mittelwerte 2002			
			LOD	$R^2\%$	LOD	$R^2\%$	LOD	$R^2\%$	LOD	$R^2\%$	LOD	$R^2\%$	LOD	$R^2\%$	Add.	
XP75M53_287 -XP74M53_461	5A-2	Lynx	2,9	9,5					2,4	7,3						
XP77M51_430 -XP66M55_242* <sup>1</sup>	6AL	Dream			3,1	9,9	4,5	14,0	3,4	11,4	4,8	15,7	4,7	15,3	4,3	
XP78M51_237 -XS26M23_365	1B-1	Lynx			4,2	12,6	15,5	15,5	5,8	16,8			5,1	15,0	4,4	
XS23M21_497 -XS25M15_187	7BS	Dream	5,5	17,3	4,2	13,0			5,3	15,9	8,0	23,1	5,0	15,1	4,3	
XP66M55_236 -XS25M12_268	7BL-1	Dream	4,6	14,9												
XS22M25_152 -XP78M51_650	7BL-2	Dream									2,8	8,4				
XS24M15_382 -XP75M51_204	X3* <sup>2</sup>	Dream	3,0	9,8												
XS26M24_537 -XP73M60_486	X7* <sup>2</sup>	Lynx							3,3	9,9	2,6	8,0				
Adj. $R^2\%$				28,9		26,2		24,1		40,9		37,5			33,9	

\*<sup>1</sup>QTL-Position bei Freising und Hohenheim im Intervall XP66M55\_242 - Xgwm82; \*<sup>2</sup>Kopplungsgruppen ohne chromosomale Zuordnung

**Tabelle 7:** Mit CIM identifizierte Resistenz-QTLs in der Dream/Lynx-Population. Dargestellt sind das Markerintervall, die chromosomale Lokalisierung (Chr), der Donor des Resistenzallels (Donor), die LOD-Werte (LOD), Prozent der erklärten phänotypischen Varianz ( $R^2\%$ ), das adjustierte  $R^2$  des Gesamtmodells (Adj.  $R^2\%$ ) und die additiven Effekte (Add.) für die Mittelwerte 2002.

Markerintervall	Chr	Donor	2001		Freising		Hohenheim		Wetze		Wohlde		Mittelwerte 2002			
			LOD	$R^2\%$	LOD	$R^2\%$	LOD	$R^2\%$	LOD	$R^2\%$	LOD	$R^2\%$	LOD	$R^2\%$	Add.	
XP68M51_117 -XS18M18_167	3A-2	Lynx	2,6	8,4	3,9	11,5										
XP75M53_287 -XP74M53_461	5A-2	Lynx	4,9	15,5					2,4	7,3						
XP77M51_430 -XP66M55_242* <sup>1</sup>	6AL	Dream			3,8	11,9	5,5	16,7	5,2	15,9	6,9	21,6	5,2	16,9	3,8	
XP78M51_237 -XS26M23_365	1B-1	Lynx			2,8	8,6	4,5	13,4	5,9	17,2			5,0	14,9	3,6	
XP74M53_272 -XS25M12_206	2B	Dream					2,5	7,8	4,8	14,0	2,5	7,7	3,3	10,1	2,9	
XS23M21_497 -XS25M15_187	7BS	Dream	7,6	23,1	6,0	17,8	2,6	8,5	4,8	14,7	6,4	18,9	5,8	17,4	3,9	
XS24M15_382 -XP75M51_204	X3* <sup>2</sup>	Dream	3,5	11,2												
XS26M24_537 -XP73M60_486	X7* <sup>2</sup>	Dream							2,5	7,5	3,0	8,9				
Adj. $R^2\%$				30,2		32,3		31,8		48,2		38,5			39,7	

\*<sup>1</sup> QTL-Position für die Mittelwerte 2002 im Intervall XP77M51\_430 -XP66M55\_242, in den einzelnen Umwelten 2001 und 2002 im Intervall XP66M55\_242 - Xgwm82; \*<sup>2</sup>Kopplungsgruppen ohne chromosomale Zuordnung

Die CIM-Analyse mit der Option `five-fold cross-validation` für die Mittelwerte 2002 bei einem LOD-Schwellenwert von 2,7 bestätigten die vier stabilen QTLs auf den Chromosomen 6AL, 1B-1, 2B und 7BS weitgehend. Bei 93,8% der Validierungssubpopulationen (1/5 der Linien) konnte der QTL auf 6AL in den beiden Markerintervallen der CIM-Analyse mit allen Linien der Population detektiert werden (XP77M51\_430 – XP66M55\_242 oder XP66M55\_242 - Xgwm82). Der QTL auf 1B-1 konnte bei 85,5% der Subpopulationen in demselben Markerintervall wie bei der CIM-Analyse mit allen Linien identifiziert werden (XP78M51\_237 - XS26M23\_365). Der QTL auf dem langen Arm von Chromosom 2B konnte nur bei 42,8% der Subpopulationen im identischen Markerintervall verglichen mit der CIM-Analyse mit allen Linien identifiziert werden (XP74M53\_272 -XS25M12\_206). Bei 93,1% der Subpopulationen wurde der QTL auf 7BS im identischen Markerintervall wie bei der CIM-Analyse mit allen Linien lokalisiert werden. Das Gesamtmodell führte nach der Validierung zu einer erklärten phänotypische Varianz von 27,6%.

QTL-Analysen für die Merkmale Wuchshöhe, Ährendichte und Zeitpunkt des Ährenschiebens wurden auf die Auswertung mit CIM für die Mittelwerte über die Umwelten 2002 beschränkt. Die Permutations-Tests ergaben LOD-Schwellenwerte von 3,0 für die Wuchshöhe, sowie von 2,9 für die Ährendichte und 2,8 für den Zeitpunkt des Ährenschiebens. Die identifizierten QTLs für die Wuchshöhe, die Ährendichte und den Zeitpunkt des Ährenschiebens sind in Tabelle 8 dargestellt. Der Resistenz-QTL auf 6AL überlappte teilweise mit einem QTL für die Wuchshöhe sowie mit einem QTL für die Ährendichte. Linien, die in der QTL-Region das Resistenzallel von Dream besaßen, zeigten einen geringeren Befall der Ähren und tendierten zu einem hohen Wuchs und einer lockeren Ährenmorphologie. Der Resistenz-QTL auf 7BS fiel mit einem QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens zusammen, wobei Linien die das Resistenzallel von Dream trugen weniger stark befallen waren und zu einem späteren Ährenschieben neigten.

**Tabelle 8:** Mit CIM identifizierte QTLs für Wuchshöhe, Ährendichte und Zeitpunkt des Ährenschiebens für die Mittelwerte 2002 in der Dream/Lynx-Population. Das Markerintervall, die chromosomale Lokalisierung (Chr), die LOD-Werte (LOD), Prozent der erklärten phänotypischen Varianz ( $R^2\%$ ), die additiven Effekte (Add.) und das adjustierte  $R^2$  des Gesamtmodells (Adj.  $R^2\%$ ) sind angegeben. Das Donorallel (Donor) führt zu hohem Wuchs; einer lockeren Ähre bzw. zu einem späten Ährenschieben.

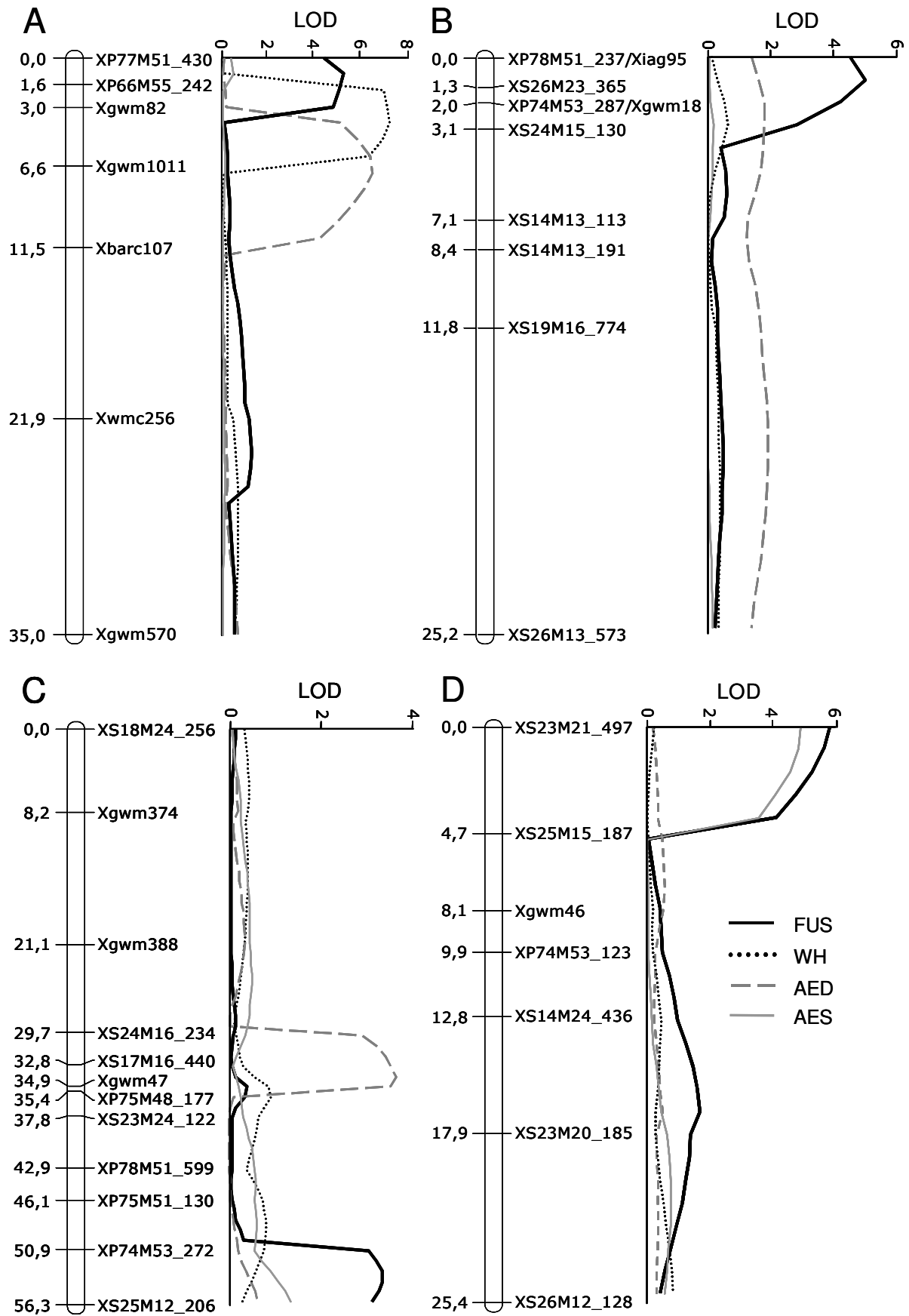
Merkmal	Markerintervall	Chr.	Donor	LOD	$R^2\%$	Add.
Wuchshöhe	XS24M16_485 -XP68M52_476	5A-1	Lynx	3,4	10,3	3,2
	Xgwm82- Xgwm1011	6AL* <sup>1</sup>	Dream	7,2	22,0	5,3
Adj. $R^2\%$					22,8	
Ährendichte	Xgwm1011- Xbarc107	6AL* <sup>1</sup>	Dream	6,5	20,0	0,5
	XS17M16_440 -XP75M48_177	2B	Lynx	3,7	11,0	0,3
	XP68M52-624 -XS15M24_238	2DS	Dream	7,2	20,4	0,5
Adj. $R^2\%$					37,2	
Zeitpunkt des Ährenschiebens	XS23M20_303 -XP75M53_287	5A-2* <sup>1</sup>	Lynx	3,0	9,4	0,4
	XS20M20_243 -XP75M60_531	1B-2	Dream	4,9	15,2	0,5
	XS23M21_497 -XS25M15_187	7BS* <sup>1</sup>	Dream	4,9	14,9	0,5
	Xgwm302 -XP66M55_236	7BL-1	Dream	5,2	15,3	0,6
	XP78M55_748 -XS14M21_286	X1* <sup>2</sup>	Dream	4,5	13,2	0,5
Adj. $R^2\%$					44,6	

\*<sup>1</sup>QTL ist in der Region eines Resistenz-QTL lokalisiert; \*<sup>2</sup>Kopplungsgruppe ohne chromosomale Zuordnung

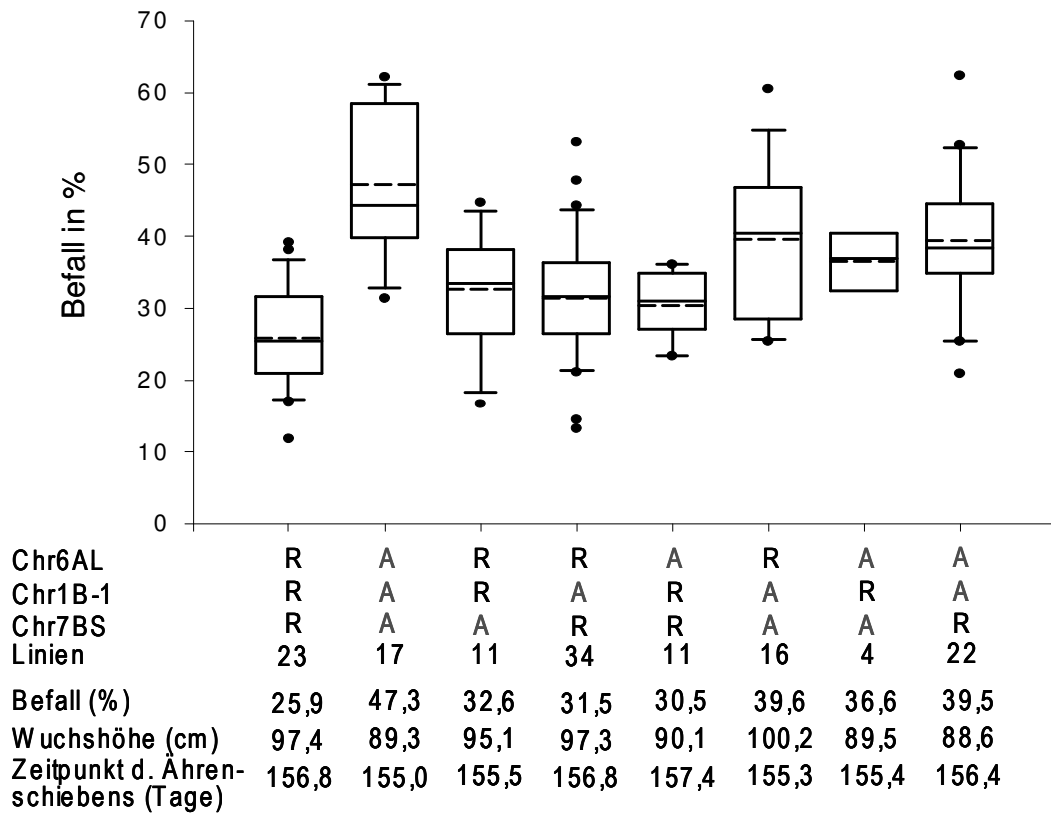
Die aus den CIM-Analysen resultierenden LOD-Kurven für den Fusariumbefall der vier Resistenz-QTLs auf 6AL, 1B-1, 2B und 7BS sind zusammen mit den LOD-Kurven für die Wuchshöhe, die Ährendichte und den Zeitpunkt des Ährenschiebens und den genetischen Karten dieser Gruppen in Abbildung 10 dargestellt. Diese vier Resistenz-QTLs waren alle am Ende der jeweiligen Kopplungsgruppe lokalisiert.

Die Assoziation zwischen den drei Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 6AL, 1B-1 und 7BS, die mittels `five-fold cross-validation` konstant in den Validierungssubpopulationen detektiert wurden, und dem Befallsgrad ist in Abbildung 11 dargestellt. Linien, die in den QTL-Regionen der Chromosomen 6AL, 1B-1 bzw. 7BS alle drei Resistenzallele trugen, hatten einen durchschnittlichen Befall von 25,9%, während Linien mit den alternativen Allelen einen Befall von 47,3% auf wiesen. Die Linien mit allen drei Resistenzallelen hatten außerdem eine im Durchschnitt um 8cm größere Wuchshöhe verglichen mit Linien ohne Resistenzallel. RILs, die das Resistenzallel in der QTL-Region auf 6AL trugen, hatten eine 6cm bis 11cm größere Wuchshöhe als Linien mit dem alternativen Allel. Linien mit dem Resistenzallel in der QTL-Region auf 7BS waren durchschnittlich 1 bis 2 Tage später im Ährenschieben als Linien ohne das Resistenzallel.

Aufgrund der schiefen Spaltung der Marker, die mit den Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 6AL, 1B-1 und 7BS gekoppelt sind, waren nur vier Linien vorhanden, die ausschließlich das Resistenzallel von Lynx in der QTL-Region von Chromosom 1B-1 trugen.



**Abbildung 10:** Die LOD-Kurven der Chromosomen 6AL (A), 1B-1, (B), 2B (C) und 7BS (D) für den Fusariumbefall (FUS), die Wuchshöhe (WH), die Ährendichte (AED) und den Zeitpunkt des Ährenschiebens (AES) nach den CIM-Analysen sind dargestellt. Die Ergebnisse basieren auf den Mittelwerten über die Umwelten 2002.



**Abbildung 11:** Boxplot-Verteilungen der RILs mit den alternativen Allelen der QTL-Regionen auf 6AL, 1B-1 und 7BS für die Befallsmittelwerte 2002. Die Linien wurden anhand der Marker, die mit den QTLs eng gekoppelt waren, klassifiziert. Aufgrund fehlender Markerdaten konnten sieben Linien nicht klassifiziert werden. R: Resistenzallel; A: alternatives Allel; gestrichelte Linien: Mittelwerte; durchgezogene Linien: Median.

Zwischen den vier Resistenz-QTLs auf 6AL, 1B-1, 2B und 7BS wurden keine epistatischen Wechselwirkungen mit einem signifikanten Einfluss ( $p < 0,05$ ) auf die erklärte phänotypische Varianz festgestellt.

### 3.5 QTL-Analysen der G16-92/Hussar-Population

Die Permutationstests mit SIM ergaben für die Umwelt 2001, sowie für alle Umwelten 2002 einen LOD-Schwellenwert von 2,3 bzw. von 2,4 für Freising 2002. Für die Befallsmittelwerte über die Umwelten 2002 resultierte ein LOD-Schwellenwert von 2,7. Mit der SIM-Analyse für die Mittelwerte über die Umwelten 2002 konnten zwei Resistenz-QTLs auf den Kopplungsgruppen 1A-1 und 2B identifiziert werden. Der QTL der Kopplungsgruppe 2B war auf dem langen Arm des Chromosoms lokalisiert. Der QTL auf Chromosom 2B wurde in allen vier Umwelten 2002, sowie in der Umwelt 2001 detektiert. Der QTL auf 1A-1 wurde in drei der vier Umwelten 2002 identifiziert. Neben diesen beiden stabilen Resistenz-QTLs wurden drei weitere QTLs in Freising 2002 detektiert (Tabelle 9).

Basierend auf den Permutationstests mit CIM wurden folgende LOD-Schwellenwerte für die QTL-Analysen verwendet: 2,4 für die Umwelt 2001, 2,5 für Hohenheim, Wetze und Wohlde 2002; sowie 2,6 für Freising und für die Mittelwerte über die Umwelten 2002 von 2,8. Die CIM-Analyse identifizierte für die Mittelwerte der erfassten Fusariumsymptome über die Umwelten 2002 einen Resistenz-QTL auf Chromosomen 1A-1 und einen QTL auf dem langen Arm des Chromosoms 2B. Diese QTLs erklärten 14,4%, und 16,6% der phänotypischen Varianz. Der QTL auf 1A-1 wurde in drei und der QTL auf 2B in allen vier Umwelten 2002 detektiert. Der QTL auf 2B wurde zusätzlich in der Umwelt 2001 identifiziert. Für den QTL auf 2B war G16-92 der Donor des Resistenzallels, während der Resistenzeffekt des QTLs auf 1A-1 von Hussar ausgeht. Weitere Resistenz-QTLs wurden in einzelnen Umwelten detektiert (Tabelle 10).

Die CIM-Analyse mit der Option `five-fold cross-validation` für die Mittelwerte 2002 bei einem LOD-Schwellenwert von 2,8 bestätigte die beiden QTLs auf den Chromosomen 1A-1 und 2B. Bei 85,4% der Validierungssubpopulationen (1/5 der Linien) konnte der QTL auf 1A-1 in demselben Markerintervall wie bei der CIM-Analyse mit allen Linien der Population detektiert werden (XP68M52\_309 - XS26M13\_329). Der QTL auf 2B konnte bei 91,2% der Subpopulationen im identischen Markerintervall verglichen mit der CIM-Analyse mit allen Linien identifiziert werden (XS17M16\_115 - Xgwm47). Das Gesamtmodell führte nach der Validierung zu einer erklärten phänotypische Varianz von 16,4%.

**Tabelle 9:** Mit SIM identifizierte Resistenz-QTLs in der G16-92/Hussar-Population. Dargestellt sind das Markerintervall, die chromosomale Lokalisierung (Chr), der Donor des Resistenzallels (Donor), die LOD-Werte (LOD), Prozent der erklärten phänotypischen Varianz (R<sup>2</sup>%), das adjustierte R<sup>2</sup> des Gesamtmodells (Adj. R<sup>2</sup>%) und die additiven Effekte (Add.) für die Mittelwerte 2002.

Markerintervall	Chr	Donor	2001		Freising		Hohenheim		Wetze		Wohlde		Mittelwerte 2002		
			LOD	R <sup>2</sup> %	LOD	R <sup>2</sup> %	LOD	R <sup>2</sup> %	LOD	R <sup>2</sup> %	LOD	R <sup>2</sup> %	LOD	R <sup>2</sup> %	Add.
XP68M52_309 -XS26M13_329	1A-1	Hussar			2,6	8,8	4,4	14,4	3,1	10,3			4,2	13,6	3,6
XS25M20_241 -XS25M20_226	2A-1	Hussar			2,5	8,0									
XP68M56_629 -XP78M56_148	5A-3	G16-92			2,6	8,8									
XP78M51_415 -XP77M53_277	1B-1	G16-92			3,2	10,3									
XS17M16_115 -Xgwm47	2B(L)	G16-92	3,6	13,0	3,3	10,4	4,0	12,7	3,4	10,9	5,0	15,4	5,0	15,7	3,4
Adj. R <sup>2</sup> %				11,5		30,0		21,7		16,3		14,1		23,5	

**Tabelle 10:** Mit CIM identifizierte Resistenz-QTLs in der G16-92/Hussar-Population. Dargestellt sind das Markerintervall, die chromosomale Lokalisierung (Chr), der Donor des Resistenzallels (Donor), die LOD-Werte (LOD), Prozent der erklärten phänotypischen Varianz (R<sup>2</sup>%), das adjustierte R<sup>2</sup> des Gesamtmodells (Adj. R<sup>2</sup>%) und die additiven Effekte (Add.) für die Mittelwerte 2002.

Markerintervall	Chr	Donor	2001		Freising		Hohenheim		Wetze		Wohlde		Mittelwerte 2002		
			LOD	R <sup>2</sup> %	LOD	R <sup>2</sup> %	LOD	R <sup>2</sup> %	LOD	R <sup>2</sup> %	LOD	R <sup>2</sup> %	LOD	R <sup>2</sup> %	Add.
XP68M52_309 -XS26M13_329	1A-1	Hussar			5,1	16,2	4,7	15,1	3,11	10,3			4,5	14,4	3,3
XP78M51_415 -XP77M53_277	1B-1	G16-92			4,1	12,9									
XS17M16_115 -Xgwm47 <sup>*1</sup>	2B(L)	G16-92	4,0	14,2	4,5	14,1	4,4	13,8	3,5	11,2	4,7	14,8	5,4	16,6	3,4
XS26M24_427 -XS26M13_272	3B-3	Hussar	2,6	9,7											
XS14M16_144 -XS14M24_142	5B-3	Hussar			3,8	12,1									
XS14M17_187 -XP68M53_347	X1 <sup>*2</sup>	G16-92			3,1	9,8									
Adj. R <sup>2</sup> %				18,2		34,8		21,9		16,3		14,1		23,5	

<sup>\*1</sup>QTL-Position ist bei Freising 2002 um ein Markerintervall verschoben; <sup>\*2</sup>Kopplungsgruppe ohne chromosomale Zuordnung

QTL-Analysen für die Merkmale Wuchshöhe, Ährendichte und Zeitpunkt des Ährenschiebens wurden auf die Auswertung mit CIM für die Mittelwerte über die Umwelten 2002 beschränkt. Die Permutations-Tests ergaben einen LOD Schwellenwert von 2,5 für die Wuchshöhe ( $\alpha= 25\%$ ), sowie von 3,0 für die Ährendichte und den Zeitpunkt des Ährenschiebens ( $\alpha= 10\%$ ). Die identifizierten QTLs für Wuchshöhe, Ährendichte und Zeitpunkt des Ährenschiebens sind in Tabelle 11 dargestellt.

**Tabelle 11:** Mit CIM identifizierte QTLs für Wuchshöhe, Ährendichte und Zeitpunkt des Ährenschiebens für die Mittelwerte 2002 in der G16-92/Hussar-Population. Das Markerintervall, die chromosomale Lokalisierung (Chr), die LOD-Schwellenwerte (LOD), Prozent der erklärten phänotypischen Varianz ( $R^2\%$ ), die additiven Effekte (Add.) und das adjustierte  $R^2$  des Gesamtmodells (Adj.  $R^2\%$ ) sind angegeben. Das Donorallel (Donor) führt zu hohem Wuchs; einer lockeren Ähre bzw. zu einem späten Ährenschieben.

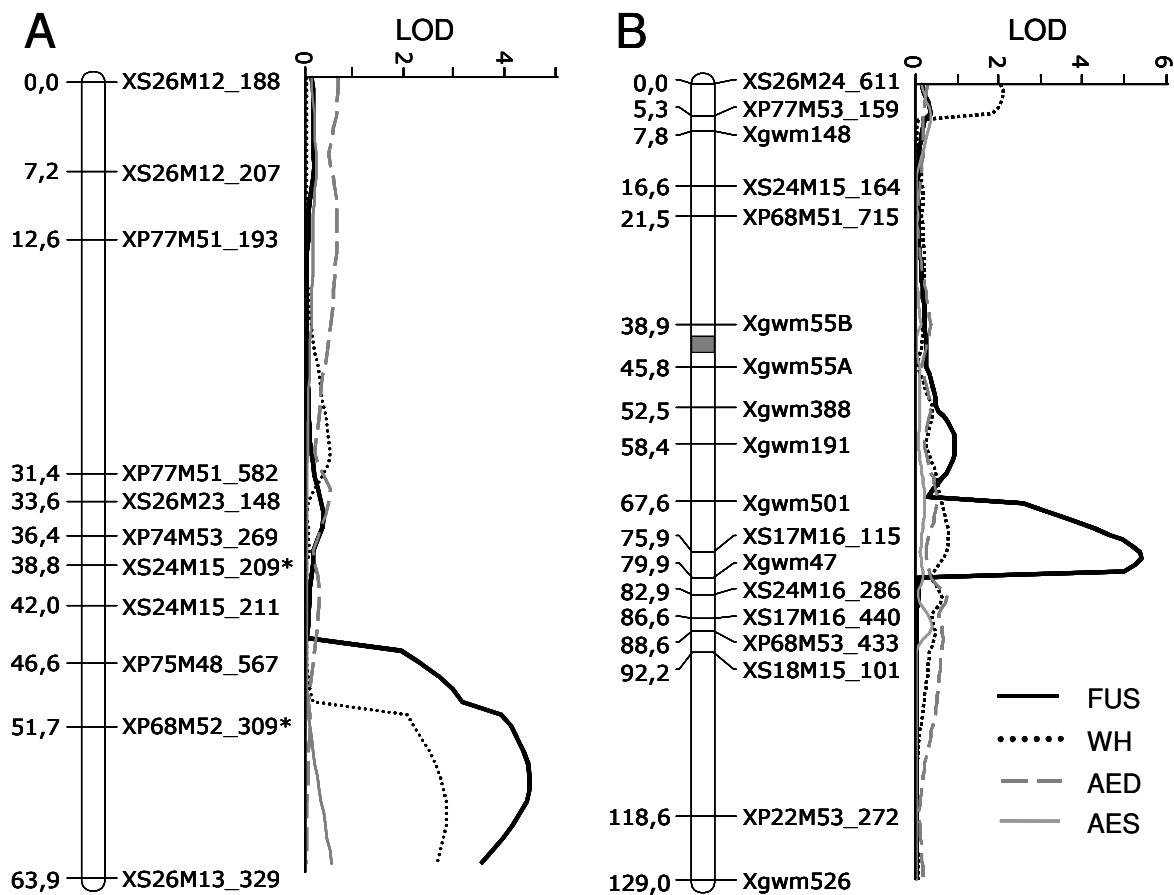
Merkmal	Markerintervall	Chr.	Donor	LOD	$R^2\%$	Add.
Wuchshöhe	XP68M52_309 -XS26M13_329	1A-1*	Hussar	2,8	9,3	3,5
	XS18M12_141 -XP68M56_262	1B-2	G16-92	3,1	9,9	3,5
Adj. $R^2\%$					12,6	
Ährendichte	XS18M18_167 -XP77M53_203	3A-2	G16-92	3,1	10,5	0,3
	XP72M59-139 -XP68M55_629	5A-3	G16-92	4,7	15,3	0,5
Adj. $R^2\%$					20,0	
Zeitpunkt des Ährenschiebens	XS26M13_272- XS16M24_294	3B-3*	Hussar	4,9	15,7	0,6
	XS24M16_102- XP74M53_242	4B	Hussar	5,7	17,6	0,6
	XP74M53_324- XP77M53_324	3D	Hussar	5,0	15,4	0,6
Adj. $R^2\%$					30,6	

\* QTL ist in der Region eines Resistenz-QTL lokalisiert

Der Resistenz-QTL auf Chromosom 1A-1 überlappte mit einem QTL für Wuchshöhe. Linien, die in der QTL-Region das Allel von Hussar besaßen waren weniger stark befallen und tendierten zu einem hohen Wuchs.

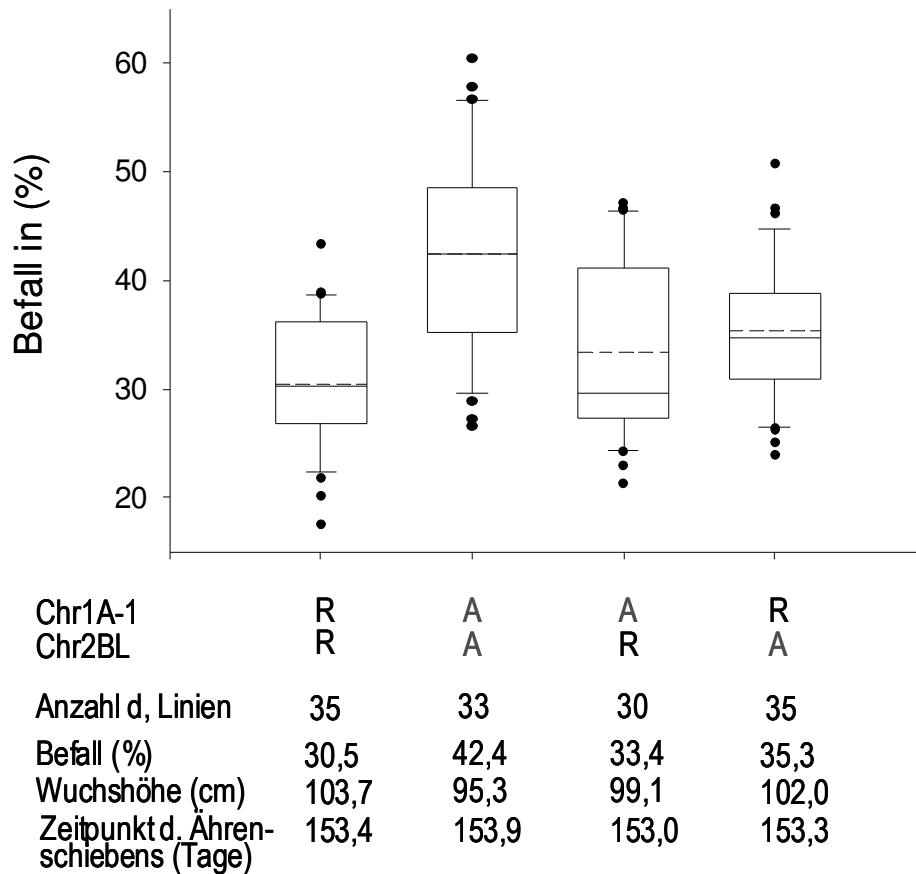
Die LOD-Kurven der CIM-Analysen für den Fusariumbefall der stabilen Resistenz-QTLs auf 1A-1 und 2B sind zusammen mit den LOD-Kurven für Wuchshöhe, Ährendichte und den Zeitpunkt des Ährenschiebens und den genetischen Karten dieser Gruppen in Abbildung 12 dargestellt.





**Abbildung 12:** Die LOD-Kurven der Chromosomen 1A-1 (A) und 2B (B) für den Fusariumbefall (FUS), die Wuchshöhe (WH), die Ährendichte (AED) und den Zeitpunkt des Ährenschiebens (AES) nach den CIM-Analysen sind dargestellt. Die Ergebnisse basieren auf den Mittelwerten über die Umwelten 2002. \*Marker wurden nach nulli-tetrasomen-Analyse dem Chromosom 1A zugeordnet.

Der Einfluss der beiden stabilen Resistenz-QTLs auf den Befallsgrad ist in Abbildung 13 dargestellt. Linien, die in den QTL Regionen auf 1A-1 bzw. 2BL die Resistenzallele trugen, waren um etwa 12% weniger stark befallen verglichen mit Linien, welche die Alternativallele besaßen. Die Linien mit beiden Resistenzallelen waren ca. 8cm höher verglichen mit Linien ohne Resistenzallele. Ein wesentlicher Effekt der Resistenzallele auf den Zeitpunkt des Ährenschiebens war nicht zu beobachten.

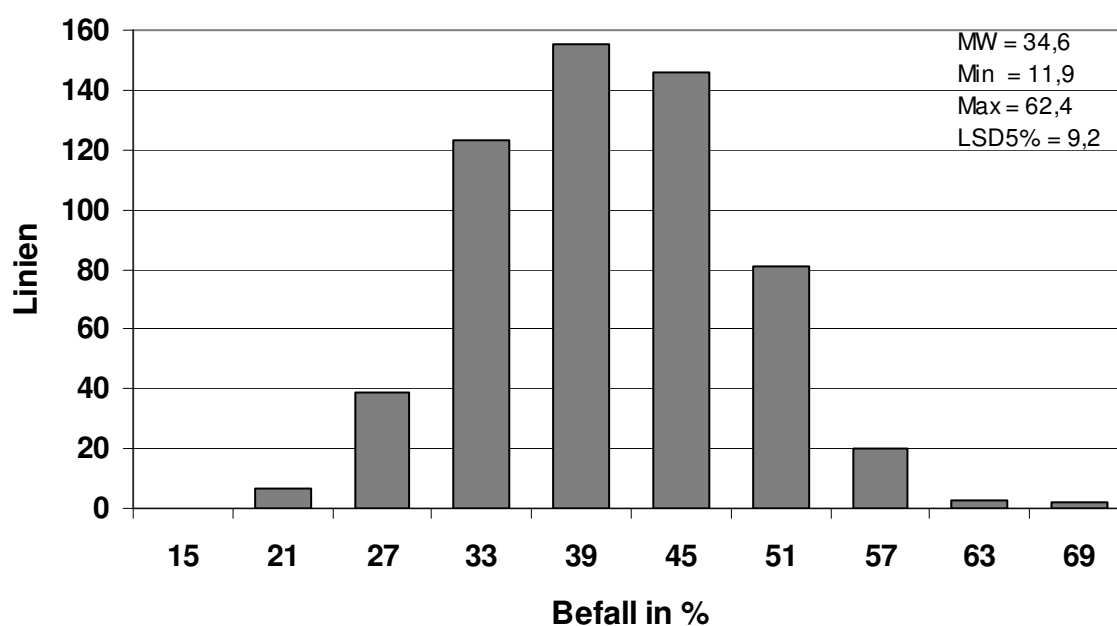


**Abbildung 13:** Boxplot-Verteilungen der RILs mit den alternativen Allelen der QTL-Regionen auf 1A-1 und 2B für die Befallsmittelwerte 2002. Die Linien wurden anhand der Marker, die mit den QTLs eng gekoppelt waren, klassifiziert. Aufgrund fehlender Markerdaten konnten drei Linien nicht klassifiziert werden. R: Resistenzallel; A: alternatives Allel; gestrichelte Linien: Mittelwerte; durchgezogene Linien: Median.

Für die Befallsmittelwerte 2002 wurde ein epistatischer Effekt des Resistenz-QTL auf 1A-1 über den QTL auf 2B mit einem signifikanten Einfluss auf die erklärte phänotypische Varianz festgestellt ( $p < 0,05$ ). Wird dieser epistatische Effekt berücksichtigt ('smodel'), erklärt der QTL auf 1A-1 11,3%, der QTL auf 2B 17,6% und das Gesamtmodell 25,3% der phänotypischen Varianz.

### 3.6 Phänotypisierung der Validierungspopulation

Die 576 Linien der Validierungspopulation zeigten für die Befallsmittelwerte über die vier Umwelten 2002 eine kontinuierliche Variation (Abbildung 14). Das Populationsmittel für den erfassten Befall lag bei 40,6% mit einer Variationsbreite von 19,4% bis 68,1% befallener Ährchen. Die Population hatte eine mittlere Wuchshöhe von 100,5 cm mit einer Variationsbreite von 77,6 cm bis 119,6 cm. Im Mittel lag der Zeitpunkt des Ährenschiebens der Population bei 155,3 Tagen mit einer Spannweite von 151,5 bis 160,2 Tagen. Die Mittelwerte über die Umwelten der erfassten Merkmale für die Kreuzungseltern der Validierungspopulation sind in Tabelle 12 zusammengefasst.



**Abbildung 14:** Häufigkeitsverteilung der 576 Linien der Validierungspopulation für Prozent befallener Ährchen. Die Ergebnisse basieren auf den Mittelwerten über die vier Umwelten 2002. Dargestellt sind der Mittelwert (MW) und die Variationsbreite (Min, Max) der Population, sowie die Grenzdifferenz bei 5%iger Irrtumswahrscheinlichkeit (LSD5%) sind dargestellt.

**Tabelle 12:** Die Mittelwerte über die Umwelten 2002 der Kreuzungseltern für den Fusariumbefall, sowie für die Wuchshöhe und den Zeitpunkt des Ährenschiebens.

Merkmal	G16-92	Hussar	Dream	Lynx	Brando	LP235.1
Befall (%)	28,7	68,2	15,3	68,1	78,3	60,1
Wuchshöhe (cm)	109,5	78,4	99,5	72,3	77,8	88,3
Ährenschieben (Tage)	153,1	154,7	159,0	156,6	154,8	156,8

Die Varianzanalyse für den Fusariumbefall ergab signifikante Varianzen für die Umwelten, die Genotypen und die Genotyp x Umwelt-Interaktion (Daten nicht gezeigt).

Die Heritabilität im weiteren Sinne war für alle Merkmale hoch:

- Fusariumbefall:  $H^2 = 0,86$  (95%iges Konfidenzintervall = 0,84 - 0,88)
- Wuchshöhe:  $H^2 = 0,92$  (0,91 – 0,93)
- Ährenschieben:  $H^2 = 0,84$  (0,82 – 0,86)

Für die Mittelwerte über die Umwelten ergab sich eine geringfügige, aber signifikante negative Korrelation zwischen dem Befall und der Wuchshöhe ( $r = -0,30$ ;  $p < 0,001$ ) sowie zwischen dem Befall und dem Zeitpunkt des Ährenschiebens ( $r = -0,13$ ;  $p < 0,001$ ). Linien mit großer Wuchshöhe und späterem Ährenschieben tendierten zu geringerem Befall.

### 3.7 Markervalidierung

Die drei stabilsten Resistenz-QTLs der Kartierungspopulationen Dream/Lynx (6AL, 7BS) und G16-92/Hussar (2B) waren mit SSR-Markern gekoppelt. Mit diesen Markern wurden die Linien der Validierungspopulation genotypisiert. Die Voraussetzung für diese Untersuchungen war, dass diese codominanten Marker diagnostisch für den entsprechenden Donor des Resistenzallels sind. In der Population Dream/Lynx war der QTL auf Chromosom 6AL mit dem SSR-Marker GWM82 mit einer genetische Distanz von ca. 2cM gekoppelt. Die genetische Distanz zwischen dem Resistenz-QTL auf 7BS und dem SSR-Marker GWM46 betrug ca. 8cM. In der Population G16-92/Hussar war der Resistenz-QTL auf dem langen Arm von Chromosom 2B mit dem SSR-Marker GWM47 mit einer genetischen Distanz von ca. 2cM gekoppelt. Die Basenpaare für die Allele der drei SSR-Marker GWM82, GWM46 und GWM47 sind in Tabelle 13 angegeben.

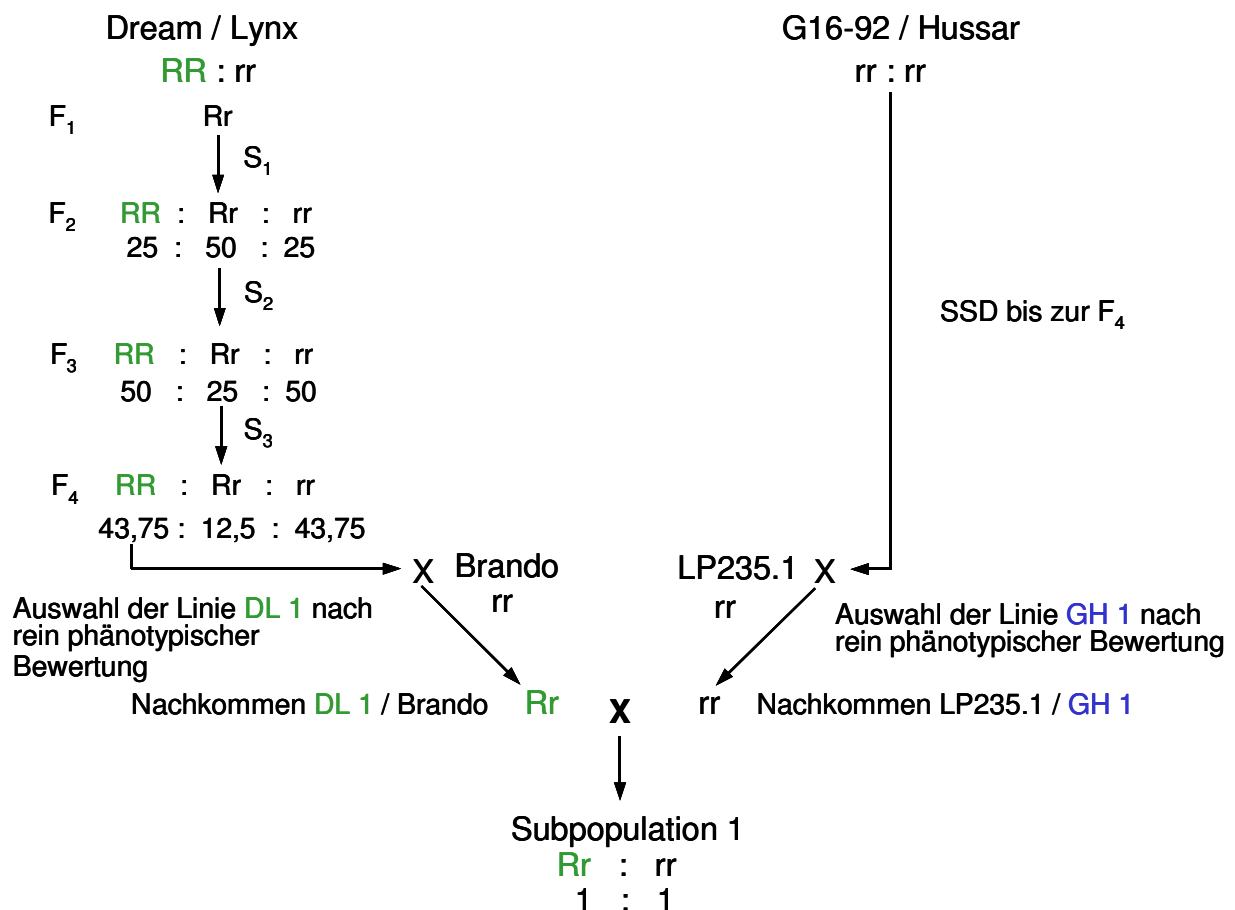
**Tabelle 13:** Die Allelgrößen in Basenpaaren (Bp) der drei SSR-Marker GWM82, GWM46 und GWM47 bei den Eltern der Validierungspopulation. Der Donor des Resistenzallels der entsprechenden QTL-Region ist angegeben.

SSR-Marker	Donor	G16-92	Hussar	Dream	Lynx	Brando	LP235.1
GWM82 (6AL)	Dream	145 Bp	145 Bp	140 Bp	145 Bp	145 Bp	145 Bp
GWM46 (7BS)	Dream	175 Bp	160 Bp	158 Bp	160 Bp	160 Bp	160 Bp
GWM47 (2BL)	G16-92	160 Bp	150 Bp	---*	150 Bp	150 Bp	150 Bp

\*Dream hat bei GWM47 ein Nullallel

Für die Entwicklung der Validierungspopulation wurden phänotypisch resistente Linien der Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar mit der anfälligen Sorte Brando und mit der anfälligen Zuchtlinie LP235.1 verkreuzt. Zum Zeitpunkt als mit der Entwicklung der Validierungspopulation begonnen wurde, lagen noch keine molekulargenetischen Informationen über die Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar vor. Die Linien beider Kartierungspopulationen befanden sich in der F<sub>4</sub>-Generation, somit waren noch 12,5% der

Linien heterozygot für spaltende Loci. Daher wurden je drei verschiedene phänotypisch resistente Linien der Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar für die Kreuzungen verwendet. Aufgrund dieser Vorgehensweise sind neun Subpopulationen entstanden. Die Nachkommen dieser Verkreuzungen entsprechen für jeden Markerlocus bzw. QTL genetisch einer  $BC_1$ , d.h. in jeder Subpopulation ist für einen Markerlocus eine 1:1 Spaltung der Linien zu erwarten (Markerallele 1  $Rr : rr$ ; ; Abbildung 15).



**Abbildung 15:** Dargestellt ist die Spaltung eines diagnostischen Markers für ein Resistenzallel von Dream anhand des Beispiels der Subpopulation 1 der Validierung.

Die Markerallele wurden mittels Chi-Quadrat-Test für jede Subpopulation getrennt auf eine signifikante Abweichung von einer 1:1 bzw. 1:3 Spaltung überprüft. Ein  $\chi^2$ -Wert von größer als 10,83 führt bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha = 0,001$  und einem Freiheitsgrad zu einer signifikanten Ablehnung des angenommenen Spaltungsverhältnisses. Die Ergebnisse der Genotypisierung der Validierungspopulation sind in Tabelle 14 dargestellt.

**Tabelle 14:** Ergebnisse der Genotypisierung der 576 Linien der Validierungspopulation mit den Markern GWM82, GWM46 und GWM47. Die Spaltungsverhältnisse der Markerloci in den neun Subpopulationen sind dargestellt.

Subpopulation	Kreuzungen	GWM82 <sup>1</sup> (6AL)				GWM46 <sup>1</sup> (7BS)				GWM47 <sup>2</sup> (2BL)			
		Rr	rr	na	$\chi^2$	Rr	rr	na	$\chi^2$	Rr	rr	na	$\chi^2$
Sub 1	[DL1 / Brando] / [LP235.1 / GH1]	37	27	0	1,56	0	64	0	--	13	51	0	22,56*
Sub 2	[DL1 / Brando] / [LP235.1 / GH2]	37	27	0	1,56	0	64	0	--	27	37	0	1,56
Sub 3	[DL1 / Brando] / [LP235.1 / GH3]	37	26	1	1,92	0	58	6	--	30	29	5	0,02
Sub 4	[DL2 / Brando] / [LP235.1 / GH1]	34	28	2	0,58	24	39	1	3,57	10	52	2	28,45*
Sub 5	[DL2 / Brando] / [LP235.1 / GH2]	34	28	2	0,58	15	35	14	8,00	30	26	8	0,29
Sub 6	[DL2 / Brando] / [LP235.1 / GH3]	38	24	2	3,16	19	44	1	9,92	34	30	0	0,25
Sub 7	[DL3 / Brando] / [LP235.1 / GH1]	39	23	2	4,13	17	46	1	13,35*	9	55	0	33,06*
Sub 8	[DL3 / Brando] / [LP235.1 / GH2]	29	33	2	0,26	24	37	3	2,77	27	35	2	1,03
Sub 9	[DL3 / Brando] / [LP235.1 / GH3]	31	33	0	0,06	26	32	6	0,62	26	38	0	2,25

DL1, 2 und 3 sind phänotypisch resistente Linien der Population Dream/Lynx

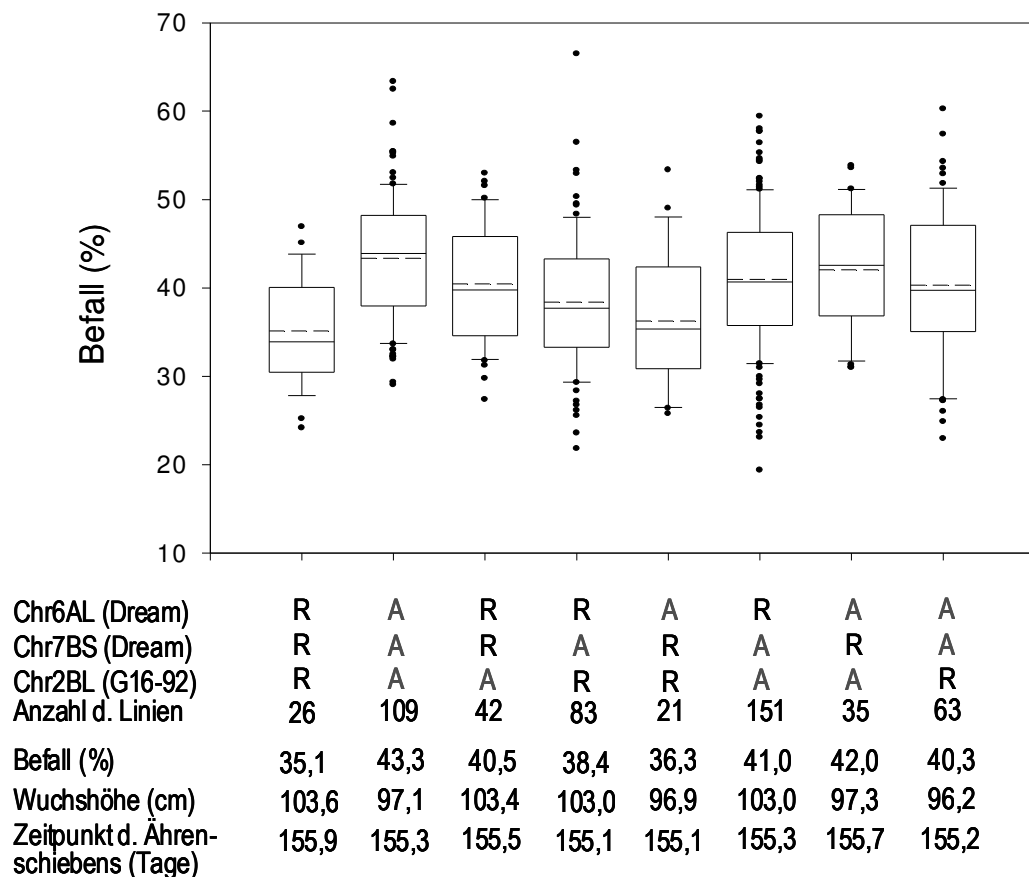
GH1, 2 und 3 sind phänotypisch resistente Linien der Population G16-92/Hussar

<sup>1</sup>Donor des Resistenzallels war Dream; <sup>2</sup>Donor des Resistenzallels war G16-92

Rr = heterozygote Markerallele; aa = alternative Allele; na = nicht eindeutig auswertbar bzw. ausgefallen;

\*signifikante Abweichung von einer 1:1 Spaltung (>10,83 bei  $\alpha = 0,01$ ), aber keine signifikante Abweichung von einer 1:3 Spaltung.

Nach der Genotypisierung der Validierungspopulation mit den drei SSR-Markern GWM82, GWM46 und GWM47 wurden die Linien entsprechend der Markergenotypen klassifiziert. Der Vergleich der Markerklassen mit den Daten aus der Evaluierung der Befallsstärke für den Mittelwert über die Umwelten 2002 ist in Abbildung 16 dargestellt. Linien, bei denen alle drei Marker das Resistenzallel der QTLs auf 6AL, 7BS (Dream) und 2BL (G16-92) anzeigten, hatten einen durchschnittlichen Befall von 35,1%. Linien, die keines der Resistenzallele besaßen, wiesen einen Befall von 43,3% auf. Die Linien mit allen drei Resistenzallelen hatten außerdem eine im Durchschnitt um ca. 6,5cm größere Wuchshöhe verglichen mit Linien ohne Resistenzallel. Linien, die das Resistenzallel in der QTL-Region auf 6AL trugen, hatten eine zwischen 6 und 7cm größere Wuchshöhe als die Linien mit dem alternativen Allel. Ein Effekt des Resistenzallels von Dream in der Region des 7BS-QTLs auf den Zeitpunkt des Ährenschiebens konnte nicht festgestellt werden.



**Abbildung 16:** Boxplot-Verteilungen der 576 Linien der Validierungspopulation mit den alternativen Markerallelen der QTL-Regionen auf 6AL, 7BS und 2BL für die Befallsmittelwerte 2002. Die Linien wurden anhand der SSR-Marker GWM82, GWM46 und GWM47 klassifiziert. Aufgrund fehlender Markerdaten konnten 46 Linien nicht klassifiziert werden. R: Resistenzallel; A: alternatives Allel; gestrichelte Linien: Mittelwerte; durchgezogene Linien: Median.

Insgesamt waren 55 Linien signifikant weniger stark befallen als das Populationsmittel (Standardabweichung = 7,89). Von diesen trugen 2 Linien keines der Resistenzallele auf den Chromosomen 6AL, 7BS und 2B, 23 Linien nur ein Resistenzallel, 17 Linien zwei Resistenzallele, 7 Linien alle drei Resistenzallele und 6 Linien konnten aufgrund fehlender Markerdaten nicht eindeutig zugeordnet werden. Signifikant stärker befallen als das Populationsmittel waren 91 Linien, von denen 24 Linien kein Resistenzallel, 45 Linien eines der Resistenzallele und 14 Linien zwei Resistenzallele trugen. Keine Linie besaß alle drei Resistenzallele und 8 Linien konnten aufgrund fehlender Markerdaten nicht eindeutig zugeordnet werden.

In der Validierungspopulation konnten nach mehrfaktoriellen Varianzanalysen keine signifikanten epistatischen Interaktion zwischen den Markern der QTL-Regionen auf 6AL, 7BS und 2BL festgestellt werden. Der Scheffé-Test für unausgewogene Stichprobengrößen zeigte, dass der Unterschied im Befallsgrad von 8,2% zwischen Linien mit den drei Resistenzallelen und Linien mit den Alternativallelen signifikant war ( $p < 0,001$ ).



## 4 Diskussion

Die meisten bisher publizierten Arbeiten über die Kartierung von Resistenzgenloci gegen Ährenfusarien wurden im Sommerweizen mit Sumai3 oder von Sumai3 abgeleiteten Resistenzdonoren durchgeführt. Neben dem wichtigen Resistenz-QTL *Qfhs.ndsu-3BS*, der von mehreren Arbeitsgruppen identifiziert wurde, sind auch weitere Resistenz-QTLs mit kleineren Effekten detektiert worden (Bai et al. 1999, Waldron et al. 1999, Gupta et al. 2000, Anderson et al. 2001, El-Badawy 2001, Buerstmayr et al. 2002, Zhou et al. 2002a).

Die bisher veröffentlichten Ergebnisse über die Kartierung von Resistenz-QTLs bei Winterweizen basieren auf Populationen, die mit unterschiedlichen Resistenzdonoren entwickelt wurden (Gervais et al. 2003, Shen et al. 2003a, Klahr et al. 2004, Paillard et al. 2004). In diesen Arbeiten wurden bisher kaum gemeinsame Resistenz-QTLs für den Winterweizen identifiziert.

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei Winterweizen-Populationen, die aus den Kreuzungen Dream/Lynx und G16-92/Hussar entwickelt wurden, genotypisiert und phänotypisch hinsichtlich der Resistenzeigenschaften gegen Ährenfusariosen nach Sprühhinokulation charakterisiert. Beide Resistenzdonoren wurden bisher nicht molekulargenetisch untersucht.

### 4.1 Phänotypische Daten aus den Feldversuchen

Bei Sommerweizen ist nach Punktinokulation häufig eine bimodale Häufigkeitsverteilung innerhalb einer Population für die visuell erfassten Krankheitssymptome zu beobachten. Eine solche Verteilung deutet auf nur wenige Resistenz-QTLs mit großen Effekten hin, welche die Ausprägung der Resistenzeigenschaften kontrollieren (Bai et al. 1999, Waldron et al. 1999, Buerstmayr et al. 2002). Die kontinuierlichen Häufigkeitsverteilungen der Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar sind charakteristisch für eine quantitative Vererbung der Fusariumresistenz. Diese quantitative Ausprägung ist auf mehrere Resistenz-QTLs mit vergleichsweise geringen Effekten zurück zu führen. In beiden Populationen konnte keine Transgression in Richtung Resistenz festgestellt werden. Transgression wurde in der Population Dream/Lynx nur in Richtung höherer Anfälligkeit beobachtet. Von einer quantitativen Verteilung der Befallsausprägung, ebenso wie von einer transgressiven Spaltung der Linien ausschließlich in Richtung stärkeren Befall wurde auch von Gervais et al. (2003) und Paillard et al. (2004) bei Untersuchungen der resistenten Winterweizen-Sorten Renan und Arina nach Sprühhinokulation berichtet. Shen et al. (2003a) beobachteten bei Untersuchungen der resistenten Winterweizen Linie Fundulea 201R eine kontinuierliche Befallsverteilung und Transgression in Richtung Anfälligkeit nach Punktinokulation.

Die hohe Heritabilität, sowie die hohen Korrelationskoeffizienten zwischen den Umwelten 2002 für die visuell erfassten Fusariumsymptome der Populationen Dream/Lynx und G16-

92/Hussar spiegeln eine gute Reproduzierbarkeit der phänotypischen Daten wider. Dies ist auf die Anwendung der künstlichen Inokulation zurück zu führen. Zudem zeigen diese Ergebnisse, dass zwischen den Kreuzungspartnern der Populationen, Dream und Lynx, sowie G16-92 und Hussar, ausreichend Variation hinsichtlich der Fusariumresistenz vorhanden war.

Auch in der Validierungspopulation war für die Befallsmittelwerte über die vier Umwelten 2002 eine kontinuierliche Variation zu beobachten und die Heritabilität für die erfassten Symptome war sehr hoch.

#### 4.2 Molekulare Kartierung von Fusariumresistenz-QTLs

Bei der CIM-Analyse der Dream/Lynx-Population erklärten die vier wichtigsten Resistenz-QTLs auf 6AL, 1B-1, 2B und 7BS insgesamt 40% der phänotypischen Varianz für die Befallsmittelwerte 2002. Bei der SIM-Analyse konnte das Gesamtmodell 34% der phänotypischen Varianz erklären. Die höhere erklärte phänotypische Varianz ist wohl hauptsächlich auf den QTL auf dem langen Arm von Chromosom 2B zurück zu führen, der in den SIM-Analysen nicht detektiert werden konnte. Für die Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 6AL, 1B-1 und 7BS der Dream/Lynx-Population konnte mittels `five-fold cross-validation` gezeigt werden, dass sie weitgehend unabhängig von Stichprobeneffekten sind. Der QTL auf 2BL dagegen wurde in weniger als der Hälfte der Validierungs-subpopulationen im erwarteten Markerintervall detektiert. Dies mag auch der Grund für die deutlich geringere erklärte phänotypische Varianz des Gesamtmodells der Validierung von 28% sein. Da allerdings selbst bei einem F-to-Enter-Wert von 20 der QTL auf 2BL für den Mittelwert über die Umwelten 2002 detektiert wurde, wird davon ausgegangen, dass es sich bei diesem QTL nicht um einen `Ghost` handelt.

Die beiden in der G16-92/Hussar-Population identifizierten Resistenz-QTLs auf 1A-1 und dem langen Arm von Chromosom 2B erklärten zusammen 24% der phänotypischen Varianz der Befallsmittelwerte 2002 sowohl nach der CIM- als auch nach der SIM-Analyse. Die CIM-Analyse mit der Option `five-fold cross-validation` bestätigte die beiden QTLs auf den Chromosomen 1A-1 und 2BL. Die Validierung führte zu einer erklärten phänotypischen Varianz des Gesamtmodells von 16%.

Melchinger et al. (1998) berichten von einer nur leichten Erhöhung der erklärten phänotypischen Varianz nach CIM verglichen mit SIM. Vergleichbare erklärte phänotypische Varianzen bei SIM- und CIM-Analysen entstehen aufgrund einer hohen Stringenz bei der Vorgabe der Schwellenwerte (F-to-Enter) für die Cofaktorauswahl. Sinn der QTL-Analyse mit Cofaktoren ist in erster Linie die Präzision der QTL-Lokalisierung zu erhöhen. Die übermäßige Aufnahme von Cofaktoren bei der CIM-Analyse kann zu einer Überschätzung

der QTL-Effekte und zur Detektion von `Ghost-QTLs` führen. Es sollten in der CIM-Analyse nur Cofaktoren berücksichtigt werden, die einen bedeutenden Beitrag zur Erklärung der Varianz leisten (Zeng 1994). Melchinger et al. (1998) beschreiben diese Problematik folgendermaßen: Je komplexer die Computersimulation, desto anfälliger sind die Analysen für Stichprobeneffekte. In der vorliegenden Arbeit wurden bei der Festlegung der F-to-Enter-Werte für die automatische Cofaktorauswahl die Ergebnisse der SIM-Analysen und der Einzelmarkerregression berücksichtigt, um das Risiko der Aufnahme ungeeigneter Marker für die multiple Regression zu vermindern.

Die Größenordnung von 40% bzw. 24% der erklärten phänotypischen Varianz für das Gesamtmodell der beiden Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar liegt im Bereich bereits veröffentlichter Arbeiten über die QTL-Kartierung von Fusariumresistenzen im Winterweizen (Gervais et al. 2003, Shen et al. 2003a, Klahr et al. 2004, Paillard et al. 2004). Für den verbleibenden nicht erklärten Anteil der phänotypischen Varianz in beiden Populationen gibt es mehrere mögliche Gründe.

Die Ausprägung der Fusariumresistenz wird stark durch Umwelteffekte beeinflusst und es kommt zu Genotyp x Umwelt-Interaktionen (Miedaner et al. 2001). Für Merkmale mit mittlerer oder geringer Heritabilität sinkt die Wahrscheinlichkeit QTLs zuverlässig zu kartieren, insbesondere bei kleinen Populationen und bei QTLs mit geringen Effekten (Melchinger et al. 1998). Die Erfassung des sichtbaren Fusariumbefalls der Kartierungspopulationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar erfolgte an vier klimatisch unterschiedlichen Standorten und nach künstlicher Inokulation, um Umwelteffekte zu berücksichtigen.

Die Populationsgröße ist ein wichtiger und oft diskutierter Faktor bei der Effizienz und Präzision von QTL-Analysen. Die Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar sind mit 145 bzw. 136 Linien relativ klein. Diese Größenordnung ist für experimentelle QTL-Analysen nicht ungewöhnlich, da mit der Anzahl der Linien auch die Kosten für die Genotypisierung und die Phänotypisierung steigen. Zudem sind selbst bei sehr großen Populationen die statistischen Möglichkeiten zur Detektion von QTLs mit kleinen Effekten begrenzt (Utz und Melchinger 1994).

Die Resistenz gegen Ährenfusarien wird zumindest oligogen mit einer unbestimmten Anzahl an modifizierenden Genen vererbt (Snijders 1990a/b/c, Van Ginkel et al. 1996, Buerstmayr et al. 1999, Bai et al. 2000, Ban und Suenaga 2000). Basierend auf den Arbeiten von Gervais et al. (2003), Shen et al. (2003a), Klahr et al. (2004) und Paillard et al. (2004) zusammen mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit kann vermutet werden, dass die Fusariumresistenz im Winterweizen von mehreren Loci mit kleinen bis moderaten Effekten kontrolliert wird, die in verschiedenen Regionen des Weizengenoms lokalisiert sind. Selbst der Effekt des bedeutenden Resistenz-QTLs *Qfhs.ndsu-3BS* im Sommerweizen erklärt in den bisher

veröffentlichten Ergebnissen maximal 60% der phänotypischen Varianz hinsichtlich der Befallsstärke (Buerstmayr et al. 2002). Zudem ist die Detektierbarkeit von Resistenz-QTLs gegen Ährenfusarien von der Methode der künstlichen Inokulation bzw. von den untersuchten Resistenzkomponenten (Typl und TyplI) abhängig. Buerstmayr et al. (2002, 2003b) haben die Resistenzeigenschaften einer CM-82036/Remus-Population mittels Punktinokulation evaluiert und zwei Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 3BS (*Qfhs.ndsu-3BS*) und 5A (*Qfhs.ifa-5A*) identifiziert, die 60% bzw. 11% der phänotypischen Varianz erklärten. Nach Sprühinokulation erklärten diese QTLs 29% bzw. 20% der phänotypischen Varianz. Die Autoren vermuten, dass *Qfhs.ndsu-3BS* mit der TyplI-Resistenz in Verbindung steht, während *Qfhs.ifa-5A* eher einen Effekt auf die Typl-Resistenz ausprägt. In dieser Arbeit wurde für die Evaluierung der Resistenzeigenschaften der Populationen die Sprühinokulation verwendet, die relative Schwere des Befalls als Prozent erkrankter Ährchen ermittelt und somit die kombinierte Ausprägung der Typl- und TyplI-Resistenz erfasst. Möglicherweise konnten daher QTLs mit kleinen Effekten auf die Ausbreitungsresistenz in den Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar nicht detektiert werden.

Die Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar sind aus Kreuzungen zwischen europäischen Sorten bzw. einem in Deutschland entwickeltem Zuchtstamm mit hauptsächlich europäischen Sorten als Eltern, entstanden. Bei der Entwicklung dieser Sorten wurde unter ähnlichen klimatischen Bedingungen auf dieselben Merkmale selektiert (Ertrag, Qualität und agronomische Eigenschaften). Die genetische Variation innerhalb der beiden Kartierungspopulationen basiert also auf einem relativ ähnlichen genetischen Hintergrund. Es ist daher möglich, dass einige spaltende Resistenzloci in diesen Populationen nur einen geringen Effekt auf den sichtbaren Fusariumbefall haben, der aufgrund vorhandener Umwelteinflüsse trotz künstlicher Inokulation nicht detektierbar ist.

Der geringe Polymorphiegrad bei den getesteten SSR-Markern von weniger als 30% kann wohl auf die relativ enge genetische Basis der Dream/Lynx- und G16-92/Hussar-Population zurück geführt werden. Die vier wichtigsten Resistenz-QTLs der Dream/Lynx-Population auf den Chromosomen 6AL, 1B-1, 2B und 7BS und der QTL auf 1A-1 der Population G16-92/Hussar sind am Ende der entsprechenden Kopplungsgruppen lokalisiert. Auch die Position der Resistenz-QTLs an den Enden der Kopplungsgruppen, könnte im Zusammenhang mit der engen genetischen Verwandtschaft der Kreuzungspartner stehen. Bei der Entwicklung von Dream und G16-92 wurde phänotypisch auf geringen Fusariumbefall und damit auch auf genomische Regionen mit Resistenzgenloci selektiert bzw. angrenzende genomische Bereiche mit negativen Effekten wurden entfernt. Da Dream und G16-92 jeweils mit einer Sorte aus demselben bzw. aus einem ähnlichem Genpool (Lynx und Hussar) gekreuzt wurden, könnte dies dazu geführt haben, dass Regionen neben einem Resistenz-

QTL nur einen geringen Polymorphiegrad bei DNA-Markern aufweisen und die Kopplungsgruppen damit enden.

Ein weiterer Grund für die Positionen der QTLs an den Enden der Kopplungsgruppen könnte mit der physikalischen Position dieser QTLs auf den Chromosomen im Zusammenhang stehen. Die QTLs auf Chromosom 6AL, 1B-1 und 7BS, sowie 1A-1 sind möglicherweise nahe am Centromer lokalisiert sind, einer Region in der Rekombinationsereignisse in der Regel selten sind.

Trotz der engen genetischen Basis konnten durch die Verwendung der AFLP-Methode in beiden Populationen etwa 650 polymorphe molekulare Marker generiert werden. Allerdings wurden häufig Marker-Cluster beobachtet und es konnten nur ca. 300 informative Marker in beiden Populationen für die QTL-Analysen verwendet werden. Insbesondere das D-Genom konnte nur unzureichend erfasst werden. Dies lässt auf ein stark konserviertes D-Genom in den Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar schließen. Aus diesem Grund sind Loci mit einem großen Effekt auf die Fusariumresistenz im D-Genom bei diesen Populationen nicht zu erwarten. Das Problem einer unzureichenden Erfassung des D-Genoms ist nicht ungewöhnlich bei Kartierungsprojekten im Weizen. Für die Kartierung des D-Genoms mit RFLP-Markern wurde aufgrund des geringen Polymorphiegrads der Donor des D-Genoms *Triticum tauschii* für die Entwicklung von Kartierungspopulationen verwendet (Lagudah et al. 1991). Es wurden auch Projekte gestartet, die sich speziell mit der Entwicklung von SSR-Markern für das D-Genom befassten (Pestsova et al. 2000).

Für den stabilen Resistenz-QTL auf der Kopplungsgruppe 1A-1 der Population G16-92/Hussar kann nach dem Vergleich mit der entsprechenden Gruppe der Dream/Lynx-Population vermutet werden, dass dieser QTL auf dem kurzen Arm des Chromosoms 1A in der Region des Centromers lokalisiert war. Klahr et al. (2004) identifizierten in einer Cansas/Ritmo-Population einen Resistenz-QTL auf Chromosomen 1A. Dieser QTL auf 1A wurde in einer von sechs Umwelten der Evaluierung der Resistenzeigenschaften detektiert. Aufgrund der veröffentlichten Daten ist allerdings keine Aussage möglich, ob dieser QTL auf dem kurzen Arm des Chromosoms 1A lokalisiert ist.

Ein bedeutender Resistenz-QTL der Dream/Lynx-Population wurde auf Chromosom 6AL identifiziert. Basierend auf den kartierten SSR-Markern in dieser Kopplungsgruppe kann vermutet werden, dass dieser QTL nahe dem Centromer lokalisiert war. Steiner et al. (2004) haben nach Evaluierung einer Frontana/Remus-Population mittels Punkt- und Sprühhinokulation einen QTL für die TypII-Resistenz auf Chromosom 6AL identifiziert. Dieser QTL war allerdings in Richtung distales Ende des Chromosoms 6A lokalisiert (Steiner, pers. Mitteilung).

Bei dem in der Population Dream/Lynx identifiziertem Resistenz-QTL auf Chromosom 1B-1 stammte das Resistenzallel von Lynx. Keine der fünf Linien der Population, die einen signifikant höheren Befall aufwiesen als Lynx, trugen in der QTL-Region auf 1B-1 das Allel von Lynx. Dieser QTL auf 1B-1 ist möglicherweise mit einer T1BL.1RS-Weizen-Roggen-Translokation gekoppelt oder direkt auf dem Roggenarm lokalisiert. Alle DNA-Marker in der QTL-Region zeigten eine signifikante Abweichung von der erwarteten 1:1 Spaltung und waren fast vollständig miteinander gekoppelt, einschließlich des STS-Markers IAG95 und des SSR-Markers GWM18. Mit IAG95 können DNA-Fragmente amplifiziert werden, die diagnostisch für die Weizen-Roggen-Translokationen T1AL.1RS und T1BL.1RS sind (Mohler et al. 2001). Die Untersuchung von Dream und Lynx mit dem IAG95 Marker zeigte, dass Lynx die 1BL.1RS-Translokation trägt. In der Referenzkarte von Röder et al. (1998) ist der Marker GWM18 am Centromer von Chromosom 1B lokalisiert und nicht eindeutig dem langen oder dem kurzen Arm zugeordnet. Die 33 AFLP-Marker, sowie der IAG95 und der SSR-Marker GWM18 kartieren innerhalb einer genetischen Distanz von nur 3,1 cM. Eine eindeutige Anordnung dieser Marker zu ermitteln, war nicht möglich, da nur bei vier Linien eine Rekombination wahrscheinlich erschien und sich die Markerdaten in der QTL-Region ansonsten nur geringfügig unterscheiden. Wäre der Resistenz-QTL auf dem Roggenarm lokalisiert, sollte zwischen den Markern in dieser Region keine Rekombination stattgefunden haben. Letztlich ist keine eindeutige Aussage über die Lokalisierung des Resistenz-QTLs auf Chromosom 1B in der Population Dream/Lynx möglich.

Der Resistenz-QTL auf Chromosom 1B-1, der in der Umwelt Freising 2002 mittels SIM- und CIM-Analysen detektiert wurde liegt in einer ähnlichen Region des Chromosoms verglichen mit dem Resistenz-QTL der Dream/Lynx-Population. Hussar besitzt die T1BL.1RS-Translokation, allerdings stammt das Resistenzallel von G16-92. Der IAG95 Marker hat eine genetische Distanz zum QTL-Intervall von etwa 8cM. Es scheint daher unwahrscheinlich zu sein, dass es sich bei den Resistenz-QTLs der Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar um identische Loci handelt.

Ittu et al. (2000) untersuchten eine Population von RILs nach Punktinokulation mit *Fusarium graminearum*. Die RILs wurden aus der Kreuzung zwischen einer anfälligen Winterweizen-Linie (F1054W) und der moderat resistenten Sorte Sincron entwickelt. Der Resistenzdonor Sincron ist eine T1BL.1RS-Translokationsorte. Die Eltern und damit auch die RILs unterschieden sich u.a. durch das *GliB1*- bzw. *GliR1*-Allel. Ittu et al. (2000) berichten von einer signifikanten Steigerung der Fusariumresistenz im Zusammenhang mit dem *GliR1*-Allel, welches sich auf dem transloziertem Roggenarm 1RS befindet. Sie vermuteten eine Kopplung zwischen einem Resistenz-QTL, der auf dem Weizenarm 1BL lokalisiert war und dem *GliR1*-Allel.

Shen et al. (2003a) identifizierten in einer Fundulea 201R/Patterson-Population einen Resistenz-QTL auf Chromosom 1B. Die SSR-Marker in der QTL-Region GWM273, GWM413, GWM264, Barc137, Barc8 und GWM18 zeigten alle eine gestörte Spaltung, waren sehr eng miteinander gekoppelt und umfassten eine genetische Distanz von nur 3,2cM. Die SSR-Marker dieser Gruppe sind nach den Referenzkarten von Röder et al. (1998) und der GrainGenes Datenbank (<http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/maps.shtml>) am Centromer von 1B lokalisiert und nicht eindeutig dem langen oder kurzem Chromosomenarm zugeordnet. Das Resistenzallel dieses QTLs stammt von der Linie Fundulea 201R, welche die T1BL.1RS-Translokation trägt. Da zwischen den SSR-Markern in der QTL-Region Rekombinationen stattgefunden haben, wenn auch mit sehr geringer Frequenz, vermuten Shen et al. (2003a), dass der Resistenz-QTL nicht auf dem Roggenarm lokalisiert ist.

Mohler et al. (2002) haben gezeigt, dass der Markerlocus aACT/CAA einen hohen Verwandtschaftsgrad im Genom von Gerste, Weizen und Roggen hat. aACT/CAA ist eine resistenzgenanaloge Sequenz (resistance gene analog, RGA) mit großer Ähnlichkeit zu diversen NBS-LRR-Resistenzproteinen. Der RGA-Marker aACT/CAA wurde auf den homöologen Chromosomenarmen 1S kartiert und weist einen Zusammenhang mit den Resistenzgenen *Mla1* (Gerste) und *Pm17* (Roggen), sowie einem Fusariumresistenz-QTL im Weizen auf. Im Weizen ist der Marker aACT/CAA auf dem Chromosom 1DS lokalisiert. Auf dem Roggenarm kartiert aACT/CAA in der Nähe von IAG95. Unter Umständen führte die T1BL.1RS-Translokation von Lynx auch auf Grund dieser resistenzgenanalogen Sequenz zu einer verbesserten Fusariumresistenz.

Klahr et al. (2004) identifizierten in einer Cansas/Ritmo-Population einen Resistenz-QTL für die Mittelwerte über die Umwelten auf dem Chromosom 1B am Ende der Kopplungsgruppe. Weiterhin wurden von Buerstmayr et al. (2002) in der Sommerweizen-Population CM-82036/Remus nach Punktinokulation ein Resistenz-QTL auf dem Chromosomen 1B identifiziert. Steiner et al. (2004) detektierten einen Resistenz-QTL in einer Frontana/Remus-Population nach Sprüh- und Punktinokulation auf Chromosomen 1B. Der Effekt auf eine verminderte Infektionsrate zu Beginn der Befallsentwicklung (Incidence) und auf eine verminderte relative Schwere des Befalls stammt von Remus. Mentewab et al. (2000) untersuchten Substitutionslinien von *Triticum macha* Chromosomen im Hintergrund der Linie `Hobbit Sib` nach Sprühinokulation und konnten einen Zusammenhang zwischen dem Chromosom 1B und der Fusariumresistenz feststellen. Aufgrund der Daten dieser Veröffentlichungen und der vorliegenden Arbeit können keine eindeutigen Aussagen über gemeinsame bzw. unterschiedliche Lokalisierungen der Resistenzloci gemacht werden. Für das Chromosom 1B konnte in unterschiedlichen genetischen Hintergründen eine Verbindung mit einem verminderten Fusariumbefall festgestellt werden. Dieser Zusammenhang scheint nicht generell von der Präsenz einer T1BL.1RS-Translokation abhängig zu sein.

In den Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar wurde je ein Resistenz-QTL auf dem langen Arm von Chromosom 2B identifiziert. Die Resistenz-QTLs auf 2BL waren in beiden Populationen in einer ähnlichen Region des Chromosoms lokalisiert. In der Dream/Lynx-Population flankierte der AFLP-Marker P74M53\_272 die QTL-Region und war ca. 20cM von dem SSR-Marker GWM47 entfernt. Der QTL in der G16-92/Hussar-Population wurde vom SSR-Marker GWM47 flankiert. Die genetische Distanz zwischen GWM47 und dem AFLP-Marker P74M53\_272 betrug hier ca. 40cM. Es scheint sich daher um unterschiedliche Loci in den Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar zu handeln.

Steiner et al. (2004) haben eine Frontana/Remus-Population nach Punkt- und Sprühinokulation untersucht und zwei QTLs auf Chromosom 2B identifiziert. Ein QTL wurde sowohl nach Punkt- als auch nach Sprühinokulation identifiziert. Dieser QTL ist auf dem langen Arm des Chromosoms 2BL in der Nähe des SSR-Markers GWM120 lokalisiert (Steiner, pers. Mitteilung). In der Opata/W7984-Karte von Röder et al. (1998) wurde GWM120 mit einer genetischen Distanz von ca. 17cM zu GWM47 kartiert. Dieser QTL liegt also möglicherweise in einer ähnlichen Region des Chromosoms verglichen mit dem QTL in der Population G16-92/Hussar. Ein zweiter QTL ausschließlich für die Ausbreitungsresistenz (TyplI) konnte in der Frontana/Remus-Population ebenfalls auf Chromosom 2BL identifiziert werden. Dieser QTL wurde von GWM526 flankiert (Steiner, pers. Mitteilung). Basierend auf der Karte von Röder et al. (1998) ist GWM526 eher in Richtung des distalen Endes des langen Arms von Chromosoms 2B lokalisiert. Daher könnte dieser zweite Resistenz-QTL in der Frontana/Remus-Population in einer ähnlichen chromosomalen Region positioniert sein wie der Resistenz-QTL auf 2BL der Dream/Lynx-Population.

Zhou et al. (2002a) identifizierten in einer Sommerweizen-Population, die aus der Kreuzung zwischen der resistenten Linie Ning7840 (von Sumai3 abgeleitet) und der anfälligen Sorte Clark entwickelt wurde, einen QTL für TyplI-Resistenz auf Chromosom 2BL. Die QTL-Region wurde von den SSR-Markern GWM120 und Barc101 flankiert. Zhou et al. (2002b) untersuchten Substitutionslinien, die über Kreuzungen zwischen monosomen Linien von Chinese Spring mit Sumai3 entwickelt wurden. Diese Substitutionslinien wurden mit SSR-Markern genotypisiert und hinsichtlich der TyplI-Resistenz evaluiert. Substitutionslinien mit den Chromosomen 2B, 3B, 6B und 7A von Sumai3 zeigten einen positiven Effekt auf die TyplI-Resistenz. Aufgrund der Ergebnisse von Zhou et al. (2002a/b) scheint auch Sumai3 einen Locus auf Chromosom 2B zu besitzen, der einen positiven Effekt auf die TyplI-Resistenz hat. In der vorliegenden Arbeit wurden die Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar phänotypisch nach Sprühinokulation charakterisiert. Mit dieser Methode wird die kombinierte Ausprägung der Typl- und TyplI-Resistenz erfasst. Nach Punktinokulation wäre ein stärkerer Effekt der QTLs auf 2BL bei beiden Populationen auf die TyplI-Resistenz denkbar.



In der Ning7840/Clark-Population berichteten Zhou et al. (2002a) von einem signifikantem epistatischen Effekt von *Qfhs.ndsu-3BS* über den QTL auf 2BL. Dass in anderen Arbeiten mit Sumai3 als Resistenzdonor kein Resistenz-QTL auf 2BL identifiziert wurde, könnte im Zusammenhang mit dem epistatischen Effekt des bedeutenden 3BS-QTLs über den QTL auf 2BL stehen. Gervais et al. (2003) stellten nach zweifaktoriellen Varianzanalysen signifikante epistatische Effekt zwischen dem Marker FBA118b auf Chromosom 1A und dem Marker GWM611 auf Chromosom 7B fest. Auch in klassischen genetischen Studien im Winterweizen mit Nachkommen aus diallelen Kreuzungen wurden epistatische Interaktionen zwischen Fusariumresistenzloci beobachtet (Snijders 1990a/b; Bai et al. 2000; Buerstmayr et al. 2000). In der Population G16-92/Hussar wurden mittels CIM-Analysen für die Befallsmittelwerte über die Umwelten 2002 ein schwacher, aber signifikanter epistatischer Effekt des QTLs auf 1A-1 über den QTL auf 2BL festgestellt. In den Umwelten Freising, Hohenheim und Wetze, in denen beide QTLs detektiert wurden, konnte dagegen kein signifikanter epistatischer Effekt des QTLs auf 1A-1 über den QTL auf 2BL beobachtet werden.

Eine gesicherte Aussage über die epistatische Interaktion zwischen den beiden QTLs auf 1A-1 und 2BL in der Population G16-92/Hussar ist aufgrund der Populationsgröße von 136 Linien nicht möglich. Für die Untersuchung von epistatischen Interaktionen sind Populationen mit deutlich mehr Linien notwendig als üblicherweise für experimentelle QTL-Analysen eingesetzt werden (Melchinger et al. 1998, Asins 2002). Epistatische Effekte zwischen Resistenzgenloci sind für die Züchtung unerwünscht, da das additive Potential unterschiedlicher Gene bei einer Pyramidisierung nicht vollständig ausgeschöpft würde.

Ein bedeutender Resistenz-QTL konnte in der Population Dream/Lynx auf Chromosom 7BS identifiziert werden. Dieser Resistenz-QTL war in der Nähe des SSR-Markers GWM46 lokalisiert. Die Evaluierung einer Ning7840/Freedom Population nach der Inokulation mit infizierten Maispflanzenresten und die Genotypisierung der Linien mit SSR-Markern durch Gupta et al. (2000) ergab einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Marker GWM46 und erhöhter Resistenz gegen Ährenfusarien. Nach Punktinokulationen der Linien im Gewächshaus konnte allerdings keine Verbindung zwischen GWM46 und erhöhter TypII-Resistenz festgestellt werden. Aufgrund der Ergebnisse von Gupta et al. (2000) kann vermutet werden, dass ein Resistenzlocus auf dem Chromosom 7BS mit dem SSR-Marker GWM46 in Verbindung steht, der vorwiegend einen Effekt auf die TypI-Resistenz hat.

Ei-Badawy (2001) evaluierte eine Sgv.NBxMM.Sum3/Apollo-Population nach Sprühinokulation und identifizierte einen Resistenz-QTL auf Chromosom 7BS. Dieser Resistenz-QTL war etwa 18cM vom SSR-Marker GWM46 in Richtung des distalen Endes des kurzen Schenkels entfernt. Der Resistenz-QTL der Population Dream/Lynx ist etwa 8cM von

GWM46 entfernt, allerdings ist mangels weiterer SSR-Marker eine eindeutige Orientierung dieser Kopplungsgruppe nicht möglich.

Shen et al. (2004) analysierten 19 Chinese Spring –*Lophopyrum elongatum* Substitutionslinien auf ihre Resistenzeigenschaften nach Sprühhinokulation und konnten einen Zusammenhang zwischen der Substitutionslinie mit dem Chromosomen 7B und der Fusariumresistenz feststellen. In einer Cansas/Ritmo-Population wurden von Klahr et al. (2004) nach künstlicher Infektion bei codominanter Auswertung der Markerdaten ein Resistenz-QTL für die Mittelwerte über sechs Umwelten auf dem Chromosomen 7B identifiziert. Basierend auf den veröffentlichten Daten ist eine Aussage über die Lokalisierung dieses QTLs auf dem Chromosom 7B nicht möglich.

In der Population Dream/Lynx konnten über CIM neben den Resistenz-QTLs auf 6AL, 1B-1, 2BL und 7BS weitere Resistenz-QTLs in einzelnen Umwelten auf den Kopplungsgruppen 3A-2, 5A-2, X3 und X7 detektiert werden. Aufgrund der SSR-Marker GWM155 (3AL) bzw. GWM595 (5AL) in den Kopplungsgruppen 3A-2 und 5A-2 wird vermutet, dass die QTLs auf dem langen Arm der Chromosomen 3A und 5A lokalisiert sind. Von einer Lokalisierung von Fusariumresistenzloci und dem langen Arm des Chromosoms 3A wurde bereits von Gupta et al. (2000), Anderson et al. (2001), Steiner et al. (2004), Paillard et al. (2004) berichtet. Resistenzloci auf dem langen Arm von Chromosom 5A wurden von Gupta et al. (2000), Gervais et al. (2003), Paillard et al. (2004) identifiziert.

In der Population G16-92/Hussar wurden auf den Kopplungsgruppen 3B-3, 5B-3 und X1 in einzelnen Umwelten Resistenz-QTLs mittels CIM detektiert. Die Gruppen 3B-3 und 5B-3 wurden aufgrund der nulli-tetrasomen-Analysen mit AFLP-Markern dem Chromosom 3B bzw. 5B zugeordnet. Da in diesen Kopplungsgruppen keine SSR-Marker kartierten, war eine Zuordnung zu dem kurzen oder langen Arm der Chromosomen nicht möglich.

#### **4.3 Colokalisierung von Resistenz-QTLs und QTLs für Wuchshöhe und den Zeitpunkt des Ährenschiebens**

Ein wichtiger Aspekt bei der Beurteilung von QTL-Analysen ist die häufig beobachtete Überlappung von Fusariumresistenz-QTLs mit QTLs für Merkmale, die einen Einfluss auf die Etablierung der Infektion haben, wie die Wuchshöhe und der Blühzeitpunkt. Für diese überlappenden QTL-Regionen kann diskutiert werden, ob ein verminderter Befall durch einen Locus für eine physiologische Resistenzeigenschaft hervorgerufen wird oder zumindest teilweise durch die Morphologie bzw. das Entwicklungsstadium der Pflanzen entsteht.

In den Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar wurde eine signifikante negative Korrelation zwischen dem sichtbaren Befall und der Wuchshöhe beobachtet. Bei den Resistenz-QTLs 6AL der Population Dream/Lynx und 1A-1 der Population G16-92/Hussar wurde eine Überlappung mit einem QTL für Wuchshöhe festgestellt. Linien mit den Allelen von Dream bzw. Hussar tendierten zu einer größeren Wuchshöhe und wiesen einen geringeren Befall auf.

Genotypen mit einer großen Halmlänge zeigen bei natürlicher Infektion einen geringeren Befall verglichen mit kurzstrohigen Genotypen (Mesterházy 1995). Da Genotypen mit großer Wuchshöhe auch nach Sprühhinokulation zu einem geringen Befall neigen (Hilton et al. 1999, Buerstmayr et al. 2000, Gervais et al. 2003, Paillard et al. 2004, Steiner et al. 2004), kann vermutet werden, dass dieser Zusammenhang eine genetische Ursache hat. Das Merkmal Wuchshöhe wird ebenso wie die Fusariumresistenz quantitativ vererbt. Im Allgemeinen sind in europäischen Sorten verschiedene Verzweigungsgene (*Rht*) vorhanden. Über die Präsenz von *Rht*-Genen bei den Kreuzungseltern Dream und Lynx bzw. G16-92 und Hussar sind keine Informationen verfügbar. Eine Aussage, ob im genetischen Hintergrund der beiden Kartierungspopulationen *Rht*-Gene in den QTL-Regionen spalten, ist daher nicht möglich.

In der Dream/Lynx-Population wurde auch eine signifikante negative Korrelation zwischen der Befallsstärke und dem Zeitpunkt des Ährenschiebens festgestellt. In der Region des Resistenz-QTLs auf 7BS der Population Dream/Lynx wurde auch ein QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens lokalisiert. Linien mit dem Allel von Dream in der QTL-Region waren im Schnitt ein bis zwei Tage später im Ährenschieben. Verglichen mit der gesamten Variation im Zeitpunkt des Ährenschiebens innerhalb der Population von bis zu acht Tagen, ist dieser Effekt des 7BS-QTLs relativ gering. Insbesondere wenn man berücksichtigt, dass Dream etwa 3,5 Tage später in seiner Entwicklung ist als Lynx. Neben dem QTL auf 7BS wurde noch ein weiterer Resistenz-QTL in einzelnen Umwelten auf der Kopplungsgruppe 5A-2 detektiert, welcher mit einem QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens überlappte. Das Allel von Lynx führte hier zu einem geringeren Befall und spätem Ährenschieben. Zusätzlich wurden drei weitere QTLs für den Zeitpunkt des Ährenschiebens identifiziert, welche unabhängig von den Resistenzeigenschaften waren und einen vergleichbaren Effekt auf das Ährenschieben hatten wie der QTL auf 7BS.

In der G16-92/Hussar konnte eine signifikante positive Korrelation zwischen der Befallsstärke und dem Zeitpunkt des Ährenschiebens beobachtet werden. Der anfällige Elter Hussar war im Durchschnitt etwa 1,5 Tage später im Zeitpunkt des Ährenschiebens verglichen mit G16-92. Ein Resistenz-QTL wurde in der Kopplungsgruppe 3B-3 für die Umwelt 2001 detektiert. Dieser QTL überlappte mit einem QTL für den Zeitpunkt des

Ährenschiebens. Linien mit dem Allel von Hussar in der QTL-Region neigten zu vermindertem Befall und späterem Ährenschieben.

Von einer Korrelation zwischen dem sichtbaren Befall und der Wuchshöhe bzw. dem Zeitpunkt des Ährenschiebens/Blühzeitpunktes nach Sprühhinokulation, sowie von Überlappungen wichtiger Resistenz-QTLs mit QTLs für Wuchshöhe und/oder QTLs für das Entwicklungsstadium berichten u.a. El-Badawy (2001), Gervais et al. (2003) und Paillard et al. (2004).

Bei zwei der drei stabilen Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 2BS und 5A, die Gervais et al. (2003) in der Population Renan/Recital identifizierten, waren Überlappungen mit QTLs für Wuchshöhe vorhanden. Ein QTL für Wuchshöhe wurde in einer ähnlichen Region des Chromosoms 5A auch in der Population Dream/Lynx detektiert. In der Region des Resistenz-QTLs auf 2BS identifizierten Gervais et al. (2003) auch einen QTL für den Blühzeitpunkt. Die Kreuzungseltern Renan und Recital unterschieden sich deutlich in der Wuchshöhe und im Blühzeitpunkt. Der Resistenzdonor Renan hatte im Durchschnitt eine um 8cm größere Wuchshöhe und war acht Tage später im Blühzeitpunkt verglichen mit Recital. Genotypen mit den Allelen von Renan in den QTL-Regionen waren weniger stark befallen, hatten eine größere Wuchshöhe und waren später beim Blühzeitpunkt.

Paillard et al. (2004) identifizierten in einer Arina/Forno-Population drei stabile Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 4AL, 5BL und 6DL. In der Region des QTLs auf 6DL mit dem größten Effekt auf die Resistenz wurde auch ein QTL für Wuchshöhe lokalisiert. Zudem wurde eine Kollokalisierung zwischen den wichtigen Resistenz-QTLs auf 5BL und 6DL mit QTLs für den Zeitpunkt des Ährenschiebens festgestellt. Der Resistenzdonor Arina hatte verglichen mit Forno im Durchschnitt eine 17,5cm größere Wuchshöhe und war einen Tag später im Zeitpunkt des Ährenschiebens. Linien mit dem Allel von Arina in der Region des 6DL-QTLs waren weniger stark befallen, hatten eine größere Wuchshöhe und waren später im Ährenschieben. Das Allel von Forno in der QTL-Region auf 5BL bewirkt einen verminderten Befall und späteres Ährenschieben.

Gervais et al. (2003) detektierten einen QTL ausschließlich für Wuchshöhe auf dem Chromosom 6D. In der Arina/Forno-Population wurde ein QTL ausschließlich für Wuchshöhe auf dem Chromosom 1AS detektiert (Paillard et al. 2004). Sowohl in der Arina/Forno- als auch in der Dream/Lynx-Population wurde ein QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens auf dem langen Arm von Chromosom 7B detektiert. Ob die QTLs für Wuchshöhe auf 6D der Populationen Arina/Forno und Renan/Recital in vergleichbaren Regionen des Chromosoms lokalisiert sind, kann aufgrund der vorhandenen Daten nicht festgestellt werden. Dies gilt auch für die QTLs für Wuchshöhe auf 1AS der Arina/Forno-Population und auf 1A-1 der G16-

92/Hussar-Population sowie für die QTLs für den Zeitpunkt des Ährenschiebens auf 7BL der Arina/Forno- bzw. Dream/Lynx-Population.

In einer Sgv.NBxMM.Sum3/Apollo-Population wurde eine positive Korrelation zwischen der Befallsstärke und der Wuchshöhe, sowie zwischen der Befallsstärke und dem Zeitpunkt des Ährenschiebens beobachtet (El-Badawy 2001). Es wurde ein Resistenz-QTL auf Chromosom 7BS identifiziert, welcher mit einem QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens und einem QTL für Wuchshöhe überlappte. Der resistente Elter Sgv.NBxMM.Sum3 hatte eine geringere Wuchshöhe und war früher im Ährenschieben verglichen mit dem anfälligen Elter Apollo. Das Resistenzallel des QTLs auf 7BS führte hier zu einem früheren Ährenschieben und zu einer kürzeren Halmlänge.

In den genannten Veröffentlichungen von El-Badawy (2001), Gervais et al. (2003) und Paillard et al. (2004), wie auch in der vorliegenden Arbeit wurde die künstliche Infektion der Populationen mittels Sprühinokulation vorgenommen. Die Linien wurden nicht spezifisch nach Entwicklungsstadium inokuliert, sondern die Sprühinokulation erfolgte jeweils für die gesamte Population. Eine erste Inokulation wurde durchgeführt, als sich der überwiegende Anteil der Linien in der Blüte befand. Die Inokulation wurde, entsprechend der Variation innerhalb der Populationen, mehrfach wiederholt. Es ist durchaus vorstellbar, dass bei Linien, die sehr früh oder sehr spät blühen, die erste Inokulation nicht zum optimalen Zeitpunkt erfolgte und somit ein vergleichsweise geringer Befallsdruck erzeugt wurde. Bei einer Inokulation, die spezifisch für jede Linie vorgenommen wird, kann ein Versuchsfehler dieser Art vermieden werden.

Für überlappende QTL-Regionen stellt sich die Frage, wie groß der tatsächliche Effekt eines Resistenz-QTLs ist und ob ein verminderter Befall aus der Morphologie bzw. aus dem Entwicklungsstadium der Pflanzen zum Zeitpunkt der Inokulation resultiert. Diese Frage ist insbesondere von Bedeutung, wenn bei mehreren bzw. allen identifizierten QTLs mit einem Effekt auf die Befallsstärke solche Überlappungen vorliegen. Für einen sinnvollen Einsatz von QTLs in der Züchtung sollte geklärt werden, ob ein genetischer Zusammenhang zwischen der physiologischen Resistenz und z.B. der Wuchshöhe besteht. Die Nutzung von Resistenz-QTLs in der Züchtung über eine MAS, bei denen ein genetischer Zusammenhang zur Wuchshöhe besteht, erscheint vor der Validierung der Ergebnisse nicht ratsam. Sollten bei überlappenden QTL-Regionen, Resistenzloci mit einem pleiotropen Effekt auf die Wuchshöhe vorliegen (oder umgekehrt), ist der Nutzen dieser Loci für die Züchtung fragwürdig, da im Allgemeinen kurzstrohige Sorten bevorzugt werden. Im Falle einer Kopplung von Loci für Fusariumresistenz und Wuchshöhe, wäre die Durchbrechung dieser Kopplung mit einem großen Aufwand verbunden. Eine Aussage, über einen möglichen genetischen Zusammenhang zwischen Befallsstärke und Wuchshöhe ist mit Populationen,

die üblicherweise für experimentelle QTL-Analysen verwendet werden (100 bis 300 Linien), nicht möglich. Für die Prüfung eines genetischen Zusammenhangs zwischen zwei Merkmalen sind entweder Kartierungspopulationen mit deutlich mehr Linien notwendig oder die Entwicklung von nah-isogene Linien, die nach gezielter Selektion von Linien mit Rekombination in den QTL-Regionen entwickelt werden (Melchinger et al. 1998, Asins 2002).

#### 4.4 Markervalidierung

Die Bewertung der Ergebnisse von QTL-Analysen ist schwierig. Viele Faktoren, wie die Qualität der genetischen Karte, die Methoden zur phänotypischen Evaluierung des Zielmerkmals, die Populationsgröße, die statistische Vorgehensweise bei den Analysen, Interaktionen zwischen identifizierten QTLs und die Colokalisierung von QTLs für verschiedene Merkmale haben einen Effekt auf QTL-Analysen und sollten bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden. Aufgrund der genannten Faktoren bzw. Probleme ist der Wert identifizierter QTLs für die Züchtung ausschließlich basierend auf den Ergebnissen von QTL-Analysen nur schwer einzuschätzen. Eine Validierung der Ergebnisse ist unbedingt notwendig, bevor Marker, die mit den identifizierten QTLs gekoppelt sind, in der Züchtung mittels MAS wirtschaftlich sinnvoll eingesetzt werden können.

In der vorliegenden Arbeit hatten die QTLs auf den Chromosomen 6AL, 7BS der Dream/Lynx- bzw. 2BL der G16-92/Hussar-Population den größten Effekt auf die erklärte phänotypische Varianz und wurden konstant in den verschiedenen Umwelten detektiert. Diese QTLs waren mit den SSR-Markern GWM82 (6AL), GWM46 (7BS) bzw. GWM47 (2BL) gekoppelt. Mit diesen Markern wurden die Linien einer Validierungspopulation mit einem unabhängigen genetischen Hintergrund klassifiziert.

Eine Voraussetzung für diese Untersuchungen war, dass die Marker diagnostisch für den entsprechenden Donor des Resistenzallels sind. Donor der Resistenzallele der QTLs auf 6AL und 7BS war Dream bzw. für den QTL auf 2BL G16-92. Der Marker GWM47 war sowohl in der Dream/Lynx- als auch in der G16-92/Hussar-Population polymorph. In der Dream/Lynx-Population konnte GWM47 allerdings nur dominant ausgewertet werden, da Dream für diesen Marker ein Nullallel besitzt. In der Validierungspopulation kann aufgrund des Bandenmusters von GWM47 daher keine Aussage über die Anwesenheit des Allels von Dream in den Linien gemacht werden. GWM47 ist in der Validierungspopulation also nicht vollständig diagnostisch für das Resistenzallel von G16-92.

Der Marker GWM46 war in der Population Dream/Lynx nach CIM-Analysen etwa 8cM von der Position des Resistenz-QTLs entfernt. Über eine Einzelmarkerregression konnte allerdings ein signifikanter Zusammenhang ( $p < 0,05$ ) zwischen GWM46 und der Befallsstärke festgestellt werden. Der Marker GWM46 bereitete bei der Genotypisierung der

Dream/Lynx-Population und der Validierungspopulation methodische Probleme. Der Polymorphismus zwischen dem Allel von Dream und den Alternativallelen von Lynx, G16-92, Hussar, Brando und LP235.1 basierte für diesen Marker auf einem Unterschied von etwa zwei Basenpaaren. Daher war die Auswertung des Bandenmusters von GWM46 häufig schwierig.

Aufgrund der genannten Probleme mit GWM47 und GWM46 wurde versucht andere SSR-Marker zu identifizieren, die in den entsprechenden QTL-Regionen auf 2BL bzw. 7BS kartieren. Es konnten allerdings keine SSR-Marker für diese Regionen identifiziert werden, die in den Kartierungspopulationen polymorph waren und zusätzlich diagnostisch zwischen dem Resistenzallel und den übrigen Eltern der Validierungspopulation unterscheiden konnten. Zudem war es aufgrund der Aussaatplanung des EUREKA-Projektes nicht möglich, eine umfangreichere Suche nach geeigneten Markern durchzuführen.

Als mit der Entwicklung der Validierungspopulation begonnen wurde, befanden sich die Linien der Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar in der  $F_4$ -Generation, d.h. 12,5% der Linien waren heterozygot für spaltende Loci. Da noch keine molekulargenetischen Informationen über die Linien der Kartierungspopulationen vorlagen, bestand das Risiko ungeeignete Linien für die Kreuzungen zu verwenden, also Linien, welche die zu validierenden Markerallele heterozygot oder rezessiv tragen. Deshalb wurden je drei verschiedene phänotypisch resistente Linien der Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar für die Entwicklung der Validierungspopulation mit Brando bzw. LP235.1 gekreuzt. Auf diese Weise sind neun Subpopulationen entstanden, die für jeden Markerlocus genetisch einer  $BC_1$  entsprechen, d.h. in jeder Subpopulation ist für einen Markerlocus eine 1:1 Spaltung zu erwarten ( $1 Rr : rr$ ). Nach der Genotypisierung der Subpopulationen wurden Chi-Quadrat-Tests für die spaltenden Markerdaten durchgeführt. Eine 1:1 Spaltung konnte bei den meisten Subpopulationen für alle drei Markerloci festgestellt werden. Für eine signifikante Abweichung von einer 1:1 Spaltung war meist die rein phänotypisch basierte Auswahl der Donorlinien aus den Kartierungspopulationen verantwortlich. Für den Marker GWM47 wurde bei den Subpopulation 1, 4 und 7 eine signifikante Abweichung von der erwarteten 1:1 Spaltung zu beobachtet, stattdessen lag eine 1:3 Spaltung vor. Nur 1/4 der Linien in diesen Subpopulationen trugen das Markerallel von G16-92. Bei diesen Subpopulationen ist immer dieselbe Linie der G16-92/Hussar-Population (GH1) verkreuzt worden. Es ist davon auszugehen, dass bei dieser Linie zum Zeitpunkt der Kreuzung mit Brando das Resistenzallel nicht homozygot vorlag.

Bei den Subpopulationen 1, 2 und 3 war für den Marker GWM46 keine Spaltung festzustellen. Keine der Linien dieser Subpopulationen besaß das Markerallel von Dream. Bei diesen Subpopulationen ist immer die Linie DL1 der Population Dream/Lynx verkreuzt

worden. Hier ist davon auszugehen, dass diese Linie das Resistenzallel nicht trägt. Dies kann auch aufgrund der Markerdaten der Kartierungspopulation bestätigt werden. Die verwendete Linie besaß für das Markerintervall der QTL-Region (XS25M15\_187 und XS23M21\_497) das Allel von Lynx und nicht das Resistenzallel von Dream. Bei der Subpopulation 7 lag eine signifikante Abweichung von einer 1:1 Spaltung vor, obwohl die Subpopulationen 8 und 9 eine 1:1 Spaltung aufwiesen. Die Subpopulationen 7, 8 und 9 sind nach Kreuzungen mit der Linie DL3 der Dream/Lynx-Population entstanden. Bei der Entwicklung der Subpopulationen wurden unterschiedliche Pflanzen einer Donorlinien verwendet. Die Pflanze der Linie DL3, die für die Entwicklung der Subpopulation 8 mit Brando gekreuzt wurde, war vermutlich heterozygot für das Resistenzallel.

Nach der Untersuchung der Subpopulationen wurden die 576 Linien aufgrund der Markerdaten von GWM82, GWM46 und GWM47 klassifiziert. Über den Vergleich der Markerklassen mit den phänotypischen Daten der Linien aus den Feldversuche 2002 konnte für alle drei Marker ein Zusammenhang mit einer verbesserten Resistenz gegen Ährenfusarien festgestellt werden. Linien, bei denen alle drei Marker das Resistenzallel der QTLs auf 6AL, 7BS (Dream) und 2BL (G16-92) anzeigten, hatten einen durchschnittlichen Befall von 35,1%. Linien mit den alternativen Allelen wiesen einen Befall von 43,3% auf. Der Unterschied in der Befallsstärke von 8,2% zwischen Linien mit allen drei Markern und Linien ohne Marker war signifikant.

Der Effekt des QTLs auf 6AL auf die Wuchshöhe aus der Kartierungspopulation Dream/Lynx ist auch in der Validierungspopulation zu beobachten. Linien der Validierungspopulation mit dem Allel von Dream in der QTL-Region auf 6AL hatten eine 6 bis 7cm größere Wuchshöhe. Ein Einfluss des QTLs auf 7BS auf den Zeitpunkt des Ährenschiebens war in der Validierungspopulation nicht mehr zu beobachten.

Über die Präsenz weiterer Loci mit einem Effekt auf die Resistenzeigenschaften im genetischen Hintergrund der Validierungspopulation, die durch die beteiligten Kreuzungspartner eingebracht wurden, können keine Aussagen gemacht werden. Basierend auf der eindeutig befallsvermindernden Wirkung der drei Resistenz-QTLs 6AL, 7BS und 2BL in der Validierungspopulation wird aber vermutet, dass mögliche Effekte anderer Loci eine geringe Bedeutung haben.

Die hier vorgestellten vorläufigen Ergebnisse der Markervalidierung basieren auf dem Effekt heterozygot bzw. spaltend vorliegender QTLs, deren An- bzw. Abwesenheit in den Linien der Validierungspopulation durch die Marker GWM82, GWM46 und GWM47 angezeigt wurde. Die befallsvermindernden Effekte der QTLs auf den Chromosomen 6AL, 7BS und 2BL sollen im weiteren Verlauf des EUREKA-Projektes bestätigt werden. Es wurden 26 Einzelpflanzen identifiziert, bei denen die Markeranalysen alle drei Resistenzallele anzeigten. Diese Pflanzen wurden geselbstet und die Selbstungsnachkommen (ca. 2600 Linien) wurden



erneut mit den drei SSR-Markern GWM82, GWM46 und GWM47 klassifiziert. Die Resistenzeigenschaften von 10 bis 20 Linien jeder Klassenkombination (3 Marker, 2 Marker usw.) sollen in vierortigen Feldversuchen 2005 evaluiert werden. Der Vergleich der unterschiedlichen Markerklassen mit den phänotypischen Daten wird zeigen, ob sich die Tendenz zur verbesserten Resistenz der Linien, welche die Resistenz-QTLs im homozygoten Zustand tragen, bestätigt.

Die Entwicklung der hier als Validierungspopulation bezeichneten Linien hatte noch einen weiteren Hintergrund. Die Linien mit den verschiedenen Markerklassen sind über die Übertragung der Resistenz-QTLs durch eine markergestützte Rückkreuzung in leistungsfähige, aber anfällige Sorten (Brando, LP235.1) entstanden. Neben der Validierung der Marker/QTLs soll basierend auf den Ergebnissen der Feldversuche 2005 der Erfolg einer markergestützten Selektion mit dem Erfolg einer parallel durchgeführten phänotypischen Selektion verglichen werden.

#### 4.5 Ausblick

In dieser Arbeit wurden QTL-Analysen in zwei verschiedenen Winterweizen-Populationen durchgeführt, um unterschiedliche Resistenzgenloci zu identifizieren. Drei bedeutende Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 6AL, 7BS und 2BL waren in verschiedenen Umwelten konstant detektierbar und mit SSR-Markern gekoppelt. Die vorläufigen Ergebnisse einer Validierung der SSR-Marker in einem unabhängigen genetischen Hintergrund bestätigten eine Assoziation dieser Marker mit einer verbesserten Fusariumresistenz. Für eine gesicherte Aussage über den Wert dieser identifizierten QTLs und zur Entwicklung von Selektionsmarkern für die Züchtung von fusariumresistenten Sorten sind weitere Untersuchungen notwendig.

Das Genom des Weizens mit etwa  $1,7 \times 10^{10}$  Basenpaare im haploiden Zustand (Arumuganathan und Earle 1991) ist bei derzeitigem Stand der Technik zu groß für eine Sequenzierung des gesamten Genoms. Daher müssen für die Identifizierung von Kandidatengenomen andere Strategien entwickelt werden. Eine mögliche Strategie mit dieser Zielsetzung ist die Entwicklung von Populationen zur Erstellung von hochauflösenden genetischen Karten ('Finemapping') für die bedeutenden Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 6AL, 7BS und 2BL. Mit einem entsprechenden Projekt wurde beispielsweise für die *Qfhs.ndsu-3BS*-Region bereits begonnen (Liu und Anderson 2003b).

Für die Entwicklung einer solchen Population sind Linien der Kartierungspopulationen interessant, bei denen Rekombinationsereignisse in der QTL-Region stattgefunden haben. Solche rekombinanten Linien können über die flankierenden Marker des QTLs identifiziert werden. Nach wiederholter Rückkreuzung der Donorlinie mit dem anfälligen Elter der Population und markergestützter Selektion auf die QTL-Region entsteht eine Population von

Linien, die innerhalb der QTL-Region spaltet. Alternativ dazu könnten auch Linien der F<sub>4</sub>-Generation der Kartierungspopulationen, die in der QTL-Region spalten, mehrfach geselbstet werden. Nach jeder Selbstung müssen wiederum Linien, die in der QTL-Region spalten, markergestützt selektiert und geselbstet werden. Beide Strategien führen zur Entwicklung einer Population von nah-isogenen Linien (NILs), die in der QTL-Region spalten, im genetischen Hintergrund jedoch weitgehend fixiert sind und zur Feinkartierung dieser Region verwendet werden können. Für die Positionierung eines QTLs in der hochauflösenden genetischen Karte ist eine präzise phänotypische Charakterisierung der Feinkartierungspopulation notwendig.

Da in einigen chromosomalen Regionen Rekombinationsereignisse relativ selten stattfinden, kann auch eine sehr geringe genetische Distanz zwischen zwei Markern physikalisch einem großen Bereich eines Weizenchromosoms entsprechen (Hohmann et al. 1994). Hinweise über die physikalische Lokalisierung und den Umfang einer QTL-Region auf den Chromosomen des Weizens kann die Untersuchung von Chinese Spring-Deletionslinien mit den Markern der QTL-Region liefern (Endo und Gill 1996).

Ausgehend von einer hochauflösenden genetischen Karte und basierend auf den Sequenzinformationen eines möglichst engen Markerintervalls für eine QTL-Region kann über die Entwicklung von BAC-Bibliotheken (**B**acterial **A**rtificial **C**hromosome) eine physikalische Karte dieser Region erstellt werden. Die Analyse der BAC-Klone führt möglicherweise zur Identifizierung von Kandidatengenen (‘Map based cloning’, ‘positional cloning’). In einem Projekt basierend auf einer ‘Map based cloning’ Strategie wurde beispielsweise das Braunrostresistenzgen *Lr10* (‘leaf rust’) auf dem Chromosom 1AS des hexaploidem Weizens isoliert (Stein et al. 2000, Feuillet et al. 2003).

In der Familie der Gräser besteht für einige konservierte genomische Regionen Synthenie zwischen den Arten (Devos und Gale 2000). So haben z.B. Mohler et al. (2002) gezeigt, dass der Marker aACT/CAA, der einer resistenzgenanalogen Sequenz (**r**esistance **g**ene **a**nalog, RGA) entspricht, einen hohen Verwandtschaftsgrad im Genom von Gerste, Weizen und Roggen hat. Dieser Marker kartiert auf den homöologen Chromosomenarmen 1S und weist einen Zusammenhang mit den Resistenzgenen *Mla1* (Gerste) und *Pm17* (Roggen), sowie einem Fusariumresistenz-QTL im Weizen auf. Liu und Anderson (2003b) haben zur Anreicherung der genetischen Karte der *Qfhs.ndsu-3BS*-Region mit zusätzlichen Markern die Synthenie des 3BS Chromosoms mit dem Chromosom 1S von Reis genutzt (Gallego et al. 1998). Da das verhältnismäßig kleine Reisgenom nahezu vollständig sequenziert ist, können Weizen-ESTs (**E**xpressed **S**equences **T**ags) die in einer konservierten Regionen des Reisgenoms lokalisiert sind, genutzt werden, um Kandidatengene zu identifizieren. Liu und Anderson (2003b) haben STS-Primer von Weizen-ESTs abgeleitet, die homolog zu den

Sequenzen von RFLP-Markern in der 1S-Region waren und so polymorphe Marker für die *Qfhs.ndsu-3BS*-Region entwickelt. Die Nutzung der Synthese zwischen den Arten der Familie der Gräser wäre auch bei der Feinkartierung der Resistenz-QTLs auf 6AL, 7BS und 2BL vorstellbar.

Auf molekularbiologischer Ebene ist über die Pathogen-Wirt-Interaktion zwischen Ährenfusarien und Weizen wenig bekannt. Bisher liegen nur wenige Ergebnisse von Expressionsanalysen vor, die mit resistenten und anfälligen Weizengenotypen nach der Infektion mit Fusariumpilzen durchgeführt wurden. Pritsch et al. (2000) haben in vergleichenden Untersuchungen mit dem resistenten Genotyp Sumai3 und der anfälligen Sorte Wheaton nach der Infektion mit *F. graminearum* Unterschiede bei der Transkriptakkumulation von Resistenzgenen festgestellt. Transkripte von Genen, die für PR-Proteine (pathogene related proteins), wie Peroxidasen,  $\beta$ -1,3-Glukanasen, Chitinasen und Thaumatin-ähnliche Proteine codieren, wurden bei Sumai3 verglichen mit Wheaton zu einem früheren Zeitpunkt und in einem größeren Ausmaß akkumuliert.

Auch die NILs für die identifizierten QTLs könnten genutzt werden, um die differenzielle Expression nach künstlicher Inokulation zu untersuchen. Dabei stehen verschiedene Techniken zur Verfügung. So könnten Microarrays, wie der Affymetrix®GeneChip, verwendet werden, um die Expression von Genen bzw. von ESTs zu studieren. Die Methode der cDNA-AFLPs würde direkt die Klonierung von differenziell exprimierten Kandidatengenen ermöglichen. Speziell gering exprimierte Gene könnten damit effektiv erfasst werden (Bachem et al. 1996). Diese Methode wurde bei Weizen bereits erfolgreich für die Identifizierung von Genen der Weizen/Braunrost-Interaktion (Zhang et al. 2003) und der Ährenmorphologie (Kojima et al. 2000) eingesetzt.

Neben der direkten Sequenzierung von Kandidatengenen könnten auch eng gekoppelte selektive Marker aus kodierenden Bereichen für die QTLs entwickelt werden (Herz et al. 2004). Kartieren diese Marker in einer QTL-Region, liegt vermutlich Kopplung oder Cosegregation für ein Kandidatengen und den QTL vor.

Zur Aufklärung der Funktion identifizierter Kandidatengene, können z.B. mittels siRNA (short interfering RNA) Knock-out-Mutanten erzeugt werden, bei denen gezielt die Expression des Kandidatengens unterdrückt wird. Vergleichenden Untersuchungen der Mutationslinie und des Wildtyps erlauben Rückschlüsse auf die Funktion des Kandidatengens.

Sollten die weiterführenden Untersuchungen ergeben, dass die QTLs auf 6AL, 7BS und 2BL einen verifizierbaren positiven Effekt auf die Fusariumresistenz haben oder sogar die verantwortlichen Gene identifiziert werden, könnten diese Loci mit geeigneten DNA-Markern über eine MAS für die Züchtung von resistenten Sorten eingesetzt werden. Den Vorteilen der

MAS, also z.B. der Unabhängigkeit von Umwelteinflüssen und der mögliche Einsatz in einer frühen Generation des Zuchtschemas, stehen die Kosten für die Untersuchungen einer große Anzahl von Linien mit den Markern gegenüber. Diese Kosten dürfen die Einsparungen bei den Faktoren Zeit und Arbeitsaufwand bei konventioneller Züchtung nicht übersteigen. Entscheidend für den sinnvollen Einsatz einer MAS wird sein, als wie groß sich die nutzbaren Effekte der einzelnen QTLs auf die Fusariumresistenz erweisen.

Der molekulargenetisch am besten charakterisierte Genotyp Sumai3 wurde bisher auch am intensivsten als Resistenzquelle in der Züchtung verwendet, insbesondere in den USA. Verglichen mit dem wichtigen Resistenz-QTL *Qfhs.ndsu-3BS* von Sumai3 haben die in dieser Arbeit identifizierten Loci auf den Chromosomen 6AL, 7BS und 2BL einen eher moderaten Effekt auf die Ausprägung der Fusariumresistenz. Sumai3 stammt aus China, ist somit nicht an die mitteleuropäischen Klimabedingungen adaptiert und vererbt negative agronomische Eigenschaften, wie z.B. einen geringen Ertrag (Ruckenbauer et al. 2001, Rudd et al. 2001). Aufgrund der großen Anzahl an unerwünschten Genen, die in nicht adaptierten Zuchtmaterial zu erwarten sind, besteht bei der Einführung von Resistenzloci in heimische Sorten ein hohes Risiko, gekoppelte Gene mit unerwünschten Effekten (‘Linkage drag’) mit zu übertragen. Dies trifft insbesondere auf quantitative Merkmale zu. Mit der Verwendung von geeigneten DNA-Markern kann das Risiko des ‘Linkage drag’ aus exotischen Resistenzquellen in adaptiertes Material vermindert werden. Allerdings ist eine große Anzahl an Marker-gestützten Rückkreuzungen notwendig um das Resistenzniveau im adaptiertem Material ohne Verluste bei Ertrag und Qualität zu erhalten. Für die heimische Resistenzzüchtung ist es deshalb von Interesse potentielle Resistenzdonoren des europäischen Winterweizen-Genpools molekulargenetisch zu charakterisieren. Die in dieser Arbeit untersuchten Resistenzdonoren Dream und G16-92 sind an das mitteleuropäische Klima adaptiert und besitzen im Vergleich mit Sumai3 auch relativ gute agronomische Eigenschaften.

Ein wichtiges Einsatzgebiet der MAS, ist die gezielte Anreicherung von Resistenzloci in Kreuzungspartnern vor Beginn des eigentlichen Zuchtschemas. Die wichtigsten bisher im Zusammenhang mit Sumai3 identifizierten Resistenz-QTLs wurden auf den Chromosomen 3BS, 6BS und 5A (Anderson et al. 2001; Buerstmayr et al. 2002) lokalisiert. Dagegen wurden die wichtigsten Resistenz-QTLs der Populationen Dream/Lynx und G16-92/Hussar auf den Chromosomen 6AL, 2BL und 7BS identifiziert. Daher ist eine Kombination dieser QTLs/Resistenzgene (Pyramidisierung) denkbar. Basierend auf den Ergebnissen von Zhou et al. (2002a/b), Gupta et al (2000) und El-Badawy (2000) scheint auch Sumai3 Resistenzloci auf den Chromosomen 2BL und 7BS zu besitzen. Sollten bei Sumai3 und Dream bzw. G16-92 identische Loci auf 2BL und 7BS vorliegen, so wäre eine Nutzung dieser Loci für die Züchtung aus dem adaptiertem Material effizienter.

## 5 Zusammenfassung

Die Ährenfusarien des Saatweizens (*Triticum aestivum* L.) haben in den letzten Jahren weltweit an Bedeutung gewonnen. Die wichtigsten Krankheitserreger der partiellen Taubährigkeit, *Fusarium graminearum* und *F. culmorum*, produzieren in Körnern infizierter Pflanzen Mykotoxine, welche die Gesundheit von Mensch und Tier beeinträchtigen können.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Identifizierung von Fusariumresistenzloci in zwei adaptierten Winterweizen-Populationen. Die 145 bzw. 136 rekombinanten Inzuchtlinien (recombinant inbred lines, RILs) der Populationen sind aus den Kreuzungen 1) zwischen der resistenten deutschen Sorte Dream und der anfälligen britischen Sorte Lynx und 2) zwischen der resistenten Linie G16-92 und der anfälligen britischen Sorte Hussar entwickelt worden. Für die Kartierung von Resistenz-QTLs (quantitative trait loci) wurden die Populationen mit AFLP- und SSR-Markern genotypisiert und hinsichtlich ihrer Resistenzeigenschaften in vierortigen Feldversuchen 2002 nach Sprühhinokulation mit einer *F. culmorum*-Konidien-suspension evaluiert.

In der Dream/Lynx-Population konnten nach CIM-Analysen (composite interval mapping) vier Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 6AL, 1B, 2BL und 7BS für die Befallsmittelwerte über die Versuchsstandorte identifiziert werden, die zusammen 40% der phänotypischen Varianz erklären. In der G16-92/Hussar-Population wurden mittels CIM zwei Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 1A und 2BL für die Befallsmittelwerte über die Versuchsstandorte identifiziert, die zusammen 24% der phänotypischen Varianz erklären. Für die beiden QTLs auf Chromosom 2B in den Populationen wird aufgrund ihrer unterschiedlichen Positionen auf dem langen Schenkel vermutet, dass diese Loci nicht identisch sind. Bei den Resistenz-QTLs auf 6AL und 1A liegt eine Colokalisierung mit QTLs für Wuchshöhe vor. Der Resistenz-QTL auf 7BS überlappt mit einem QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens.

Die drei bedeutendsten QTLs auf den Chromosomen 6AL und 7BS der Dream/Lynx- bzw. auf 2BL der G16-92/Hussar-Population erklären jeweils 17% der phänotypischen Varianz der Befallsmittelwerte. Donor der Resistenzallele der QTLs auf 6AL und 7BS ist Dream bzw. G16-92 für den QTL auf 2BL. Diese QTLs sind mit den SSR-Markern GWM82, GWM46 und GWM47 gekoppelt. Die befallsvermindernden Effekte dieser drei QTLs/Marker konnten in einem unabhängigen genetischen Hintergrund verifiziert werden. Dies zeigt, dass die identifizierten Resistenz-QTLs auf den Chromosomen 6AL, 7BS und 2BL über den Einsatz einer markergestützte Selektion einen potentiellen Nutzen für die heimische Züchtung von fusariumresistenten Sorten haben.

## 6 Summary

Fusarium head blight (FHB, scab) of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) is of increasing importance worldwide. The major causal pathogens of FHB, *Fusarium graminearum* and *F. culmorum*, are capable of producing mycotoxins in the kernels of infected plants harmful for humans and animals.

In this study quantitative trait loci (QTL) associated with FHB resistance were identified in two adapted winter wheat recombinant inbred line (RIL) populations. These two mapping populations were developed by crossing 1) the resistant German cultivar Dream with the susceptible British cultivar Lynx and 2) the resistant line G16-92 with the susceptible British cultivar Hussar. For the construction of genetic maps the RILs of the populations were genotyped using AFLP and SSR markers. The response of the populations to spray inoculation of a *F. culmorum* suspension was evaluated in field trials at four locations in 2002.

In the population Dream/Lynx four FHB resistance QTLs were identified on the chromosomes 6AL, 1B, 2BL and 7BS by composite interval mapping (CIM) for FHB severity means across the locations explaining together 40% of the phenotypic variance. In the G16-92/Hussar population two QTLs associated with FHB resistance located on the chromosomes 1A and 2BL were detected by CIM for FHB severity means across the locations explaining together 25% of the phenotypic variance. Because of the different positions of the QTLs identified on chromosome 2BL in both populations, these loci are not supposed to be identical. The resistance QTLs on 6AL and 1A partly overlapped with QTLs for plant height and the resistance QTL on 7BS coincided with a QTL for heading date.

Each of the major resistance QTLs on 6AL and 7BS identified in the Dream/Lynx population and the QTL on 2BL in the G16-92/Hussar population explained 17% of the phenotypic variance for the FHB means. Donor of the resistance allele for the QTLs on 6AL and 7BS is Dream and for the QTL on 2BL G16-92. These QTLs are linked with the SSR markers GWM82, GWM46 and GWM47, respectively. The association of these three markers/QTLs with an increasing FHB resistance was confirmed in an independent genetic background. These results indicate that the three major FHB resistance QTLs on chromosomes 6AL, 7BS and 2BL could be valuable for breeding resistant cultivars using marker assisted selection.

## 7 Literaturverzeichnis

- Anderson JA, Ogihara Y, Sorrells ME, Tanksley SD (1992): Development of a chromosomal-arm map for wheat based on RFPL markers. *Theoretical and Applied Genetics* 83: 1035-1043.
- Anderson JA, Stack RW, Liu S, Waldron BL, Fjeld AD, Coyne C, Moreno-Sevilla B, Mitchell Fetch J, Song QJ, Cregan PB, Froberg RC (2001): DNA markers for *Fusarium* head blight resistance QTLs in two wheat populations. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 1164-1168.
- Anonym (2002): Die Beschreibende Sortenliste vom Bundessortenamt in Hannover, ISSN 09 48–41 67, Deutscher Landwirtschaftsverlag GmbH, Postfach 14 40, 30014 Hannover.
- Anonym (2004): Verordnung zur Änderung der Mykotoxin-Höchstmengenverordnung und der Diät Verordnung vom 4. Februar 2004. *Bundesgesetzblatt 2004 Teil I, Nr. 5, 151, Bonn, Deutschland*
- Argyris J, Van Sanford D, TeKrony D (2003): *Fusarium graminearum* infection during wheat seed development and its effect on seed quality. *Crop Science* 43: 1782-1788.
- Arumuganathan E, Earle ED (1991): Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Molecular Biology Reports* 9: 208-218.
- Asins MJ (2002): Present and future of quantitative trait locus analysis in plant breeding. Review. *Plant Breeding* 121: 281-291.
- Bachem CWB, van der Hoeven RS, de Bruijn SM, Vreugdenhill D, Zabeau M, Visser RGF (1996): Visualization of differential gene expression using a novel method of RNA fingerprinting based on AFLP: Analysis of gene expression during potato tuber development. *The Plant Journal* 9: 745-753.
- Bai GH, Shaner G (1994): Scab of wheat: Prospect for control. *Plant Disease* 78: 760-766.
- Bai GH, Kolb FL, Shaner G, Domier LL (1999): Amplified fragment length polymorphism markers linked to major quantitative trait locus controlling scab resistance in wheat. *Phytopathology* 89: 343-348.
- Bai GH, Shaner G, Ohm H (2000): Inheritance of resistance to *Fusarium graminearum* in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 100: 1-8.
- Bai GH, Plattner R, Desjardins A, Kolb F (2001): Resistance to *Fusarium* head blight and deoxynivalenol accumulation in wheat. *Plant Breeding* 120: 1-6.
- Bai GH, Guo P, Kolb FL (2003): Genetic relationships among head blight resistant cultivars of wheat assessed on the basis of molecular markers. *Crop Science* 43: 498-507.
- Ban T (2001): Studies on the genetics of resistance to *Fusarium* head blight caused by *Fusarium graminearum* Schwabe in wheat (*Triticum aestivum* L.). *The Bulletin of the Kyushu National Agricultural Experiment Station No.38*: 27-78.
- Ban T, Suenaga K (2000): Genetic analysis of resistance to *Fusarium* head blight caused by *Fusarium graminearum* in Chinese wheat cultivar Sumai 3 and the Japanese cultivar Saikai 165. *Euphytica* 113: 87-99.
- Beck R, Lepschy J (2000): Ergebnisse aus dem *Fusarium*-Monitoring 1989 – 1999- Einfluss der produktionstechnischen Faktoren Fruchtfolge und Bodenbearbeitung. *Schriftenreihe der Bayerischen Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau 3/00*: 39-47.
- Bottalico A (1998): *Fusarium* diseases of cereals: Species complex and related mycotoxins profile in Europe. *Journal of Plant Pathology* 80: 85-103.
- Bottalico A, Perrone G (2002): Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *European Journal of Plant Pathology* 108: 611-624.
- Bourdoncle W, Ohm HW (2003): Quantitative trait loci for resistance to *Fusarium* head blight in recombinant inbred wheat lines from the cross Huapei 57-2/Patterson. *Euphytica* 131: 131-136.
- Bryan GJ, Collins AJ, Stephenson P, Orry A, Smith JB, Gale MD (1997): Isolation and characterisation of microsatellites from hexaploid bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 94: 557-563.
- Buerstmayr H, Lemmens M, Grausgruber H, Ruckenbauer P (1996): Scab resistance of international wheat germplasm. *Cereal Research Communications* 24: 195-202.

- Buerstmayr H, Lemmens M, Fedak G, Ruckenbauer P (1999): Back-cross reciprocal monosomic analysis of Fusarium head blight resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). Theoretical and Applied Genetics 98: 76-85.
- Buerstmayr H, Steiner B, Lemmens M, Ruckenbauer P (2000): Resistance to Fusarium head blight in two winter wheat crosses: heritability and trait associations. Crop Science 40: 1012-1018.
- Buerstmayr H, Lemmens M, Hartl L, Doldi L, Steiner B, Stierschneider M, Ruckenbauer P (2002): Molecular mapping of QTLs for Fusarium head blight resistance in spring wheat. I. Resistance to fungal spread (type II resistance). Theoretical and Applied Genetics 104: 84-91
- Buerstmayr H, Stierschneider M, Steiner B, Lemmens M, Griesser M, Nevo E, Fahima T (2003a): Variation for resistance to head blight caused by *Fusarium graminearum* in wild emmer (*Triticum dicoccoides*) originating from Israel. Euphytica 130: 17-23.
- Buerstmayr H, Steiner B, Hartl L, Griesser M, Angerer N, Lengauer D, Miedaner T, Schneider B, Lemmens M (2003b): Molecular mapping of QTL for Fusarium head blight resistance in spring wheat. II. Resistance to fungal penetration and spread. Theoretical and Applied Genetics 107: 503-508.
- Chao SP, Sharp PJ, Worland AJ, Warham EJ, Koebner RMD, Gale MD (1989): RFLP-based genetic maps of wheat homeologous group 7 chromosomes. Theoretical and Applied Genetics 78: 493-504.
- Churchill GG, Dorege RW (1994): Empirical threshold values for quantitative trait mapping. Genetics 138: 963-971.
- Del Blanco IA, Froberg RC, Stack RW, Berzonsky WA, Kianian, S.F. (2003): Detection of QTL linked to Fusarium head blight resistance in Sumai3-derived North Dakota bread wheat lines. Theoretical and Applied Genetics 106: 1027-1031.
- Devos KM, Atkinson MD, Chinoy CN, Gale MD (1992): RFLP-based genetic map of the homeologous group 3 chromosomes of wheat and rye. Theoretical and Applied Genetics 83: 931-939.
- Devos KM, Milan T, Gale MD (1993): Comparative RFLP maps of the homeologous group-2 chromosomes of wheat, rye and barley. Theoretical and Applied Genetics 85: 784-792.
- Devos KM, Gale MD (2000): Genome relationships: the grass model in current research. The Plant Cell 12: 637-646.
- Dill-Macky R, Jones RK (2000): The effect of previous crop residues and tillage on Fusarium head blight of wheat. Plant Disease 84: 71-76.
- Dill-Macky R (2003): Inoculation methods and evaluation of Fusarium head blight resistance in wheat. In: Leonard K.J. and Bushnell W.R. (eds). American Phytopathology Society Press, St. Paul, MN, p. 184-210.
- Endo TR, Gill BS (1996): The deletion stocks of common wheat. Journal of Heredity 87: 295-307.
- El-Badawy M (2001): Localization and characterization of quantitative trait loci for fusarium head blight resistance in wheat by means of molecular markers. (PhD thesis) Technische Universität München. <http://tumb1.biblio.tu-muenchen.de/publ/diss/ww/2001/badawy.pdf>
- Eujayl I, Sorrells ME, Baum M, Wolters P, Powell W (2002): Isolation of EST-derived microsatellite marker for genotyping the A and B genome of wheat. Theoretical and Applied Genetics 104: 399-407.
- Fehr WR (1987): Principles of Cultivar Development, vol 1, Theory and Technique. Macmillan Publ. Comp. New York, USA.
- Feuillet C, Travella S, Stein N, Albar L, Nublat A, Keller B (2003): Map-based isolation of the leaf rust disease resistance gene *Lr10* from the hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) genome. Plant Biology 100: 15253-15258.
- Gallego F, Feuillet C, Messmer M, Penger A, Graner A, Yano M, Sasaki T, Keller B (1998): Comparative mapping of the two wheat leaf rust resistance loci *Lr1* and *Lr10* in rice and barley. Genome 41: 328-336.
- Gao LF, Jing RL., Huo NX, Li Y, Zhou RH, Chang XP, Tang JF, Ma ZY, Jia JZ (2004): One hundred and one new microsatellite loci derived from ESTs (EST-SSRs) in bread wheat. Theoretical and Applied Genetics 108: 1392-1400.



- Gervais L, Dedryver F, Morlais J-Y, Bodusseau V, Negre S, Bilous M, Groos C, Trottet M (2003): Mapping of quantitative trait loci for field resistance to *Fusarium* head blight in an European winter wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 106: 961-970.
- Gonzalez-Hernandez JL, Del Blanco A, Berzonsky B, Kianian SF (2002): Genetic analysis of type II *Fusarium* head blight (FHB) resistance in the hexaploid wheat cultivar 'Wangshubai'. National *Fusarium* Head Blight Forum, 7-9 Dec. 2002, Cincinnati, p. 29.
- Guo PG, Bai GH, Shaner GE (2003): AFLP and STS tagging of a major QTL for *Fusarium* head blight resistance in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 106: 1011-1017.
- Gupta PK, Varshney RK, Sharma PC, Ramesh B (1999): Molecular markers and their applications in wheat breeding. *Plant Breeding* 118: 369-390.
- Gupta PK, Varshney RK (2000): The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica* 113: 163-185.
- Gupta A, Lipps PE, Campell KG (2000): Finding quantitative trait locus associated with *Fusarium* head blight of wheat using simple sequence repeat markers. Proceedings of the 2000 National *Fusarium* Head Blight Forum Erlanger, KY. 10-12 Dec. 2000, Michigan State University, East Lansing, MI, p. 28-32.
- Gupta PK, Balyan HS, Edwards KJ, Isaac P, Korzun V, Röder M, Gautier M-F, Joudrier P, Schlatter AR, Dubcovsky J, De la Pena RC, Khairallah M, Penner G, Hayden MJ, Sharp P, Keller B, Wang RCC, Hardouin JP, Jack P, Leroy P (2002): Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 105: 413-422.
- Hackett CA (2002): Statistical methods for QTL mapping in cereals. *Plant Molecular Biology* 48: 585-599.
- Haldane JBS (1919): The combination of linkage values, and the calculation of distances between loci of linked factors. *Journal of Genetics* 8: 299-309.
- Haley CS, Knott SA (1992): A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. *Heredity* 69: 315-324.
- Hart GE, Gale MD (1990) Biochemical/molecular loci of hexaploid wheat (*Triticum aestivum*,  $2n = 42$ , genomes AABBDD). In *Genetic maps*. Vol. 5, edited by SJ O'Brien. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY. 6.28-6.38.
- Hartl L, Mohler V, Zeller FJ, Hsam SLK, Schweizer G (1999): Identification of AFLP markers closely linked to the powdery mildew resistance genes *Pm1c* and *Pm4a* in common wheat. *Genome* 42: 322-329.
- Hazen SP, Leroy P, Ward RW (2002): AFLP in *Triticum aestivum* L.: patterns of genetic diversity and genome distribution. *Euphytica* 125: 89-102.
- Herz M, Mikolajewski S, Hartl L, Baumer M, Schweizer G (2004): Development of functional genetic markers by combination of cDNA-AFLP analysis based expression profiling and marker assisted genotype pooling. Proceedings of the 9<sup>th</sup> International Barley Genetics Symposium, Brno, Czech Republic 20-26 June 2004, p. 154-159.
- Hilton AJ, Jenkinson P, Hollins TW, Parry DW (1999): Relationship between cultivar height and severity of *Fusarium* ear blight in wheat. *Plant Pathology* 48: 202-208.
- Holton TA, Christopher JT, McClure L, Harker N, Henry RJ (2002): Identification and mapping of polymorphic SSR markers from expressed gene sequences of barley and wheat. *Molecular Breeding* 9: 63-71.
- Hohmann U, Endo TR, Gill KS, Gill, BS (1994): Comparison of genetic and physical maps of group 7 chromosomes from *Triticum aestivum* L.. *Molecular and General Genetics* 245: 644-653.
- Ittu M, Săulescu N, Hagima I, Ittu G, Mustateă P (2000): Association of *Fusarium* head blight resistance with Gliadin loci in a winter wheat cross. *Crop Science* 40: 62-67.
- Jiang G, Wu Z, Huang D (1994): Effects of recurrent selection for resistance to scab (*Gibberella zeae*) in wheat. *Euphytica* 72: 107-113.
- Kang Z, Buchenauer H (2000): Cytology and ultrastructure of the infection of wheat spikes by *Fusarium culmorum*. *Mycological Research* 104: 1083-1093.

- Klahr A, Mohler V, Herz M, Wenzel G, Schwarz G (2004) Enhanced power of QTL detection for Fusarium head blight resistance in wheat by means of co-dominant scoring of AFLP and resistance gene analog markers. *Molecular Breeding* 13: 289-300.
- Knapp SJ, Bridges WC (1987): Confidence interval estimates for heritability for several mating and experimental designs. *Theoretical and Applied Genetics* 73: 759-763
- Knapp SJ, Bridges WC, Birkes D (1990): Mapping quantitative trait loci using molecular-marker linkage maps. *Theoretical and Applied Genetics* 79: 583-592.
- Kolb FL, Bai GH, Muehlbauer GJ, Anderson JA, Smith KP, Fedak G (2001): Host and plant resistance genes for Fusarium head blight: mapping and manipulation with molecular markers. *Crop Science* 41: 611-619.
- Kojima T, Habu Y, Iida S, Ogihara Y (2000): Direct isolation of differentially expressed genes from a specific chromosome region of common wheat: application of the amplified fragment length polymorphism-based mRNA fingerprinting (AMF) method in combination with a deletion line of wheat. *Molecular and General Genetics* 263: 635-641.
- Lagudah ES, Appels R, Brown AHD, McNeil D (1991): The molecular-genetic linkage analysis of *Triticum tauschii*, the D-genome donor to hexaploid bread wheat. *Genome* 34: 375-386.
- Lander, E.S.; Green, P.; Abrahamson, J.; Barlow, A.; Daly, M.J.; Lincoln, S.E.; Newburg L. (1987): MAPMAKER: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1: 174-181.
- Lander ES, Botstein D (1989): Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121: 185-199
- Liu S, Anderson A (2003a): Marker assisted evaluation of Fusarium head blight resistant wheat germplasm. *Crop Science* 43: 760-766.
- Liu S, Anderson A (2003b): Targeted molecular mapping of a major wheat QTL for Fusarium head blight resistance using wheat ESTs and synteny with rice. *Genome* 46: 817-823.
- Marino CL, Nelson JC, Lu YH, Sorrells ME, Leroy P, Tuleen NA, Lopes CR, Hart GE (1996): Molecular genetic maps of the group 6 chromosomes of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. Em. Thell.). *Genome* 39: 359-366.
- McCartney CA, Somers DJ, Fedak G, Cao W (2004): Haplotype diversity at Fusarium head blight resistance QTLs in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 109: 261-271.
- McMullen M, Jones R, Gallenberg D (1997): Scab of wheat and barley: a re-emerging disease of devastating impact. *Plant Disease* 81: 1340-1348.
- Melchinger AE, Utz HF, Schoen C (1998): Quantitative trait locus (QTL) mapping using different testers and independent population samples in maize reveals a low power of QTL detection and a large bias in estimates of QTL effects. *Genetics* 149: 383-403.
- Mentewab A, Rezanoor HN, Gosman N, Worland AJ, Nicolson P (2000): Chromosomal location of Fusarium head blight resistance genes and analysis of the relationship between resistance to head blight and brown foot rot. *Plant Breeding* 119: 15-20.
- Mesterházy Á (1989): Progress in breeding of wheat and corn not susceptible to infection by Fusaria. In: Chelkowski J. (ed), *Fusarium: Mycotoxins, Taxonomy and Pathogenicity*. Elsevier, Amsterdam, p. 357-386.
- Mesterházy Á (1995): Types and components of resistance to Fusarium head blight of wheat. *Plant Breeding* 114: 377-386.
- Mesterházy Á, Bartók T, Mirocha CG, Komoróczy R (1999): Nature of wheat resistance to Fusarium head blight and the role of deoxynivalenol for breeding. *Plant Breeding* 118: 97-110.
- Miedaner T, Gang G, Geiger HH (1996): Quantitative-genetic basis of aggressiveness of 42 isolates of *Fusarium culmorum* for winter rye head blight. *Plant Disease* 80: 500-504.
- Miedaner T (1997): Breeding wheat and rye for resistance to Fusarium diseases. *Plant Breeding* 116: 201-220.

- Miedaner T, Reinbrecht C, Lauber U, Schollenberger M, Geiger HH (2001): Effects of genotype and genotype-environment interaction on deoxynivalenol accumulation and resistance to Fusarium head blight in rye, triticale and wheat. *Plant Breeding* 120: 97-105
- Miller JD, Arnison PG (1986): Degradation of deoxynivalenol by suspension cultures of the Fusarium head blight resistant wheat cultivar Frontana. *Canadian Journal of Plant Pathology* 8: 147-150.
- Mohler V, Hsam SLK, Zeller FJ, Wenzel G (2001): An STS marker distinguishing the rye-derived powdery mildew resistance alleles at the *Pm8/Pm17* locus of common wheat. *Plant Breeding* 120: 484-450.
- Mohler V, Klahr A, Wenzel G, Schwarz G (2002): A resistance gene analog useful for targeting disease resistance genes against different pathogens on group 1S chromosomes of barley, wheat and rye. *Theoretical and Applied Genetics* 105: 364-368.
- Nelson JC, Sorrells ME, van Deynze AE, Lu HY, Atkinson M, Bernard M, Leroy P, Faris JD, Anderson JA (1995): Molecular mapping of wheat. Major genes and rearrangements in homeologous groups 4, 5 and 7. *Genetics* 141: 721-731.
- Obst A, Bechtel A (2000): Witterungsvoraussetzungen für den Ährenbefall des Weizens mit *Fusarium graminearum*. *Schriftenreihe der Bayerischen Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau* 3/00: 81-88.
- Obst A, Gammel P (2000): Fungizide gegen den Ährenparasiten *Fusarium graminearum*. *Schriftenreihe der Bayerischen Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau* 3/00: 89-98.
- Otto CD, Kianian SF, Elias EM, Stack RW, Joppa LR (2002): Genetic dissection of a major Fusarium head blight QTL in tetraploid wheat. *Plant Molecular Biology* 48: 625-632.
- Paillard, S, Schnurbusch T, Tiwari R, Messmer M, Winzeler M, Keller B, Schachermayr G (2004): QTL analysis of resistance to Fusarium head blight in Swiss winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 109: 323-332.
- Parry DW, Jenkinson P, McLeod L (1995): *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals – a review. *Plant Pathology* 44: 207-238.
- Pestsova E, Ganal MW, Röder MS (2000): Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome* 43: 689-697.
- Pirgozliev SR, Edwards SG, Hare MC, Jenkinson P (2003): Strategies for the control of Fusarium head blight in cereals. *European Journal of Plant Pathology* 109: 731-742.
- Pritsch C, Muehlbauer GJ, Bushnell WR, Somers DA, Vance CP (2000): Fungal development and induction of defense response genes during early infection of wheat spikes by *Fusarium graminearum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 13: 159-169.
- Röder MS, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier MH, Leroy P, Ganal MW (1998): A microsatellite map of wheat. *Genetics* 149: 2007-2023.
- Ruckenbauer P, Buerstmayr H, Lemmens M (2001): Present strategies in resistance breeding against scab (*Fusarium* spp.). *Euphytica* 119: 121-127.
- Rudd JC, Horsley RD, McKendry AL, Elias EM (2001): Host plant resistance genes for Fusarium head blight: Sources, mechanisms and utility in conventional breeding systems. *Crop Science* 41: 620-627.
- Saiki RK, Scharf S, Faloona FA, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N (1985): Enzymatic amplification of f1-globin sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230: 1350-1354.
- SAS Institute Inc. (2000): SAS User's Guide, Version 8.0, Cary, NC.
- Schroeder HW, Christensen JJ (1963): Factors affecting resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae*. *Phytopathology* 53: 831-838.
- Sears ER (1966): Nulli-tetrasomic combinations in hexaploid wheat. In: Riley, R. und Lewis, K.R. (ed.) *Chromosome manipulation and plant genetics*, a suppl. to *Heredity* 20: 29-45, Oliver and Boyd, Edinburgh.
- Shen X, Ittu M, Ohm H (2003a): Quantitative trait loci conditioning resistance to Fusarium head blight in wheat line F201R. *Crop Science* 43: 850-857.

- Shen X, Zhou M, Lu W, Ohm H (2003b): Detection of Fusarium head blight resistance QTL in a wheat population using bulked segregant analysis. *Theoretical and Applied Genetics* 106: 1041-1047.
- Shen X, Kong L, Ohm H (2004): Fusarium head blight resistance in hexaploid wheat (*Triticum aestivum*)-*Lophopyrum* genetic lines and tagging of the alien chromatin by PCR markers. *Theoretical and Applied Genetics* 108: 808-813.
- Simpson DR, Weston GE, Turner JA, Jennings P, Nicholson P (2001): Differential control of head blight pathogens of wheat by fungicides and consequences for mycotoxin contamination of grain. *European Journal of Plant Pathology* 107: 421-431.
- Snijders CHA (1990a): Diallel analysis of resistance to head blight cause by *Fusarium culmorum* in winter wheat. *Euphytica* 50: 1-9.
- Snijders CHA (1990b): The inheritance of resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum* in winter wheat. *Euphytica* 50: 11-18.
- Snijders CHA (1990c): Response to selection in F2 generations of winter wheat for resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum*. *Euphytica* 50: 163-169.
- Snijders CHA, Van Eeuwijk FA (1991): Genotype x strain interactions for resistance to Fusarium head blight caused by *Fusarium culmorum* in winter wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 81: 239-244.
- Soller M, Brody T, Genizi A (1976): On the power of experimental design for the detection of linkage between marker loci and quantitative loci in crosses between inbred lines. *Theoretical and Applied Genetics* 47: 35-39.
- Stack RW, Elias EM, Mitchell-Fetch J, Miller JD, Joppa LR (2002): Fusarium head blight reaction of Langdon Durum-*Triticum dicoccoides* chromosome substitution lines. *Crop Science* 42: 637-642.
- Stein N, Feuillet C, Wicker T, Schlagenhauf E, Keller B (2000): Subgenome chromosome walking in wheat: a 450-kb physical contig in *Triticum monococcum* L. spans the *Lr10* resistance locus in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Biology* 97: 13436-13441.
- Steiner B, Lemmens M, Griesser M, Scholz U, Schondelmaier J, Buerstmayr H (2004): Molecular mapping of resistance to Fusarium head blight in the spring wheat cultivar Frontana. *Theoretical and Applied Genetics* 109: 215-224.
- Stephenson P, Bryan G, Kirby J, Collins A, Devos KM, Busso C, Gale MD (1998): Fifty new microsatellite loci for the wheat genetic map. *Theoretical and Applied Genetics* 97: 946-949.
- Sudakin DL (2003): Trichothecenes in the environment: relevance to human health. *Toxicology Letters* 143: 97-107.
- Sutton JC (1982): Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 4:195-209.
- Tschanz AT, Horst RK, Nelson PE (1975): Ecological aspects of ascospore discharge in *Gibberella zeae*. *Phytopathology* 65: 597-599.
- Utz HF (2001): PLABSTAT: ein Computerprogramm zur statistischen Analyse von pflanzenzüchterischen Experimenten, Version 2P. Institute for Plant Breeding, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany.
- Utz HF, Melchinger AE (1994): Comparison of different approaches to interval mapping of quantitative trait loci. *Proceedings of the Ninth Meeting of the EUCARPIA Section Biometrics in Plant Breeding*, edited by J.W. Van Ooijen und J. Jansen, CPRO-DLO Wageningen, Niederlande, p. 195-204
- Utz HF, Melchinger AE (1995): PLABQTL: A computer program to map QTL, Version 1.0. Institute for Plant Breeding, Univ. of Hohenheim, Stuttgart, Germany.
- Utz HF, Melchinger AE (2000): PLABQTL: A computer program to map QTL, Version 1.1. Institute for Plant Breeding, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany.
- Van Eeuwijk FA, Mesterházy Á, Kling CI, Ruckebauer P, Saur L, Buerstmayr H, Lemmens M, Keizer LCP, Maurin N, Snijders CHA (1995): Assessing non-specificity of resistance in wheat to head blight caused by inoculation with European strains of *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* and *F. nivale* using a multiplicative model for interaction. *Theoretical and Applied Genetics* 90: 221-228.

- Van Ginkel M, Van Der Schaar W, Zhuping Y, Rajaram S (1996): Inheritance of resistance to scab in two wheat cultivars from Brazil and China. *Plant Disease* 80: 863-867.
- Van Sanford D, Anderson J, Campbell K, Costa J, Cregan P, Griffey C, Hayes P, Ward R (2001): Discovery and deployment of molecular markers linked to Fusarium head blight resistance: An integrated system for wheat and barley. *Crop Science* 41: 638-644.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, van de Lee T, Horens M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M (1995): AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4407-4414.
- Waldron BL, Moreno-Sevilla B, Anderson JA, Stack RW, Froberg RC (1999): RFLP mapping of QTL for Fusarium head blight resistance in wheat. *Crop Science* 39: 805-811.
- Wang YZ, Miller JD (1988): Effects of *Fusarium graminearum* metabolites on wheat tissue in relation to Fusarium head blight resistance. *Journal of Phytopathology* 122: 118-125.
- Wang Z, Weber JL, Zhong G, Tanksley SD (1994): Survey of plant short tandem repeats. *Theoretical and Applied Genetics* 88: 1-6.
- Wosnitza A (2000): Verbesserung der Fusariumresistenz-Bewertung bei Weizen. *Schriftenreihe der Bayerischen Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau* 3/00: 59-74.
- Yang ZP, Gilbert J, Somers DJ, Fedak G, Procnier JD, McKenzie IH (2003): Marker assisted selection of Fusarium head blight resistance genes in two doubled haploid populations of wheat. *Molecular Breeding* 12: 309-317.
- Zabeau M, Vos P (1993): Keygene, Wageningen. In European Patent Application, Publication NR 0 534 858 A1.
- Zeng Z-B (1994). Precision Mapping of Quantitative Trait Loci. *Genetics* 136:1457-1468.
- Zhang L, Meakin H, Dickinson M (2003): Isolation of genes expressed during compatible interactions between leaf rust (*Puccinia triticina*) and wheat using cDNA-AFLP. *Molecular Plant Pathology* 4: 469-477.
- Zhou WC, Kolb FL, Bai GH, Shaner G, Domier LL (2002a): Genetic analysis of scab resistance QTL in wheat with microsatellite and AFLP markers. *Genome* 45: 719-727.
- Zhou WC, Kolb FL, Bai GH, Domier LL, Yao JB (2002b): Effect of individual Sumai 3 chromosomes on resistance to scab spread within spikes and deoxynivalenol accumulation within kernels in wheat. *Hereditas* 137: 81-89.
- Zhou WC, Kolb FL, Bai GH, Domier LL, Boze LK, Smith NJ (2003): Validation of a major QTL for scab resistance with SSR markers and use of marker-assisted selection in wheat. *Plant Breeding* 122: 40-46.

## 8 Anhang

### 8.1 Abkürzungsverzeichnis

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
BAC	Bacterial artificial chromosome
CIM	Composite intervall mapping
DON	Deoxynivalenol
EST	Expressed sequence tags
LOD	Logarithm of odds
LSD	Least significant difference (Grenzdifferenz)
MAS	Marker assisted selection (markergestützte Selektion)
NILs	Near isogenic lines (nah-isogene Linien)
NIV	Nivalenol
PCR	Polymerase chain reaction
QTL	Quantitative trait loci
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphisms
RGA	Resistance gene analog
RILs	Recombinant inbred lines (rekombinante Inzuchtlinien)
SIM	Simple intervall mapping
SSD	Single seed descent (Einkornramsch)
SSR	Simple sequence repeat (Mikrosatelliten-Marker)
STS	Sequence tagged site
ZEA	Zearalenon

### 8.2 Chemikalienverzeichnis

#### DNA-Extraktion

##### Extraktionspuffer Monocotyl (Anderson et al. 1992)

100 mM TRIS	ICN BIOMEDECALS, Ohio
50 mM EDTA	MERCK, Darmstadt
500 mM Natriumchlorid	MERCK, Darmstadt
10 % SDS	MERCK, Darmstadt
3,8 g/l Natriumbisulfit (frisch zugegeben)	MERCK, Darmstadt

Chloroform-Isoamylalkohol	MERCK, Darmstadt
RNAse	ROTH, Karlsruhe
Isopropanol	MERCK, Darmstadt

##### Waschlösung I

76 % Ethanol	
0,2 M Natriumacetat-Trihydrat	MERCK, Darmstadt

##### Waschlösung II

76 % Ethanol	
10 mM Ammoniumacetat	MERCK, Darmstadt

##### TE-Puffer

10 mM TRIS, pH 8,0	ICN BIOMEDECALS, Ohio
1 mM EDTA, pH 8,0	MERCK, Darmstadt

##### 1%iges Agarosegel (für $\Sigma$ 100 ml)

Agarose (1g)	MERCK, Darmstadt
1x TBE-Puffer (100ml)	
Ethidiumbromid (10 $\mu$ l)	ROTH, Karlsruhe

10x TBE-Puffer  
0,89 M TRIS, pH 8,0  
0,89 M Borsäure  
0,5 M EDTA, pH 8,0

ICN BIOMEDECALS, Ohio  
ROTH, Karlsruhe  
MERCK, Darmstadt

### Reaktionslösungen für die AFLP-Technik und die SSR-Amplifikation

#### Restriktion/Ligation:

*Sse8387I*  
*PstI*  
*MseI*  
*Sse8387I*- bzw. *PstI*-Adapter  
*MseI*-Adapter  
T4-DNA Ligase  
ATP  
NEB2-Puffer  
BSA

BIOLABS, Schwalbach  
BIOLABS, Schwalbach  
BIOLABS, Schwalbach  
AMERSHAM, Braunschweig  
AMERSHAM, Braunschweig  
BIOLABS, England  
ROTH, Karlsruhe  
AMERSHAM, Braunschweig  
AMERSHAM, Braunschweig

#### Prä-<sup>1</sup> bzw. selektive Amplifikation<sup>2</sup>

*Sse8387I*- 00 bzw. *PstI*-03 Primer<sup>1</sup>  
*MseI*-00 / *MseI*-02 Primer<sup>1</sup>  
*Sse8387I*-NN / *PstI*-NNN Primer<sup>2</sup>  
*MseI*-NN / *MseI*-NNN Primer<sup>2</sup>  
*Taq*- Polymerase<sup>1,2</sup>  
dNTPs<sup>1,2</sup>  
MgCl<sub>2</sub><sup>1,2</sup>  
10x PCR Puffer<sup>1,2</sup>

METABION, München  
METABION, München  
METABION, München  
METABION, München  
EUROGENTEC, Belgien  
ROTH, Karlsruhe  
EUROGENTEC, Belgien  
EUROGENTEC, Belgien

#### SSR-Amplifikation

SSR-Primer  
dNTPs  
MgCl<sub>2</sub>  
Taq-Polymerase  
10x PCR Puffer

METABION, München  
ROTH, Karlsruhe  
EUROGENTEC, Belgien  
EUROGENTEC, Belgien  
EUROGENTEC, Belgien

### Gelelektrophorese

#### Elektrophoresepuffer 10x TBE

0,89 M TRIS, pH 8,0  
0,89 M Borsäure, p. a.  
0,5 M EDTA, pH 8,0

ICN BIOMEDECALS, Ohio  
ROTH, Karlsruhe  
MERCK, Darmstadt

Polyacrylamid-Gel, 5%ig (für Σ100 ml-Gel)  
8,8 M Harnstoff (in 85ml 10x TBE gelöst)  
12,5ml Acrylamid/Bisacrylamid (19:1)- 40%  
60µl TEMED  
260µl APS 10%  
2ml H<sub>2</sub>O bidest.

ICN BIOMEDECALS, Ohio  
ROTH, Karlsruhe  
MERCK, Darmstadt  
MERCK, Darmstadt

#### Loading Dye

500 ml Formamid  
150 mg Bromphenolblau  
150 mg Xylencyanol  
10 ml 0,5M EDTA, pH 8,0

ROTH, Karlsruhe  
PHARMACIA BIOTECH, Freiburg  
MERCK, Darmstadt  
MERCK, Darmstadt

#### 10x Blue Marker für Agarosegele

5,04 g Glycerin  
2ml 50x TBE  
Bromphenolblau

ROTH, Karlsruhe  
PHARMACIA BIOTECH, Freiburg

## **Danksagung**

Ich möchte Prof. Dr. Gerhard Wenzel für die Überlassung des Themas danken.

Mein ganz besonderer Dank gilt Dr. Lorenz Hartl für die umfassende Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit und die unermüdliche Bereitschaft zur Diskussion.

Herrn Dr. Günther Schweizer und Herrn Dr. Gerhard Zimmermann möchte ich für die fachliche Beratung herzlich danken.

Für die gute Zusammenarbeit bei den molekularen Arbeiten möchte ich mich insbesondere bei Frau Elena Madge-Pimentel und Frau Luise Logothetis bedanken.

Weiterhin danke ich den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe für Weizen für die Hilfe bei der Durchführung der Feldversuche.

Für die ausgesprochen gute Arbeitsatmosphäre und die Hilfsbereitschaft möchte ich mich bei folgenden Mitarbeitern der LfL bedanken: Dr. Markus Herz, Dr. Stephan Seefelder, Dr. Anita Behn, Yesu Song, Sabine Mikolajewski, Alfred Barth, Alexandra Jestadt, Petra Bauer und Gerti Michl.

Den Partnern des EUREKA-Projektes bin ich ausgesprochen dankbar für die gute Zusammenarbeit bei den Feldversuchen und die Beratung bei wissenschaftlichen Fragen.

Bei der Lochow-Petkus GmbH gilt mein besonderer Dank Dr. E. Ebmeyer, Dr. V. Korzun, Frau M. Scholz und Herrn S. Sabrowski und bei der Landessaatzuchtanstalt Dr. T. Miedaner, Frau B. Schulze und Frau F. Wilde.

Bei Herrn Dr. Hermann Bürstmayr möchte ich mich für seine Diskussionsbereitschaft und die fachliche Beratung insbesondere während meiner Tätigkeit am IFA-Tulln herzlich bedanken.



## **Lebenslauf**

### **Persönliche Daten**

Name: Michael Schmolke

Geburtsdatum: 15. Dezember 1973

Geburtsort: Salzgitter, Deutschland

Familienstand: ledig

### **Schulbildung**

1980 - 1986                      Grundschule und Orientierungsstufe am Fredenberg, Salzgitter

1986 - 1994                      Gymnasium am Fredenberg, Salzgitter

### **Studium**

1995 - 2000                      Studium der Gartenbauwissenschaften an der Universität Hannover

Jan. – Okt. 2000                Diplomarbeit in der Abteilung für Angewandte Genetik des Instituts für Zierpflanzenbau, Baumschule und Pflanzenzüchtung

### **Berufserfahrung**

Jan. 2001- Dez. 2003            Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Abteilung für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising

Jan. - Okt. 2004                Marie Curie Training Site an der Universität für Bodenkultur Wien, Department IFA-Tulln, Abteilung für Biotechnologie in der Pflanzenproduktion, Tulln - Österreich

