

A B S C H L U S S B E R I C H T

U N I V E R S I T Ä T H O H E N H E I M

LANDESSAATZUCHTANSTALT

GFP-FORSCHUNGSaufTRAG 01HS067 (G 102/04 HS)

Bodenbürtige Viren bei Roggen und Triticale - Entwicklung eines künstlichen Infektionstests und Untersuchungen zur Genetik der Resistenz

Laufzeit: 1.2.2005 - 31.01.2008

Berichtszeitraum: 1.2.2005 - 31.01.2008

Zusammenarbeit mit GFP-Mitgliedern und BAZ Quedlinburg, IRP

BERICHTERSTATTUNG

Dr. Eva Bauer

Das Forschungsvorhaben wurde vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) und der Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e.V. (GFP) gefördert.

1. Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

Seit Beginn der 90er Jahre wird das Auftreten von bodenbürtigen Viren in Deutschland beschrieben, welche insbesondere auf leichteren Böden Roggen und Triticale befallen. Bisher wurde vor allem das Auftreten von Wheat Spindle Streak Mosaic Virus (WSSMV; Bymovirus) und Soil-borne Cereal Mosaic Virus (SBCMV; Furovirus) beschrieben. In Praxisschlägen kommen die Viren häufig vergesellschaftet vor. Beiden ist die Übertragung durch den bodenbürtigen Pilz *Polymyxa graminis* gemeinsam. Da dieser Pilz ubiquitär im Boden vorhanden ist und zudem langlebige Dauersporen ausbildet, sind chemische oder mechanische Bekämpfungsmethoden nicht praktikabel. Mit einer weiteren Ausbreitung der Befallsflächen ist zu rechnen. Es stellt sich damit die gleiche Problematik wie beim Komplex der Gelbmosaik-Viren der Gerste (Barley Mild Mosaic Virus, Barley Yellow Mosaic Virus, Barley Yellow Mosaic Virus -2). Die Nutzung von Resistenzen ist als wirksamste Methode zur Sicherung der Erträge anzusehen.

Voraussetzung für die Nutzung von Resistenzen ist einerseits die Verfügbarkeit wirksamer Resistenzquellen und andererseits die sichere Erfassung von Resistenzdaten. Bisher durchgeführte Untersuchungen erfassten die Resistenz ausgewählter Sorten und Zuchtlinien meist in natürlich infestierten Feldschlägen. Dabei stellt sich das Problem der oft nicht ausreichend gleichmäßigen Verseuchung der Flächen, die eine ungleichmäßige Infektion der Pflanzen verursacht und damit die Interpretation der Daten erschwert. Als weiteres Problem kommt für die praktische Züchtung bei Selektion rein aufgrund des Schadbildes hinzu, dass die Viren sowohl im Boden, als auch in der Pflanze vergesellschaftet vorkommen. Da das Auftreten von Pflanzen, welche resistent gegenüber beiden Viren sind, nicht sehr häufig zu beobachten sein dürfte, wird der Selektionserfolg deutlich vermindert, falls nicht ein serologischer Nachweis für beide Virustypen getrennt erfolgt. Die Entwicklung eines zuverlässigen künstlichen Resistenztests für jedes der beiden Viren würde die Aussagesicherheit deutlich erhöhen und gleichzeitig zu einem Zeitgewinn führen, da im Gewächshaus mehrere Generationen bzw. Versuchsserien pro Jahr getestet werden können. Voraussetzung für den Einsatz dieses Tests ist die Etablierung einer effizienten Übertragungsmethode für Routineprüfungen sowie die Verfügbarkeit eines serologischen Nachweissystems.

Nach Etablierung der Resistenztests sollte im Lauf des Projektes ein repräsentatives Spektrum von Sorten, Stämmen und Genbankherkünften von Roggen und Triticale bezüglich der Resistenz gegenüber WSSMV und SBCMV evaluiert werden um wirksame Resistenzquellen zu identifizieren.

Um Resistenzen züchterisch effizient nutzbar zu machen ist eine Charakterisierung der Resistenzen hinsichtlich ihrer Vererbung nötig. In einer ersten Stufe sollten daher nach Identifizierung resistenten Ausgangsmaterials für Roggen und Triticale Kartierungspopulationen zur Lokalisierung der jeweiligen Resistenzgene hergestellt werden. Die Identifizierung eng gekoppelter Marker und die Entwicklung diagnostischer Marker für die Selektion stand in einer weiteren Phase an.

Aus technischer und wissenschaftlicher Sicht ergaben sich damit für das Projekt folgende Ziele:

- Etablierung einer effizienten mechanischen Übertragungsmethode für WSSMV und SBCMV in Roggen und Triticale. Es sollen Infektionsraten von >90% erreicht werden.
- Etablierung eines sicheren Nachweissystems für WSSMV und SBCMV mit Hilfe serologischer Tests (Double Antibody Sandwich ELISA, Tissue-Print Immuno Assay)
- Screening eines breiten Spektrums von Roggen- und Triticaleherkünften (Sorten, Zuchtmaterial, Genbankakzessionen) zur Identifizierung von resistentem Ausgangsmaterial
- Screening von Triticaleherkünften mit molekularen Markern (Weizen) für WSSMV-Resistenz
- Abgabe des resistenten Materials an Züchter zur Einlagerung der Resistenz in aktuelles Zuchtmaterial
- Erstellung von spaltenden Nachkommenschaften (resistent x anfällig) für genetische Analysen zur Vererbung der Resistenz gegen WSSMV und SBCMV in Roggen und Triticale mit Hilfe molekularer Marker

1.1 Planung und Ablauf des Projekts

In der ersten Phase des Projektes sollten zunächst die Resistenztests für die beiden Viren WSSMV und SBCMV in Roggen und Triticale etabliert werden. Danach wurde das Screening von Roggen- und Triticale-Herkünften durchgeführt. Nach der Identifizierung resistenter Herkünfte in Triticale wurden Kreuzungen resistent x anfällig zur Erstellung spaltender Nachkommenschaften erstellt, an die sich die genetische Analyse dieser Nachkommenschaften anschloss. In der letzten Phase wurden im Triticale molekulare Marker für WSSMV-Resistenz in Weizen analysiert.

Abbildung 1: Projektablauf (Balkendiagramm)

01.02.2005 – 31.01.2008 (Arbeiten beendet 30.11.2007)	2005				2006				2007				2008
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1
1. Etablierung und Optimierung des Resistenztests bei Roggen und Triticale (WSSMV und SBCMV) a) mechanische Inokulation b) serologischer Nachweis (TPIA, DAS-ELISA)	■				■								
2. Identifizierung resistenter Genotypen in Roggen und Triticale (WSSMV u. SBCMV) a) Screening im Gewächshaus b) Prüfung putativ res. Herkünfte im Freiland					■				■				
3. Analyse von Weizen-Markern für WSSMV-Resistenz in Triticale									■				
4. Aufbau von Kartierungspopulationen, genetische Analysen*					■				■				
Berichterstattung					■				■				■

* Abhängig von der Verfügbarkeit resistenter Herkünfte

Da zum 30.11.2008 die technische Assistentin, die das Projekt bearbeitete, eine neue Stelle angetreten hat, wurden in Absprache mit der GFP zu diesem Zeitpunkt die praktischen Arbeiten eingestellt, da kein eingearbeitetes Personal mehr zur Verfügung stand.

1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Biologie der Viren: Das Wheat Spindle Streak Mosaic Virus (WSSMV) gehört zu den Bymoviren. Zu dieser Gattung zählen auch das Barley Mild Mosaic Virus (BaMMV), das Barley Yellow Mosaic Virus (BaYMV) und das Wheat Yellow Mosaic Virus (WYMV). Das Soil-borne Cereal Mosaic Virus (SBCMV) ist ein Furovirus. Weitere Mitglieder dieser Gattung sind das Soil-borne Wheat Mosaic Virus (SBWMV) und das Chinese Wheat Mosaic Virus (CWMV).

Übertragung und Verbreitung der Viren: Sowohl Bymoviren als auch Furoviren werden durch den bodenbürtigen Pilz *Polymyxa graminis* auf die Wurzeln ihrer Wirtspflanzen übertragen. SBCMV bzw. SBWMV und WSSMV treten oft vergesellschaftet in befallenen Schlägen auf. Ihre Ausbreitung nimmt seit Ende der 80er Jahre in mehreren europäischen Ländern zu. In Frankreich, Italien und England befallen beide Viren Weizen (*T. aestivum*, *T. turgidum*), in Deutschland, Polen und Dänemark bisher nur Roggen und Triticale, die bevorzugt auf leichteren, oft sandigen Böden angebaut werden (Huth 2002a). Weitere Verbreitungsgebiete sind vor allem Nordamerika, Japan und für WYMV und CWMV auch China (Kanyuka et al. 2003). Erstmals wurde auch in Deutschland das Vorkommen von SBWMV beschrieben. Sequenzvergleiche ergaben eine hohe Ähnlichkeit mit dem Nebraska-Typ Stamm des SBWMV (König und Huth 2003). Mit einer weiteren, flächendeckenden Ausbreitung von WSSMV und SBCMV in den deutschen und europäischen Getreideanbaugebieten muss gerechnet werden, wie die Erfahrungen mit der Gelbmosaikvirose der Gerste zeigten (Huth 1998).

Eine mechanische Übertragung von SBCMV bzw. SBWMV und WSSMV durch Abreiben der Blätter oder Verwendung einer Airbrush-Pistole ist möglich. Bisherige Studien beschreiben aber überwiegend die Übertragung auf Weizen (Myers et al. 1993, Driskel et al. 2002). Für SBCMV kann unter kontrollierten Bedingungen in der Klimakammer eine Übertragung des Virus über infektiöse Erde erfolgen (Kastirr et al. 2002).

Symptome und Schadbild: Die Entwicklung der Befallssymptome ist meist im Spätwinter oder Frühjahr zu erkennen. In beiden Fällen (SBCMV und WSSMV) sind hellgrüne, mosaikartige Blattstrichel und teilweise chlorotische Flecken sichtbar, gelegentlich wird auch ein gestauchter Wuchs beobachtet. Die Symptomentwicklung erfolgt bei SBCMV am deutlichsten bei Temperaturen unter 20°C. In Gewächshausversuchen hat sich eine Temperatur von 14-16°C als optimal erwiesen (Driskel et al. 2002). Für eine optimale Symptomausprägung sind dagegen bei dem Bymovirus WSSMV niedrigere Temperaturen günstig. Im Freiland erfolgt die Infektion bei Bodentemperaturen von etwa 15°C, die Symptome zeigen sich im Frühjahr, so bald Temperaturen von 5-15°C erreicht sind. Eine schnelle Erwärmung im Frühjahr auf mehr als 20°C kann zum raschen Verschwinden der Symptome führen. In Gewächshausversuchen werden Temperaturen von 10°C empfohlen. Auf befallenen Schlägen können Ertragsverluste von 30-70% auftreten (Huth 1998, Vallega et al. 1999, Bayles und Napier 2002). Frühe Saattermine im Herbst können die Befallssituation möglicherweise verstärken (Huth 1998).

Nachweismöglichkeiten: Rein phänotypische Bonituren sind nicht geeignet, um vor allem bei natürlicher Infektion im Feld zu bestimmen, welches Virus in der Pflanze

enthalten ist. Ein Nachweis des Virusbefalls kann am sichersten mit Hilfe serologischer Methoden erfolgen. Sowohl für SBCMV als auch für WSSMV stehen spezifische Antiseren zur Verfügung. Ein Nachweis kann z.B. mittels Double Antibody Sandwich ELISA (DAS-ELISA) (Clark and Adams 1977) oder Tissue-Print Immuno Assay (TPIA) (Proll 1997) erfolgen. Für Routineuntersuchungen und vor allem für die Beprobung größerer Stückzahlen eignet sich aufgrund des geringeren Arbeitsaufwandes vor allem der TPIA. Bei diesem Verfahren werden Stängelquerschnitte oder andere Pflanzengewebe der Testpflanzen auf eine Nylonmembran aufgedrückt und anschließend ebenfalls mit Hilfe eines spezifischen Antikörpers und einer Farbreaktion das Vorhandensein von Virus nachgewiesen. In verschiedenen Studien konnte eine hohe Übereinstimmung zwischen beiden Nachweismethoden festgestellt werden (Hohmann et al. 1996). Der TPIA eignet sich allerdings nur für qualitative Nachweise, während mit dem DAS-ELISA auch (semi-) quantitative Nachweise durchgeführt werden können.

Resistenz gegen Bymoviren: Am besten sind die Resistenzen der Gerste gegenüber dem Komplex der Gelbmosaik-Viren (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2) untersucht. Neben dem in europäischem Material gefundenen und mittlerweile in vielen deutschen Sorten eingelagerten Resistenzgen *rym4* konnten 14 weitere Resistenzgene überwiegend in ostasiatischen und osteuropäischen Herkünften sowie in *Hordeum spontaneum* und *H. bulbosum* identifiziert werden (Bauer et al. 1997, Übersicht in Werner et al. 2003, Ruge et al. 2003, Le Gouis et al. 2004). Das rezessive Resistenzgen *rym4/rym5* wurde über einen kartengestützten Klonierungsansatz genauer charakterisiert (Stein et al. 2005). Es handelt sich bei dem Resistenzgen um den Translations-Initiationsfaktor *Hv-eIF4E*, für den mehrere Allele beschrieben wurden. Mit Ausnahme von *Rym14^{Hb}* wurde für alle beschriebenen Gene ein rezessiver Erbgang nachgewiesen. In den meisten Fällen wird durch die Resistenz eine Immunität gegenüber den Viren vermittelt, es werden aber auch partielle Resistenzen beobachtet.

Für die Resistenz gegenüber WSSMV wurde in Weizen einerseits ein monogen-dominanter Erbgang (Wiese et al. 1974) sowie andererseits eine additiv-dominante Vererbung mit drei Allelen am A-Locus und zwei Allelen am B-Locus beschrieben (van Koeveering et al. 1987). Khan et al. (2000) konnten mit Hilfe von RFLP-Markern ein qualitativ wirkendes Gen in der Sorte ‚Geneva‘ auf Chromosom 2D identifizieren. Bei mechanischer Inokulation konnte in ‚Geneva‘ allerdings Virus nachgewiesen werden, was darauf hinweist, dass es sich hier nicht um Immunität handelt. Es wird daher vermutet, dass in ‚Geneva‘ eine unterdrückte Virusreplikation in den Blättern nicht Ursache für die Resistenz sein kann. Möglicherweise wird die Replikation und/oder Ausbreitung des Virus bereits in den Wurzeln unterdrückt oder der Transport von den Wurzeln in die oberirdischen Pflanzenteile ist blockiert (Carroll et al. 2002). Liu et al. (2005) kartierten mit Hilfe von SSR-Markern ein monogenes Resistenzgen gegenüber dem mit WSSMV verwandten Wheat Yellow Mosaic Virus (WYMV) in chinesischen Weizenlinien. Das Resistenzgen *YmYF* liegt ebenfalls auf Chromosom 2DL, es wird eine dominante Vererbung angenommen. Es ist bisher unklar, ob *YmYF* am gleichen Locus wie die Resistenz aus ‚Geneva‘ liegt. Weitere Studien zur Form der Resistenz gegen WSSMV liegen nicht vor. Nach Angaben von Huth (2002a) kann jedoch mit dem Vorkommen von Weizensorten mit Immunität gegenüber WSSMV gerechnet werden. Für Roggen und Triticale liegen noch keine Daten zur Vererbung und Art der Resistenz vor. Aufgrund der Erfahrungen mit Resistenz gegenüber Bymoviren bei Weizen und Gerste ist Immunität jedoch auch hier nicht auszuschließen.

Resistenz gegen Furoviren: Vor allem Untersuchungen in den USA, England, Frankreich und Südamerika zeigen, dass in Weizen Resistenz bzw. Toleranz gegenüber SBWMV bzw. SBCMV auftritt (Huth 2002a, Kanyuka et al. 2003). Für einige Sorten wurde gezeigt, dass die Resistenz temperaturabhängig ist (Myers et al. 1993). Zur Vererbung der Resistenz werden unterschiedliche Angaben gemacht, die auf Unterschiede in der Erfassung der Resistenz (visuelle Bonitur, immunologischer Nachweis) oder auf die Herkunft der Resistenz zurückzuführen sein können. Es werden sowohl monogen-dominante Resistenzen als auch polygen vererbte Resistenzen beschrieben (Modawi et al. 1982, Merkle and Smith 1983, Barbosa et al. 2001, Kanyuka et al. 2003). Rumjaun et al. (1996) berichten von Immunität gegenüber SBWMV in einer Weizen-*Thinopyrum intermedium* Additionslinie. Kastirr et al. (2002) fanden mehrere Roggen-Akzessionen, die zumindest sehr geringe Virustiter im Resistenztest aufwiesen. Nach Huth (2002b) und Kastirr et al. (2002) wurde in mehreren Roggen- und Triticalesorten zumindest Toleranz gegenüber SBCMV (und WSSMV) beobachtet. Bass et al. (2006) beschrieben die Kartierung des Sbm1 Locus auf Chromosom 5DL in Weizen. Da für die Kartierung eine DH-Population verwendet wurde, kann bisher nicht auf die Vererbungsweise (dominant/rezessiv) geschlossen werden, aufgrund der 1:1 Spaltung kann jedoch eine monogene Vererbung angenommen werden. Detaillierte Studien zur Vererbung und Art der Resistenz in Roggen und Triticale liegen für SBCMV noch nicht vor.

Einsatz molekularer Marker: Voraussetzung für die Identifizierung von molekularen Markern für die Selektion sind genetische Studien an spaltenden Nachkommen-schaften und eine sichere Erfassung des Phänotyps. Die Einlagerung von Resistenzgenen über klassische Rückkreuzungsprogramme und die Kombination unterschiedlicher Resistenzgene gegen das gleiche Pathogen (Pyramidisierung) kann mit Hilfe molekularer Marker sehr effizient durchgeführt werden (Ordon et al. 2003). Für die meisten Resistenzgene der Gerste gegenüber BaMMV/BaYMV stehen mittlerweile eng gekoppelte, PCR-gestützte molekulare Marker für die effiziente Selektion resistenter Linien zur Verfügung. Im Weizen liegen für ein WSSMV-Resistenzgen, ein Resistenzgen gegenüber WYMV sowie für ein SBCMV-Resistenzgen ebenfalls molekulare Marker vor (Khan et al. 2000, Liu et al. 2005, Bass et al. 2006). Weitere Resistenzgene gegenüber WSSMV oder SBCMV wurden bisher noch nicht mit molekularen Markern lokalisiert.

2. Material und Methoden

2.1 Pflanzenmaterial

Triticale: Ein Sortiment von knapp 130 europäischen Triticaleherkünften wurde bezüglich Resistenz gegenüber WSSMV und SBCMV evaluiert (Sortiment I). Das Sortiment I entspricht dem Material, das im GFP-Projekt „Molekulare und agronomische Untersuchungen zur genetischen Diversität und Hybridzüchtung bei Triticale“ auch molekular untersucht wurde. Außerdem wurden 81 Linien des CIMMYT (Mexiko) untersucht (Sortiment II).

Roggen: Für die Resistenzprüfungen wurden drei verschiedene Sortimente herangezogen. Sortiment I waren 14 von der Firma Lochow Petkus im Feld vorgeprüfte Genbankakzessionen. Außerdem wurden 19 Genbankakzessionen (Roggenpopulationssorten und Wildarten) geprüft, die von Frau Dr. Ute Kastirr zur Verfügung gestellt wurde (Sortiment II). Aus einem weiteren Genbanksortiment (Dr. T. Miedaner, Uni Hohenheim) wurden 20 Akzessionen geprüft (Sortiment III).

2.2 Resistenztest im Gewächshaus

Die mechanische Inokulation der Pflanzen erfolgte zunächst bei beiden Viren leicht modifiziert nach einem Standardprotokoll, das sich seit langem auch bei der Gerste bewährt hat (Ordon und Friedt 1993). Dabei wurde aus infizierten Spenderpflanzen Presssaft gewonnen und mit eiskaltem 0,1 M K_2HPO_4 -Puffer (pH 9,1) versetzt, wobei zu je 50 g Blattmaterial 100 ml Puffer gegeben wurden. Anschließend wurde Carborund (Siliciumcarbid dunkel F320) als Abrasivum zugegeben und die Pflanzen mechanisch durch Abreiben mit Schaumstofffingerlingen inokuliert.

Aufgrund von Versuchen zur Optimierung des Infektionserfolges wurden die Bedingungen im Lauf des Projektes modifiziert. Für beide Viren wurde dazu übergegangen, den Presssaft im Verhältnis 30 g infiziertes Blattmaterial zu 100 ml 0,1 M K_2HPO_4 -Puffer (pH 9,1) anzusetzen. Außerdem wurden je 100 ml Puffer 1 ml des Proteinaseinhibitor-Cocktails (PIC, Protease Inhibitor Cocktail for plant cell and tissue extracts, Fa. Sigma Aldrich) zugegeben. Der Proteinaseinhibitor-Cocktail enthält eine Mischung verschiedener Proteinaseinhibitoren mit breiter Wirkung, die spezifisch für Pflanzen optimiert sind und Serin-, Cystein-, Aspartat- und Metalloproteasen sowie Aminopeptidasen inhibieren und damit möglicherweise die Viruspartikel im Presssaft vor Abbau der Proteinhülle schützen.

In der Regel wurden in den Versuchen neben Roggen bzw. Triticaleprüfgliedern auch eine hochanfällige Triticalesorte (Boreas) und/oder eine hochanfällige Roggen-Inzuchtlinie (L2098-P) als anfällige Kontrollen mitgeprüft um den Infektionserfolg zu bestimmen. Die Pflanzen wurden in Euroschalen oder Quickpot-Schalen (6x8) angezogen und nach der Inokulation in Klimakammern gebracht. WSSMV-Prüfungen wurden bei einer Temperatur von ca. 10-12°C und 12 h Licht durchgeführt. SBCMV-Prüfungen erfolgten bei einer Temperatur von ca. 16-18°C und 12 h Licht.

Der immunologische Nachweis erfolgte in allen Fällen mit dem Tissue-Print-Immuno-Assay (TPIA) nach einem Protokoll, das von Frau Dr. U. Kastirr, BAZ Quedlinburg zur Verfügung gestellt wurde. Für die Detektion der Viruspartikel wurden Antikörper gegenüber WSSMV und SBCMV verwendet, die ebenfalls von der BAZ Quedlinburg stammten. Von jeder Einzelpflanze wurden im TPIA die Querschnitte zweier Triebe auf die Nylonmembran aufgedrückt, um möglichen Escapes (Nichtinfektion einzelner Pflanzenteile) vorzubeugen. Die Probenahme erfolgte jeweils frühestens 6 Wochen nach Inokulation. Dabei wurde im Einzelfall die visuelle Bonitur der anfälligen Standards herangezogen, um den frühesten Zeitpunkt der Probenahme zu bestimmen. Waren die anfälligen Standards nach 6 Wochen noch symptomfrei, wurde die Probenahme erst zu einem späteren Zeitpunkt durchgeführt.

In kleineren methodischen Versuchen mit wenigen Genotypen wurden jeweils meist 5-20 Einzelpflanzen (EP) in ein bis zwei Wiederholungen nicht randomisiert getestet. In größeren Versuchsanordnungen mit mehreren Prüfgliedern (Screening) wurden randomisierte Versuche mit 5-15 EP pro Wiederholung und zwei Wiederholungen angelegt. In jeder Pflanzschale wurden dabei mindestens 5 Pflanzen des jeweiligen anfälligen Standards mitgeprüft, um den Infektionserfolg bestimmen zu können.

2.3 Ringversuch (Feld und Gewächshaus)

Zusätzlich zu den im Projekt laut Antrag vorgesehenen Arbeiten wurde gemeinsam mit der BAZ Quedlinburg, IRP (Dr. U. Kastirr) und den Firmen Lochow-Petkus und Hybro ein Ringversuch durchgeführt. Ziel des Ringversuchs war der Vergleich der unterschiedlichen Standorte mit natürlichem Befall, sowie der verschiedenen

künstlichen Infektionsmethoden (infektiöse Erde, mechanische Inokulation). Der Versuch wurde in zwei Jahren an den Befallsstandorten Walternienburg, Gödnitz, Eickeloh, Petkus und Bergen im Freiland durchgeführt. Außerdem wurden bei den Firmen Lochow-Petkus und Hybro sowie an der BAZ Aschersleben und der Landessaatzuchtanstalt (HOH) die jeweils vor Ort verwendeten Testverfahren im Gewächshaus bzw. in der Klimakammer durchgeführt (Tabelle 1).

Tabelle 1: Standorte für den Ringversuch

Feldstandorte:	Walternienburg	BAZ
	Gödnitz	BAZ
	Eickeloh	Hybro
	Petkus	Lochow-Petkus
	Bergen	Lochow-Petkus
Klimakammer:	SBCMV (infektiöse Erde)	BAZ
	SBCMV (infektiöse Erde)	Hybro
	SBCMV (infektiöse Erde)	Lochow-Petkus
	SBCMV (mech. Inokulation)	HOH
	WSSMV (mech. Inokulation)	HOH

Das Prüfsortiment umfasste insgesamt 30 Prüfglieder (20 Roggen, 7 Triticale und 3 Weizen). Die Prüfglieder wurden sofern möglich nach vorhandenen Vorinformationen ausgewählt, um möglichst sowohl Genotypen mit putativer Resistenz als auch hochanfälliges Material zu prüfen. Je nach ortsüblicher Aussaatmethode wurden im Herbst 2005 und 2006 zwei Wiederholungen angelegt mit ca. 15-20 EP je Prüfglied und Wiederholung. Der Versuch wurde randomisiert in einem 6x5 Gitter angelegt. Die Gewächshausversuche wurden ebenfalls im gleichen Schema randomisiert angelegt.

2.4 SSR-Markeranalysen

Aus getrocknetem Blattmaterial wurde DNA gewonnen. Es wurden jeweils Mischproben von je 15-20 EP extrahiert. Für die SSR-Analyse wurden öffentlich verfügbare Primer verwendet (Primersequenzen: <http://wheat.pw.usda.gov>). Die Polymerase Kettenreaktion (PCR) erfolgte mit fluoreszenzmarkierten Primern. Pro Reaktionsansatz (10µl) wurden 50 ng DNA-Template eingesetzt, sowie dNTPs (je 0,2 mM), 1x Taq DNA-Polymerasepuffer, Primer forward und reverse (je 150 nM), 0,25 U Taq DNA-Polymerase (Invitrogen). Das PCR-Programm begann mit einem dreiminütigem Denaturierungsschritt bei 96°C, gefolgt von 30 bis 45 Zyklen mit 1 min. Denaturierung bei 96°C, 1 min. Primeranlagerung bei primerspezifischer Temperatur und 1 min. Extension bei 72°C. Die resultierenden Amplifikate wurden auf einem ALF Express DNA-Sequencer bzw. einem MegaBACE Kapillarsequencer (Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg) analysiert und die jeweiligen Fragmentgrößen bestimmt.

3. Ergebnisse

3.1 Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

3.1.1 Etablierung und Optimierung des Resistenztests bei Roggen und Triticale (WSSMV und SBCMV)

Triticale – WSSMV:

In Triticale können in anfälligen Genotypen nach mechanischer Inokulation in der Regel Infektionsraten von 85% (TPIA 6 Wochen nach Inokulation) bis zu 96% (TPIA 10 Wochen nach Inokulation) erreicht werden. Diese Infektionsraten können als ausreichend angesehen werden für eine sichere Erfassung des Virusbefalls.

Routinemäßig wurde der TPIA 8 Wochen nach Inokulation durchgeführt. Einzelpflanzen, die bei der ersten Probenahme negativ waren, wurden 12 Wochen nach der Inokulation ein zweites Mal getestet. Als anfälliger Standard und auch für die Gewinnung von infiziertem Blattmaterial hat sich die Sorte Boreas bewährt.

Triticale – SBCMV:

Hier wurden nach 8 Wochen in der Regel Infektionsraten von >70% in anfälligen Kontrollen festgestellt. Nach 12 bis 16 Wochen lag die Infektionsrate meist bei über 90%. Als anfälliger Standard wurde auch hier die Sorte Boreas verwendet.

Roggen – WSSMV:

Eine effiziente und reproduzierbare mechanische Inokulation von Roggen mit WSSMV konnte im Rahmen des Projektes nicht etabliert werden. In einzelnen Versuchen wurden in anfälligen Linien (z.B. L301 bzw. L2098P) Infektionsraten von 5-15% erzielt. Die Ergebnisse waren jedoch nicht reproduzierbar. Es wurden unterschiedliche Varianten des Inokulums getestet wie bereits in den Zwischenberichten beschrieben. Auch eine von Louie (1995) bzw. Madriz et al. (2000) beschriebene Methode zur Punktierung von Körnern mit Präpariernadeln, die mit Inokulum benetzt waren führte nicht zum Erfolg. Gleiches gilt für die Injektion des Inokulums in die Halmbasis mit Injektionsnadeln.

Die Ursachen für dieses Ergebnis bei Roggen sind unklar. Möglicherweise ist durch mehrere Zyklen der mechanischen Übertragung des WSSMV-Isolats auf die Spenderpflanzen die notwendige Infektiosität des Inokulums für eine erfolgreiche Infektion von Roggen nicht mehr gegeben.

Roggen – SBCMV:

Im Roggen konnten nach Inokulation mit SBCMV nach 8-10 Wochen in der Regel Infektionsraten von ca. 80% bis über 90% in anfälligen Kontrollen festgestellt werden. Als anfälliger Standard eignet sich die Roggenlinie L2098P.

Allgemeine Empfehlung: Um Escapes weitgehend auszuschließen, empfiehlt es sich, die Tests nicht an Einzelpflanzen durchzuführen. Je nach Homogenität des Materials kann empfohlen werden 5-15 Pflanzen je Genotyp zu testen. In Triticale und Roggen ist es außerdem möglich, Einzelpflanzen zu verklonen und diese zu inokulieren, so dass mehrere Wiederholungen pro Einzelpflanze möglich sind. Dieses Verfahren wurde zum Beispiel bei F2-Nachkommenschaften von Triticalekreuzungen eingesetzt.

3.1.2 Screening von Genotypen in Roggen (WSSMV und SBCMV)

WSSMV:

Aufgrund der geringen Infektionsraten in Roggen nach Inokulation mit WSSMV können hier keine zuverlässigen Aussagen gemacht werden, insbesondere, da es sich um heterogenes Genbankmaterial bzw. Populationsorten handelte.

SBCMV:

Sortiment I: Genbankakzessionen *S. cereale* (Lochow-Petkus)

Von den 14 Prüfgliedern LP21 – LP34 wurden jeweils 15 EP angezogen, verklont, auf die zwei Wiederholungen des Versuchs aufgeteilt und mit SBCMV inokuliert. In den Prüfgliedern LP22, 23, 24, 25, 27, 31, 33 und 34 wurden jeweils ein bis vier EP identifiziert, von denen auch nach der zweiten Probenahme (8 Wochen nach Inokulation) noch beide Klonteile negativ waren. Da es sich hier um heterogene Populationen handelt, ist es durchaus möglich, dass mit einer gewissen Häufigkeit resistente Einzelpflanzen auftreten (hier: bis zu 30%). Wegen der schlechten Pflanzenentwicklung war keine Probenahme zu einem späteren Zeitpunkt mehr möglich. Es ist zwar anzunehmen, dass bei deutlich späterer Probenahme auch in weiteren zunächst negativ getesteten Pflanzen das SBMCV nachgewiesen werden kann und damit keine echte Resistenz (Immunität) vorliegt, allerdings scheint die Virusvermehrung und/oder Ausbreitung innerhalb der Pflanze bei einzelnen Genotypen verzögert abzulaufen. Es müsste geprüft werden, inwieweit sich diese Beobachtung im Feldversuch bestätigt. Die Infektionsrate in diesem Versuch lag in der anfälligen Roggenlinie L2098-P bei 92%, in der anfälligen Triticalesorte Boreas bei 86%.

Sortiment II: Genbankakzessionen (Roggenpopulationsorten und Wildarten; BAZ)

Aus einem für SBCMV vorgeprüften Sortiment von Genbankakzessionen wurden einige Herkünfte ausgewählt, um zu prüfen, ob sich die Ergebnisse aus dem Klimakammertest mit SBCMV-infizierter Erde (Befallsstandort Eickeloh) auf die mechanische Inokulation übertragen lassen.

Je Herkunft wurden 15 EP angezogen und auf drei Klonteile vermehrt. Ein Klonteil war für Kreuzungen putativ resistenter EP mit der anfälligen Inzuchtlinie L301 vorgesehen, die beiden anderen Klone wurden auf die zwei Wiederholungen des Versuchs aufgeteilt. Die Infektionsrate in diesem Versuch wurde anhand der Linie L301 bestimmt und lag bei 75%. Insgesamt wurden drei Probenahmen für den TPIA durchgeführt (6, 9 und 12 Wochen nach Inokulation). Im Anhang (Tabelle A1) sind zum Vergleich neben den eigenen Ergebnissen (12 W. nach Inokulation) auch die Daten dargestellt, die freundlicherweise von Frau Dr. Kastirr zur Verfügung gestellt wurden. In der Tabelle ist jeweils die Anzahl infizierter Pflanzen bezogen auf die Gesamtpflanzenzahl dargestellt. In Hohenheim wurden nur solche Pflanzen als (putativ) resistent eingestuft, bei denen in keinem der beiden Einzelklone eine Infektion nachgewiesen werden konnte. In einigen Fällen stand bei der dritten Probenahme nur noch ein Klon zur Verfügung. In den meisten Fällen waren nach mechanischer Inokulation mehr infizierte Pflanzen je Akzession zu beobachten als bei Verwendung infizierter Erde.

Von den in der Tabelle fett markierten Akzessionen wurden bis zu 6 putativ resistente EP mit L301 gekreuzt, wobei L301 als Mutterpflanze verwendet wurde. Die F1-Pflanzen wurden geselbstet, um Material für spätere Nachkommenschaftstests zu erstellen. Von allen zur Kreuzung verwendeten EP wurde Blattmaterial für eventuell nötige DNA-Analysen abgenommen und getrocknet. Das Material kann an Züchter abgegeben werden.

Sortiment III: Populationssorten aus Genbanksortiment (PD Dr. Thomas Miedaner, Uni Hohenheim)

Je Herkunft wurden 15 EP angezogen und auf zwei Klonteile vermehrt. Die Klone wurden auf die zwei Wiederholungen des Versuchs aufgeteilt. Die Infektionsrate in diesem Versuch wurde anhand der anfälligen Weizensorte Alcedo bestimmt und lag dort bei 59% (10 W. nach Inokulation). Eine weitere Weizensorte (Charger) war mit 87% (10 W. nach Inokulation) deutlich stärker infiziert. Die Roggenlinie L301 hatte eine Infektionsrate von nur 41%. Im Anhang (Tabelle A2) sind die geprüften Akzessionen und das Versuchsergebnis für die Probenahme 6 bzw. 10 Wochen nach Inokulation dargestellt. Trotz der im gesamten Versuch mit Ausnahme von Charger relativ niedrigen Infektionsraten fallen einige Akzessionen auf, die eher niedrige Befallswerte aufweisen, wie z.B. Amilo, Autuma, Bergroggen, Bernburger Futterroggen, Böhmerwaldroggen und CHD 181 l'83. Diese Herkünfte könnten gegebenenfalls auf infizierten Feldschlägen nochmals geprüft werden.

3.1.3 Screening von Genotypen in Triticale (WSSMV und SBCMV)

WSSMV:

Sortiment I: Europäische Triticaleherkünfte (Wintermaterial)

Im untersuchten Sortiment war die Mehrzahl der Herkünfte anfällig (Anhang, Tabelle A3). Bei einigen Linien war die Pflanzenanzahl aufgrund schlechter Pflanzenentwicklung sehr gering (2-4). Diese Linien wurden als anfällig (+) gewertet, wenn mindestens eine Pflanze auftrat, in der WSSMV im TPIA nachgewiesen wurde. Putativ resistente Herkünfte wurden einem zweiten Test unterzogen. Insgesamt 12 Linien waren auch nach der zweiten Prüfung bei einer Probenahme 10 W. nach Inokulation noch befallsfrei. Vier dieser Linien wurden als Kreuzungseltern für genetische Analysen (siehe Punkt 3.1.4) verwendet und mit anfälligen Linien gekreuzt.

Die in der Tabelle A3 im Anhang als putativ resistent eingestuft Herkünfte müssten noch einer genaueren Prüfung auf infizierten Feldschlägen unterzogen werden. Zumindest für die Sorten Algallo, Binova, Capital, Colossal und Viktor, die nach mechanischer Inokulation als resistent eingestuft wurden, wurden im Ringversuch (siehe 3.1.6) mittlere bis hohe Befallsraten festgestellt. Es ist daher möglich, dass diese Sorten eine Form der Resistenz tragen, die eine Ausbreitung von WSSMV in der Pflanze nach mechanischer Inokulation, nicht jedoch den natürlichen Befall über die Wurzel unterbindet.

Sortiment II: Triticalesortiment CIMMYT (Mexiko)

Auch im Sortiment von CIMMYT wurden einige Herkünfte gefunden, die als putativ resistent eingestuft wurden (Anhang, Tabelle A4). Aus Zeitgründen und da es sich um nicht adaptiertes Material handelt wurden diese Herkünfte jedoch nicht zur Erstellung spaltender Nachkommenschaften verwendet.

SBCMV:

Sortiment I: Europäischen Triticaleherkünfte (Wintermaterial)

Alle geprüften Herkünfte waren anfällig gegenüber SBCMV.

Sortiment II: Triticalesortiment CIMMYT (Mexiko)

Alle geprüften Herkünfte waren anfällig gegenüber SBCMV.

3.1.4 Genetische Analysen in spaltenden Nachkommenschaften von Triticale (WSSMV)

In Triticale wurden Kreuzungen zur Erstellung spaltender Nachkommenschaften für WSSMV-Resistenz durchgeführt. Die verwendeten Eltern Viktor, Colossal, Capital und Algalo haben sich nach mechanischer Inokulation in zweimaliger Prüfung als putativ resistent herausgestellt. Als anfällige Eltern wurden solche gewählt, die sich anhand molekularer Markerdaten aus einem früheren Projekt deutlich von den anderen Sorten unterscheiden. In Tabelle 2 sind die Kreuzungskombinationen aufgeführt.

Tabelle 2: Kreuzungskombinationen resistent x anfällig für WSSMV-Resistenz in Triticale

Elter res.	Elter anfällig	Colina ¹	Plai ¹	Prospect ¹	Modus ²
Viktor ³		x	x	x	x
Colossal ⁴		x	x	x	x
Capital ⁴		x	x	x	x
Algalo ⁵		x	x	x	x

Herkunft der Sorten:

- 1: Research Institute for Cereals & Industrial Crops (RICIC), Rumänien
- 2: Nordsaat, D
- 3: Agricultural Research Institute of Non-Chernozem Zone (ARINCZ), Russland
- 4: INRA, Frankreich
- 5: Svalöf Weibull, Schweden

Fett markiert (x) sind Kombinationen, die weiter untersucht wurden.

Für genetische Analysen in spaltenden Nachkommenschaften wurden die Kombinationen Viktor x Modus, Colossal x Plai, Capital x Colina und Algalo x Plai ausgewählt. Von den untersuchten Kombinationen wurden jeweils die Eltern (8-15 EP), sowie drei bzw. vier F1-Pflanzen und zwischen 63 und 84 F2-Pflanzen angezogen. Da phänotypische Tests an F1- oder F2-EP nicht sicher genug sind, wurden die Pflanzen auf 3-5 Klonteile verklont. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden auch die Eltern verklont. Als anfällige Kontrolle zur Bestimmung des Infektionserfolges wurde die Sorte Boreas verwendet. Der immunologische Nachweis per TPIA erfolgte 9 und 12 Wochen nach Inokulation. Die Infektionsrate lag in der anfälligen Kontrolle nach 12 Wochen in den verschiedenen Tests bei 83-100%. Nur wenn alle Einzelklone einer Pflanze negativ getestet wurden, wurde die Pflanze als resistent eingestuft. So bald mindestens einer der bis zu fünf Klonteile positiv getestet wurde galt die Pflanze als anfällig.

Wie auch in den Vorversuchen sind die anfälligen Eltern Modus, Plai und Colina wiederum als anfällig einzustufen. Bei den wenigen jeweils nicht infizierten Pflanzen könnte es sich um Escapes handeln. In den als resistent eingestuft Sorten Viktor und Algalo wurden jedoch unerwarteter Weise einige anfällige EP gefunden. Es könnte sich entweder um Falsch-Positive im TPIA handeln oder aber darauf hinweisen, dass bei noch späterer Probenahme mit weiteren anfälligen Pflanzen zu rechnen wäre und es sich damit nur um eine verzögerte Anfälligkeit nach mechanischer Inokulation handelt.

Die Ergebnisse für die Eltern, F1-Pflanzen und die Spaltungsverhältnisse in den F2-Nachkommenschaften sind in Tabelle 3 dargestellt. In den F1-Kombinationen der Kreuzungen Viktor x Modus, Colossal x Plai und Capital x Colina wurden anfällige Pflanzen beobachtet, was darauf hindeutet, dass die Eltern vermutlich rezessive

Gene für WSSMV-Resistenz tragen. In der F1 Algalo x Plai wurden dagegen keine anfälligen EP gefunden, was auf eine dominante Vererbung der Resistenz schließen lässt.

Bei einem rezessiven Gen würde man in der F2-Nachkommenschaft eine Aufspaltung von 1r:3s erwarten. Für die Kreuzung Viktor x Modus stimmt der Chi²-Test mit dieser Annahme überein. Dagegen ist nach Chi²-Test eine monogen-rezessive Vererbung der Resistenz in Colossal x Plai abzulehnen. Die beobachteten Spaltungsdaten stimmen jedoch mit einer 7r:9s Aufspaltung überein, die auf einen digenisch-rezessiven Erbgang schließen lässt. Da der Elter Plai als komplett anfällig einzustufen ist kann vermutet werden, dass der resistente Elter Colossal über zwei nicht gekoppelte rezessive Gene verfügt, die gemeinsam zur Resistenzausprägung führen. Dagegen widerspricht die Aufspaltung in der F2-Nachkommenschaft Capital x Colina der Annahme, dass die Resistenz aus Capital rezessiv vererbt wird, da die Mehrzahl der F2-Pflanzen als resistent eingestuft wurde. Aufgrund der Spaltungsverhältnisse ist eher ein dominanter Erbgang zu vermuten. Die Aufspaltung in der F2-Nachkommenschaft von Algalo x Plai stimmt dagegen mit der erwarteten dominanten Vererbung überein.

Tabelle 3: Reaktion der Eltern, F1-Pflanzen und F2-Nachkommenschaften für die Kreuzungen Viktor x Modus, Colossal x Plai, Capital x Colina und Algalo x Plai

Genotyp / Kreuzung	Eltern bzw. F1	Spaltungsverhältnis F2		X ² (2 FG)	p
	r : s	beobachtet r : s	erwartet r : s		
Viktor (r)	6 : 2				
Colossal (r)	8 : 0				
Capital (r)	14 : 0				
Algalo (r)	11 : 3				
Modus (s)	0 : 8				
Plai (s)	1 : 7				
Plai (s)	2 : 8				
Colina (s)	2 : 13				
Viktor x Modus (F1)	1 : 3				
Colossal x Plai (F1)	2 : 1				
Capital x Colina (F1)	3 : 1				
Algalo x Plai (F1)	4 : 0				
Viktor x Modus (F2)		19 : 45	1 : 3	0,75	0,684
Colossal x Plai (F2)		28 : 35	1 : 3	12,70	0,002
Colossal x Plai (F2)		28 : 35	7 : 9	0,01	0,995
Capital x Colina (F2)		74 : 10	3 : 1	7,68	0,022
Algalo x Plai (F2)		55 : 29	3 : 1	4,06	0,131

An dieser Stelle soll darauf hingewiesen werden, dass die Interpretation der genetischen Daten als vorläufig zu betrachten ist. Um die Ergebnisse abzusichern müssten die Versuche wiederholt werden, was aus Zeitgründen im Projekt nicht mehr möglich war. Aufgrund der bereits angesprochenen Anfälligkeit der Kreuzungseltern Viktor, Colossal, Capital und Algalo auf WSSMV-infizierten Feldschlägen ist darüber hinaus fraglich, ob die putative Resistenz für züchterische Zwecke nutzbar ist.

Für resistenzgenetische Untersuchungen sind die putativen Resistenzen dennoch interessant und es sollte eine Kartierung der Resistenzen erfolgen. Dies könnte mit

Hilfe der Bulk-Segregant-Analyse geschehen, die eine Groblokalisierung der Resistenzgene erlaubt.

3.1.5 Analyse von Weizen-SSR-Markern für WSSMV-Resistenz in Triticale

Bisher gibt es zwei Veröffentlichungen zur Kartierung von WSSMV- bzw. Wheat Yellow Mosaic Bymovirus (WYMV)-Resistenz in Weizen (Khan et al. 2000, Liu et al. 2005). Beide Resistenzgene wurden auf dem langen Arm von Chromosom 2D lokalisiert, wobei für die WSSMV-Resistenz in der Kreuzung Geneva (res.) x Augusta (anf.) keine flankierenden SSRs sondern nur RFLP-Marker beschrieben wurden (Khan et al. 2000).

Für die Untersuchungen wurde DNA von insgesamt 39 Triticale (24 anfällig, 15 putativ resistent), sowie einer anfälligen und zwei resistenten Weizensorten isoliert. Die SSR-Analysen erfolgten nach Standardprotokollen auf einem ALF Express bzw. MegaBACE Capillary Sequencer. Es wurden 16 Primerpaare untersucht, die auf Chromosom 2D bzw. auf den homöologen Chromosomen 2A oder 2B liegen (barc005, barc101, cfd006, gwm0010, gwm0275, gwm0312, gwm0320, gwm0328, gwm0349, gwm0473, wmc041, wmc177, wmc181, wmc356, wmc602, psp3039). Einige Primerpaare zeigten keine oder nur unspezifische Amplifikation in Triticale. Eine Assoziation einzelner Allele mit der Ausprägung der Resistenz konnte mit den acht gut auswertbaren und polymorphen Markern der Chromosomen 2D und 2A (gwm0275, gwm0312, gwm0320, gwm0328, gwm0473, wmc041, wmc177, wmc181) nicht festgestellt werden.

3.1.6 Ergebnisse des Ringversuchs

Das Prüfsortiment umfasste insgesamt 30 Prüfglieder, davon 20 Roggen (HYB1–HYB6, LP1-LP14), 3 Weizensorten (Cäsar, Charger, Farandole) und 7 Triticalesorten (Algalo, Binova, Capital, Colossal, Modus, Ticino, Viktor). In einigen Versuchsumwelten konnten in einem der beiden Versuchsjahre keine Daten erhoben werden. Aufgrund der geringen Reproduzierbarkeit der WSSMV-Infektionen im Roggen wurde der Klimakammertest mit WSSMV in Hohenheim 2007 nicht mehr durchgeführt. Die Ergebnisse der einzelnen Versuchsumwelten sind im Anhang in den Tabellen A6 und A7 für SBCMV und WSSMV dargestellt. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind für die beiden Versuchsjahre 2006 und 2007 jeweils die Mittelwerte aus den beiden Wiederholungen als Anteil infizierter Pflanzen je Prüfglied (in %) angegeben.

An den Feldstandorten Walternienburg und Gödnitz scheint die Virulenz der dort auftretenden Isolate von SBCMV höher zu sein als an den Standorten Bergen und Petkus. Eine ähnliche Tendenz gilt für die Daten zu WSSMV. Aufgrund der vorliegenden, meist zweijährigen Daten ist es dennoch nur sehr schwer möglich, eindeutige Schlussfolgerungen zu ziehen. Zwar gibt es beim Test auf WSSMV- bzw. SBCMV-Resistenz jeweils einige Prüfglieder, die über mehrere Umwelten hinweg eher niedrige oder aber relativ hohe Befallsraten aufweisen, jedoch finden sich jeweils auch einzelne Umwelten, die nicht in das Gesamtbild passen. Bei der Betrachtung der Daten muss auch berücksichtigt werden, dass in einzelnen Umwelten wie z.B. Petkus 2006 (SBCMV) oder Walternienburg 2006 (WSSMV) im gesamten Versuch eher geringe Infektionsraten beobachtet wurden.

Eine mögliche Erklärung für dieses uneinheitliche Bild könnten unterschiedliche Virusstämme / Pathotypen an den verschiedenen Standorten sein. Eine molekulare Charakterisierung der Viren an den jeweiligen Standorten könnte einen Beitrag zur Aufklärung der unterschiedlichen Versuchsergebnisse leisten.

3.2 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die mechanische Übertragung der Viren SBCMV auf Roggen und Triticale und WSSMV auf Triticale konnte etabliert werden. Nach Inokulation mit SBCMV wurden jedoch weder im Roggen noch im Triticale vollständig resistente Prüfglieder identifiziert. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass gegenüber SBCMV nicht mit einer kompletten Immunität gerechnet wird, die für Furoviren nur im Falle einiger Weizen-*Thinopyrum intermedium* Additionslinien von Rumjaun et al. (1996) beschrieben wurde. Möglicherweise tritt in Roggen und Triticale eine solche Immunität nicht auf. Werden die Viren durch mechanisches Abreiben der Blätter in die Pflanze eingebracht, so wird unter Umständen ein vorhandener natürlicher Resistenzmechanismus umgangen, der im Bereich der Wurzel oder bei der Translokation der Viren von der Wurzel in den Blattapparat wirkt. Zur Erfassung des natürlichen Resistenzmechanismus der Pflanzen unter Feldbedingungen sollte daher auf jeden Fall auf infizierten Feldschlägen getestet werden. Für phytopathologische Studien könnte die Übertragungsmethode dennoch interessant sein.

Ähnliches gilt für die mechanische Übertragung von WSSMV auf Triticale. Während hier putativ resistente Genotypen identifiziert wurden, haben sich die im Rahmen des Ringversuchs im Feld geprüften putativ resistenten Genotypen als infizierbar erwiesen, wenn auch zum Teil mit niedrigeren Infektionsraten als die mitgeprüften Weizen oder Roggenlinien. Auch hier muss daher empfohlen werden, für eine sichere Resistenzfassung Prüfungen im Feld, nach Möglichkeit auch an verschiedenen Standorten durchzuführen. Anhand der genetischen Analysen in einigen spaltenden Nachkommenschaften von Triticale kann angenommen werden, dass die Resistenz gegenüber mechanischer Inokulation jeweils auf einem oder wenigen Genen beruht. Auch hier könnte sich jedoch die mechanische Übertragung für weitere phytopathologische Studien zur Aufklärung von Resistenzmechanismen der Pflanzen als hilfreich erweisen.

Einige Nachkommenschaften, die im Triticale für WSSMV-Resistenz nach mechanischer Inokulation spalten wurden an Züchter abgegeben. Ergebnisse aus Feldprüfungen liegen jedoch noch nicht vor. Möglicherweise kann die im Klimakammerversuch festgestellte Resistenz mit anderen Resistenzmechanismen kombiniert werden, um eine breitere Resistenz in die Pflanzen einzulagern.

Die Daten des Ringversuchs ergeben kein einheitliches Bild und sind schwer zu interpretieren. Hier sind noch eine Reihe offener Fragen zu klären, wie zum Beispiel das Auftreten von möglicherweise unterschiedlichen Virusisolaten an den einzelnen Standorten.

4. Zusammenfassung

Im Rahmen des Projektes konnte die Inokulation und der Resistenztest von Roggen und Triticale mit SBCMV etabliert werden. Die Inokulation von Triticale mit WSSMV ist mit ausreichender Infektionsrate möglich, dagegen konnte für die Inokulation von Roggen mit WSSMV kein reproduzierbares Ergebnis erzielt werden.

In Triticale wurden mehrere putativ WSSMV-resistente Herkünfte identifiziert. Mit einigen dieser Herkünfte wurden Kreuzungen resistent x anfällig erstellt. Vorläufige Daten zur Vererbung der Resistenz liegen vor.

Bei den durchgeführten Tests für Resistenz gegenüber SBCMV wurde weder im Roggen noch im Triticale einheitlich resistentes Material identifiziert. Dies kann auf die Umgehung des natürlichen Infektionsweges zurückzuführen sein.

Der zusätzlich zum Projektplan durchgeführte Ringversuch ließ keine einheitlichen Rückschlüsse auf die Resistenz der geprüften Genotypen zu, da die Reaktionen in den einzelnen Umwelten (Standort x Jahr) teilweise deutlich voneinander abwichen.

5. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen;

Die vorgesehenen Ziele zur Etablierung der mechanischen Übertragung der Viren SBCMV und WSSMV wurden im Rahmen des Projekts erreicht mit Ausnahme der Übertragung von WSSMV auf Roggen, die nicht reproduzierbar möglich war. Der immunologische Nachweis beider Viren in den Pflanzen wurde ebenfalls erfolgreich etabliert.

Ein breites Spektrum von Roggen- und Triticaleherkünften wurde hinsichtlich Resistenz gegenüber SBCMV und/oder WSSMV untersucht. Putativ resistentes Ausgangsmaterial wurde jedoch nur für Triticale (WSSMV nach mechanischer Inokulation) identifiziert. Für SBCMV wurden weder in Triticale noch in Roggen eindeutig resistente Herkünfte gefunden. Putativ resistentes Triticalemateriale wurde an einen Züchter zur weiteren Prüfung und Verwendung abgegeben.

Im Triticale wurden spaltende Nachkommenschaften für WSSMV-Resistenz überprüft. Die bei mechanischer Inokulation gefundenen Resistenzquellen scheinen eine einfache mono- oder digenische Vererbung aufzuweisen. Aufgrund von Daten aus dem Ringversuch muss die Nutzbarkeit dieser Form der Resistenz jedoch in Frage gestellt werden. Molekulare Analysen von WSSMV-resistenten und –anfälligen Genotypen mit SSR-Markern der homöologen Gruppe 2 in Weizen ergab keine Assoziation einzelner Markerallele mit dem Resistenzverhalten.

Zukünftige Untersuchungen zur Resistenz von Roggen und Triticale sollten auf alle Fälle auch eine genauere Charakterisierung der an verschiedenen Standorten auftretenden Viren einbeziehen. Dadurch können offene Fragen zum möglichen Auftreten unterschiedlicher Isolate / Pathotypen geklärt werden, die eine Interpretation der hier dargestellten Versuchsergebnisse des Ringversuchs ermöglichen könnten.

6. Literaturverzeichnis

- Bass C, Hendley R, Adams MJ, Hammond-Kosack KE, Kanyuka K (2006) The Sbm1 locus conferring resistance to Soil-borne cereal mosaic virus maps to a gene-rich region on 5DL in wheat. *Genome* 49:1140-1148
- Bauer E, Weyen J, Schiemann A, Graner A, Ordon F (1997) Molecular mapping of novel resistance genes against barley mild mosaic virus (BaMMV). *Theor Appl Genet* 95:1263-1269
- Barbosa MM, Goulart LR, Prestes AM, Juliatti FC (2001) Genetic control of resistance to soilborne wheat mosaic virus in Brazilian cultivars of *Triticum aestivum* L. *Theor. Euphytica* 122:417-422
- Bayles RA, Napier B (2002) HGCA Project Report No. 278: Tolerance of wheat varieties to soil-borne wheat mosaic virus (SBWMV).
<http://www.hgca.com/ftpaccess/docs/projectreports/report278.pdf>
- Carroll JE, Bergstrom GC, Gray SM (2002) Assessing the resistance of winter wheat to wheat spindle streak mosaic bymovirus. *Can J Plant Pathol* 24:465-470
- Clark MF, Adams AN (1977) Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* 34:475-483
- Driskel BA, Hunger RM, Payton ME, Verchot-Lubicz J (2002) Response of hard red winter wheat to soilborne wheat mosaic virus using novel inoculation methods. *Phytopathology* 92:347-354

- Hohmann F, Fuchs E, Grüntzig M, Kuntze L (1996) Entwicklung eines Routinetests zum Nachweis des sugarcane mosaic virus (SCMV) und des maize dwarf mosaic virus (MDMV) auf der Grundlage eines tissue print-immunoblotting (TPIB). *J Plant Dis Prot* 103:464-471
- Huth W (1998) Bodenbürtige Viren an Roggen in Deutschland. *Nachrichtenbl Deut Pflanzenschutz* 50:163-169
- Huth W (2002a) Die bodenbürtigen Viren von Weizen und Roggen in Europa - ein zunehmendes aber durch ackerbauliche Maßnahmen und Anbau resistenter Sorten lösbares Problem. *Gesunde Pflanzen* 54:51-57
- Huth W (2002b) Zwei Formen der Resistenz gegenüber den bodenbürtigen Viren des Weizens und des Roggens. DPG Arbeitskreis "Viruskrankheiten der Pflanzen", Berlin, 18./19.03.2002, Abstracts der Vorträge und Poster. <http://www.phytomedizin.org/ak/15/Tagung2002/Abstracts2002.htm>
- Kanyuka K, Ward E, Adams MJ (2003) Polymyxa graminis and the cereal viruses it transmits: a research challenge. *Mol Plant Pathology* 4:393-406
- Kastirr U, Rabenstein F, Kühne T (2002) Diversität bodenbürtiger Getreideviren in Sachsen-Anhalt. DPG Arbeitskreis "Viruskrankheiten der Pflanzen", Berlin, 18./19.03.2002, Abstracts der Vorträge und Poster. <http://www.phytomedizin.org/ak/15/Tagung2002/Abstracts2002.htm>
- Khan AA, Bergstrom GC, Nelson JC, Sorrells ME (2000) Identification of RFLP markers for resistance to wheat spindle streak mosaic Bymovirus (WSSMV) disease. *Genome* 43:477-482
- König R, Huth W (2003) In Deutschland kommt nicht nur das in Europa weit verbreitete Soil-borne cereal mosaic furovirus vor, sondern - in einem bisher begrenzten Areal - auch das in Amerika lange bekannte Soil-borne wheat mosaic furovirus. DPG Arbeitskreis "Viruskrankheiten der Pflanzen", Heidelberg 27.-28.03.2003, Abstracts der Vorträge und Poster. <http://dpg.phytomedizin.org/ak/15/Tagung2003/Abstracts2003.htm>
- Le Gouis J, Devaux P, Werner K, Hariri D, Bahrman N, Béghin D, Ordon F (2004) rym15 from the Japanese cultivar Chikurin Ibaraki 1 is a new barley mild mosaic virus (BaMMV) resistance gene mapped on chromosome 6H. *Theoretical and Applied Genetics* 108:1521-1525
- Louie R (1995) Vascular puncture of maize kernels for the mechanical transmission of Maize White Line Mosaic Virus and other viruses of maize. *Phytopathology* 85:139-143
- Liu W, Nie H, Wang S, Li X, He Z, Han C, Wang J, Chen X, Li L, Yu J (2005) Mapping a resistance gene in wheat cultivar Yangfu 9311 to yellow mosaic virus, using microsatellite markers. *Theor Appl Genet* 111:651-657
- Madriz-Ordenana K, Rojas-Montero R, Lundsgaard T, Ramirez P, Thordal-Christensen H, Collinge DB (2000) Mechanical transmission of maize rayado fino marafivirus (MRFV) to maize and barley by means of the vascular puncture technique. *Plant Pathology* 49:302-307
- Merkle OG, Smith EL (1983) Inheritance of resistance to soil borne mosaic in wheat. *Crop Sci* 23:1075-1076
- Modawi RS, Heyne EG, Brunetta D, Willis WG (1982) Genetic studies of field reaction to wheat soil-borne mosaic virus. *Plant Dis* 66:1183-1184
- Myers LD, Sherwood JL, Siegerist WC, Hunger RM (1993) Temperature-influenced virus movement in expression of resistance to soilborne wheat mosaic virus in hard red winter wheat (*Triticum aestivum*). *Phytopathology* 83:548-551
- Ordon F, Friedt W (1993) Mode of inheritance and genetic diversity of BaMMV resistance of exotic barley germplasms carrying resistance genes different from ym4. *Theoretical and Applied Genetics* 86:229-233
- Ordon F, Werner K, Pellio B, Schiemann A, Friedt W, Graner A (2003) Molecular breeding for resistance to soil-borne viruses (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2) of barley (*Hordeum vulgare* L.). *J Plant Dis Prot* 110:287-295
- Proll E (1997) Erfahrungen mit dem direct tissue blotting immuno assay (DTBIA) bei der PVY-Resistenzprüfung an Kartoffeln. In: Vortragsammlung: Wintertagung der AG Kartoffelzüchtung und Pflanzguterzeugung der Gesellschaft für Pflanzenzüchtung e.V., 19./20.11. 1997, Göttingen
- Ruge B, Linz A, Pickering R, Proeseler G, Greif P, Wehling P (2003) Mapping of Rym14^{Hb}, a gene introgressed from *Hordeum bulbosum* and conferring resistance to BaMMV and BaYMV in barley. *Theor Appl Genet* 107:965-971
- Rumjaun A, Jahier J, Trottet M, Lapiere H (1996) Identification of a potential source of complete resistance to soilborne wheat mosaic virus in a wheat-*Thinopyrum* intermedium addition line. *J Phytopathology* 144:135-138
- Stein N, Perovic D, Kumlehn J, Pellio B, Stracke S, Streng S, Ordon F, Graner A (2005) The eukaryotic translation initiation factor 4E confers multiallelic recessive Bymovirus resistance in *Hordeum vulgare* (L.). *Plant J* 42:912-922

- Vallega V, Rubies-Autonell C, Turina M, Ratti C, Contoli S (1999) Reaction of durum wheat cultivars to infections by SBWMV grown in northern Italy during 1995-1996. *J Plant Dis Prot* 106:284-290
- Van Koevering M, Haufler KZ, Fulbright DW, Isleib TG, Everson EH (1987) Heritability of resistance in winter wheat to wheat spindle streak mosaic virus. *Phytopathology* 77:742-744
- Werner K, Friedt W, Laubach E, Waugh R, Ordon F (2003) Dissection of resistance to soil-borne yellow-mosaic-inducing viruses of barley (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2) in a complex breeders' cross by means of SSRs and simultaneous mapping of BaYMV/BaYMV-2 resistance of var. 'Chikurin Ibaraki 1'. *Theor Appl Genet* 106:1425-1432
- Wiese MV, Ravenscroft AV, Everson EH (1974) Incidence of wheat spindle streak mosaic among ten wheat cultivars and its effect on yield. *Plant Dis Rep* 58:522-525

Anhang

Tabelle A1: Vergleich Infektionsversuche SBCMV mit infizierter Erde (BAZ, zwei Testreihen) und mechanische Inokulation (HOH).

Akzessions- Nr. IPK	Art	BAZ Test1*	BAZ Test2*	HOH*
R650**	<i>Secale cereale</i> L. subsp. <i>cereale</i>	5/5	1/9	11/15
R2049	<i>Secale cereale</i> L. subsp. <i>cereale</i>	1/5	9/12	6/6
R2320	<i>Secale cereale</i> L. subsp. <i>cereale</i>	-	2/12	8/15
R808	<i>Secale cereale</i> L. subsp. <i>segetale</i> Zhuk.	6/11	7/7	8/15
R1034	<i>Secale</i> sp.	8/8	3/10	15/15
R1763	<i>Secale</i> sp.	1/8	11/13	13/15
R809	<i>Secale</i> sp.	9/9	6/6	8/15
R278	<i>Secale strictum</i> (Presl) Presl (x <i>cereale</i> L.)	8/8	3/7	14/15
R797	<i>Secale strictum</i> (Presl) Presl subsp. <i>anatolicum</i> (Boiss.) Hammer	7/7	2/7	0/15
R57	<i>Secale strictum</i> (Presl) Presl subsp. <i>kuprijanovii</i> (Grossh.) Hammer	4/8	0/5	2/14
R580	<i>Secale strictum</i> (Presl) Presl subsp. <i>kuprijanovii</i> (Grossh.) Hammer	8/8	0/6	15/15
R823	<i>Secale strictum</i> (Presl) Presl subsp. <i>kuprijanovii</i> (Grossh.) Hammer	12/12	1/1	4/15
R544	<i>Secale strictum</i> (Presl) Presl subsp. <i>strictum</i>	8/8	1/5	1/15
R1033	<i>Secale sylvestre</i> Host	8/8	0/5	15/15
R901	<i>Secale sylvestre</i> Host	7/7	2/9	12/12
R1156	<i>Secale vavilovii</i> (x <i>cereale</i>)	3/8	8/11	13/15
R1152	<i>Secale vavilovii</i> Grossh.	2/8	4/8	14/15
R630	<i>Secale</i> x <i>derzhavinii</i> Tzvel.	7/7	2/9	6/15
R632	<i>Secale</i> x <i>derzhavinii</i> Tzvel.	2/2	4/12	7/15

* Anzahl infizierter Pflanzen / Gesamtpflanzenzahl

**Fettdruck: resistente EP mit L301 gekreuzt

Tabelle A2: Prüfung eines Genbanksortiments von Roggen mit SBCMV (mechanische Inokulation). Dargestellt sind die Ergebnisse der Probenahme (TPIA) 6 bzw. 10 Wochen nach Inokulation.

	TPIB 6 W. nach Inokulation				TPIB 10 W. nach Inokulation			
	Prüfglied/ Wh.	Pflanzenzahl	davon infiziert	Infektionsrate in %	Prüfglied/ Wh.	Pflanzenzahl	davon infiziert	Infektionsrate in %
Charger (Weizen)	01/01	15	9	60	01/01	15	13	87
	01/02	15	0	0	01/02	15	11	73
Esprit	02/01	15	3	20	02/01	15	5	33
	02/02	15	1	7	02/02	15	1	7
Nikita	03/01	15	3	20	03/01	15	4	27
	03/02	15	1	7	03/02	15	7	47
L301	04/01	15	3	20	04/01	15	7	47
	04/02	15	3	20	04/02	12	4	33
Alfa	05/01	15	4	27	05/01	15	7	47
	05/02	15	2	13	05/02	13	2	15
Altevogt 14158	06/01	12	5	42	06/01	11	4	36
	06/02	15	7	47	06/02	13	6	46
AMD II/2	07/01	15	3	20	07/01	15	5	33
	07/02	15	3	20	07/02	14	5	36
Arnio	08/01	15	0	0	08/01	15	1	7
	08/02	15	4	27	08/02	14	5	36
Anna	09/01	15	2	13	09/01	15	2	13
	09/02	13	5	38	09/02	13	7	54
Athens Abruzzi	10/01	14	2	14	10/01	13	4	31
	10/02	15	1	7	10/02	13	5	38
Autuma	11/01	15	1	7	11/01	14	2	14
	11/02	15	1	7	11/02	15	3	20
Balbo	12/01	15	7	47	12/01	15	9	60
	12/02	13	3	23	12/02	12	5	42
Bandellier `82	13/01	14	1	7	13/01	13	3	23
	13/02	15	0	0	13/02	15	8	53
Belorusskaja	14/01	15	2	13	14/01	15	5	33
	14/02	14	2	14	14/02	14	4	29
Bergroggen	15/01	12	2	17	15/01	12	2	17
	15/02	14	1	7	15/02	14	3	21
Bernburger Futterroggen	16/01	15	3	20	16/01	15	4	27
	16/02	13	1	8	16/02	13	3	23
Böhmerwaldroggen	17/01	15	0	0	17/01	15	2	13
	17/02	15	2	13	17/02	14	4	29
Borell	18/01	14	0	0	18/01	14	3	21
	18/02	14	3	21	18/02	13	6	46
Borellus	19/01	15	1	7	19/01	15	4	27
	19/02	14	4	29	19/02	14	4	29
Brandt's Marien	20/01	15	6	40	20/01	15	10	67
	20/02	15	3	20	20/02	15	5	33
Breno	21/01	15	2	13	21/01	15	5	33
	21/02	15	10	67	21/02	15	13	87
Carokurz	22/01	13	5	38	22/01	12	7	58
	22/02	14	3	21	22/02	14	7	50
Carsten"S"	23/01	15	6	40	23/01	15	8	53
	23/02	14	0	0	23/02	14	5	36
CHD 181 I83	24/01	15	1	7	24/01	15	4	27
	24/02	15	0	0	24/02	15	2	13
Anfällige Kontrolle: Alcedo (Weizen)		74	27	36		61	36	59

Tabelle A3: Prüfung eines Triticale-Sortiments auf Resistenz gegenüber WSSMV bzw. SBCMV.

Sorte bzw. Linie / Herkunft	WSSMV	SBCMV	Sorte bzw. Linie / Herkunft	WSSMV	SBCMV	Sorte bzw. Linie / Herkunft	WSSMV	SBCMV
1 SW 92a / SVAL	(+)	+	Moreno	(+)	+	TIW 351 / SaKa	+	+
117 / 92 / UHOH	+	+	Mostral / INRA	+	+	TIW 66/ UHOH	+	+
131 / 92 / UHOH	+	+	Mundo	+	+	tm 001 / Nordsaat	+	+
17 / 89 / UHOH	(+)	+	Nemo	+	+	tm 002 / Nordsaat	(+)	+
2 SW 119f / SVAL	(+)	+	Origo / SVAL	+	+	tm 003 / Nordsaat (Lupus)	(+)	+
2 SW 72q / SVAL	(+)	+	Partout / Hege	-	+	tm 010 / Nordsaat	(+)	+
2F95 / Franck	(+)	+	Piano / Kruse	+	+	tm 018 / Nordsaat	(+)	+
3 / 11 / 90 / UHOH	+	+	Pinokio / Kruse	(+)	+	tm 019 / Nordsaat (Domus)	(+)	+
3021 - 99 / SaKa	(+)	+	Plai / ITTU	+	+	tm 11a / Nordsaat	(+)	+
5133 / Franck	(+)	+	Prader / Fossati	+	+	tm 11b / Nordsaat	+	+
5628 / Franck	+	+	Prego / Kruse	(+)	+	Tridel / Fossati	+	+
89056 / Franck	+	+	Prelamo / SVAL	(+)	+	Trimaran / Lochow	+	+
89060 / Franck	(+)	+	Prospect / ITTU	+	+	Trinidad / Hege	+	+
89061 / Franck	(+)	+	RAH - 121/94 IHAR	+	+	VB 14 / Lochow	+	+
Alamo / Kruse	(+)	+	RAH - 122/95 IHAR	+	+	VB 20 / Lochow	-	+
Algalo / SVAL	-	+	RAH - 124/95 IHAR	+	+	VB 26 / Lochow	+	+
Angus / Franck	(+)	+	RAH - 125/95 IHAR	+	+	VB 28 / Lochow	+	+
Babor / Hege	(+)	+	RAH 116 / Franck	(+)	+	VB 29 / Lochow	(+)	+
Beta / ITTU	(+)	+	Salvego / SVAL	(+)	+	VB 3 / Lochow	+	+
Binova	-	+	Santop / Hege	+	+	VB 31 / Lochow	(+)	+
Boreas / SaKa	+	+	Silver / ITTU	+	+	VB 32 / Lochow	(+)	+
Brio / Fossati	-	+	Sirius / Fossati	+	+	VB 34 / Lochow	+	+
Calao / INRA	+	+	T 48-33 / INRA	-	+	VB 4 / Lochow	+	+
Canar / ITTU	+	+	T 87-1/ UHOH	(+)	+	VB 5 / Lochow	+	+
Capital / INRA	-	+	tf 002 / Nordsaat (Janus)	+	+	VB 6 / Lochow	+	+
Castor / ITTU	(+)	+	tf 006 / Nordsaat	(+)	+	VB 7 / Lochow	+	+
CH - 52440 / Fossati	+	+	tf 014 / Nordsaat	+	+	Viktor	-	+
Clercal	(+)	+	tf 018 / Nordsaat	-	+	Vinoko / SVAL	(+)	+
Colina / ITTU	+	+	tf 026 / Nordsaat	(+)	+	Vision / Lochow	+	+
Colossal / INRA	-	+	tf 029 / Nordsaat	(+)	+			
DI 34-2 / INRA	(+)	+	tf 030 / Nordsaat	+	+			
Disco / Kruse	(+)	+	tf 031 / Nordsaat	+	+	Legende:		
Donatus	-	+	tf 032 / Nordsaat	(+)	+	anfällig	+	
Ego / SVAL	+	+	tf 033 / Nordsaat	(+)	+	anfällig (geringe Pfl.zahl)	(+)	
Falko / SVAL	(+)	+	tf 034 / Nordsaat	(+)	+	putativ resistent	-	
Focus	+	+	tf 035 / Nordsaat	(+)	+			
Galtjo / SVAL	(+)	+	tf 036 / Nordsaat	+	+	Kreuzungselter		
HE 104-99 / Hege	+	+	tf 20b / Nordsaat	(+)	+			
HE 105-99 / Hege	+	+	TF2 / ITTU	(+)	+			
HE 106-99 / Hege	+	+	Ticino / SaKa	+	+			
HE 107-99 / Hege	-	+	Titan / ITTU	(+)	+			
HE 109-99 / Hege	+	+	TIW 133/ UHOH	(+)	+			
Idaho / SVAL	+	+	TIW 163/ UHOH	(+)	+			
Kortego / SVAL	(+)	+	TIW 266 / SaKa	+	+			
Lasko	+	+	TIW 267 / SaKa	(+)	+			
Logo / TIS6 / Hege	+	+	TIW 280 / Hege	-	+			
Malno	(+)	+	TIW 338 / Hege	(+)	+			
Meridal / Fossati	+	+	TIW 339 / Hege	(+)	+			
Modus	+	+	TIW 350 / SaKa	+	+			

Tabelle A4: Prüfung eines Triticale-Sortiments von CIMMYT auf Resistenz gegenüber WSSMV bzw. SBCMV.

Linienbezeichnung CIMMYT (Abstammung)	WSSMV	SBCMV	Linienbezeichnung CIMMYT (Abstammung)	WSSMV	SBCMV
HOH5 // ANOAS 5/ FARAS 1/3 / LAD 593	+	+	MAH 15078.2/ STAN 1	+	+
T.SHARONENSIS /1087 // ALAMO (PRESTO) /3/...	+	+	MAH 7887.7-1/ 4/ M75.8064/ 2*6TA876 //....	-	+
T.SHARONENSIS //1087 // ALAMO (PRESTO) /3/...	+	+	4411.6/ 3/ PRESTO // 2*TESMO 1/MUSK 603	+	+
T.SHARONENSIS //1087 // ALAMO (PRESTO) /3/...	+	+	CHD 1190/ 3/150.83 // 2*TESMO 1/MUSK 603	+	+
CHD 1089 / VERO	+	+	DAD 3141 // ANOAS 5/STIER 13	(-)	+
CT179.80 / NEMO	+	+	PRESTO 1RS.1DL (5+10) //BULL 10/ MANATI 1	(-)	+
CT179.80 / NEMO	+	+	TCL D2/TCL 37 //MT76.725/LT392 /3/ ERIZO 10	+	+
MODUS / HOH 93- 19	+	+	6TB164/ VT75229 // SNP / 6TB164 /3/ NIMIR 4/...	-	+
PRESTO 1RS.1DL (5+10) / ELDORADO (LAD_407.88)	+	+	318_TR-1-1001/ 3/ FAHAD_8-2*2 //PTR/ PND-T	+	+
HOH 93-19 / NEMO	+	+	CHD 1089/ POPP 1 2	-	+
HOH 93-19 /LAD 593	+	+	CHD 378 87 /POP 1 2	+	+
6TB164/ VT75229 // SNP / 6TB164 / 3 / NEMO	+	+	PRESTO 6D (6A)/POPP 1 2	+	+
6TB164/ VT75229 // SNP / 6TB164 / 3 / NEMO	+	+	6TB164/ VT75229 //SNP/ 6TB164/ 3/ POPP 1 2	-	+
PRESTO 1D(1A) (2+12)/ 4411.6	+	+	6TB164/ VT75229 //SNP/ 6TB164/ 3/ POPP 1 2	-	+
PRESTO 1D (1A) (2+12)/GRADO	+	+	DAD 3141 //BULL 10/ MANATI 1	+	+
PRESTO 1D (1A) (2+12) // T.SHARONENSIS /1087	+	+	6TB164/VT75229 //SNP/ 6TB164/ 3 /ERIZO 10	-	+
PRESTO 1RS.1DL (5+10) / CT179.80	+	+	CT776.81 //PASSI 4-1/NIMIR 3	-	+
PRESTO 1RS.1DL (5+10)/LT1071.82	+	+	02-94-011 02-93-020 17-35/3/Faras 2 //...	+	+
PRESTO 1RS.1DL(5+10)/MAH10947.1	+	+	02-94-014 02-93-53459-42 // ERIZO 10/BULL 1-1	+	+
PRESTO 1RS.1DL(5+10) // EMS-6TB212 / 6TA876	+	+	T.SHARONENSIS /1087/ 3/150.83 //2*TESMO 1/...	+	+
4411.6 / STAN II	+	+	MAH 10434.87 //ERIZO 11/Yogui 3/3/ LASKO/...	-	+
4411.6 / STAN II	+	+	STANI/ MORSA // MORSA	+	+
4411.6 / STAN II	-	+	CHD 378 87/ PEURA 5-1	+	+
4411.6 / STAN II	-	+	CT.179.80/ 4/ TAPIR/ YOGUI 1 // 2*MUSX 3/ BAGAL 2	+	+
4411.6 / STAN II	+	+	DAD 3141 //RHINO 3/ BULL 1-1	+	+
CHD1190 / STAN II	+	+	LT1056.82/ 3/ NIMIR 1/ HARE 265 //ERIZO 9	+	+
DAD 3141 / 3/ TCL D2/TCL 37 // 6TA876 SORGO DWARF	-	+			
M75.8064/2*6TA876 // EMS-6TB219/...	+	+	Legende:		
T.SHARONENSIS //1087 // ALAMO (PRESTO)	+	+	anfällig	+	
TCL D2/TCL 37 //MT.76.725/LT392 /3/ STAN II	+	+	putativ resistent (zweifach getestet)	-	
4411.6 / STAN II	+	+	putativ resistent	(-)	
4411.6 / STAN II	-	+	(wegen Saatgutmangel nur ein Test mit 5 EP möglich)		
CHD 1190/ STANII	(-)	+			
CHD 982 / SWT 832	(-)	+			
DAD 3141 / 3/ TCL D2 / TCL 37 //6TA876 SORGO DWARF	+	+			
JENKINS SHT M5 // EMS M83.6039/CT583.81/3/...	+	+			
MAH 7499.1/ BRIO	+	+			
RES-17282-92 M6 /3/ PULL 18/ OKAPI/ SALVO/ 4/...	-	+			
T.SHARONENSIS //1087 // DAD3141	+	+			
B86-2667 / 3/ 6TA876/EER // B86-2667/4/CHD 333 85	+	+			
EMS M83.6126/3/GNU 1/ ARDI 1 // RHINO 3	+	+			
FLORA //B86-3335/6TB059/3/LT1439.82	+	+			
HOH10/STAN 1	+	+			
HOH10/STAN 1	+	+			
HOH5 /CHD 378 87	+	+			
4411.6 /5/MS RB //DAWS/SNP/4/EEB //TK29-154/...	+	+			
EMS M83.6039/CAAL //STAN1	+	+			
EMS-6TB219 / 6TA876 //ONA 1/ERIZO 12/ 3/ STAN1	+	+			
GRADO //CT583.81/ EMS M.83.6039/ 3/ NE 86T 666	+	+			
HOH10/ STAN 1	+	+			
HOH9/DAD 3141	+	+			
LT472.82/ PEURA 5-2	+	+			
MAH 15078.2/ STAN 1	+	+			
MAH 15078.2/ STAN 1	+	+			
MAH 15078.2/ STAN 1	+	+			

Tabelle A5: Ergebnisse des Ringversuchs für SBCMV. Dargestellt sind für die einzelnen Versuchsjahre die Mittelwerte für den Anteil infizierter Pflanzen (in%) aus zwei Wiederholungen.

SBCMV Genotyp	KK HOH		KK BAZ		KK LP		Walternienburg		Gödnitz		Eckeloh		Bergen		Petkus	
	2006	2007	2006	2007	2006	2007	2006	2007	2006	2007	2006	2007	2006	2007	2006	2007
HYB1	78	57	58	0	23		95	100	67	89		93	95	100	0	
HYB2	56	65	67	11	0		83	100	50	100		50	57	51	0	
HYB3	33	46	41	0	8		59	95	61	79		9	46	49	0	
HYB4	7	63	31	6	29		18	90	23	50		36	8	13	0	
HYB5	82	72	36	0	33		77	80	100	70		10	77	23	0	
HYB6	48	70	59	17	42		59	73	71	57		19	35	42	0	
LP1	66	57	16	0	63		77	100	97	75		77	92	79	0	
LP2	17	14	8	3	58		21	95	89	76		13	55	53	0	
LP3	62	41	50	0	25		48	100	82	77		14	46	43	0	
LP4	24	41	31	7	25		0	37	8	31		10	20	10	0	
LP5	19	14	32	0	10		14	90	16	65		25	8	50	0	
LP6	24	54	7	0	43		12	90	32	60		18	19	38	0	
LP7	17	23	30	0	48		24	95	42	96		55	8	100	0	
LP8	10	10	23	3	40		10	100	22	67		14	8	23	0	
LP9	83	42	69	0	35		87	92	100	43		fehlt	100	50	6	
LP10	93	38	40	32	26		62	20	95	82		0	77	5	0	
LP11	90	55	55	0	33		76	39	100	77		0	81	0	0	
LP12	24	27	32	3	18		36	14	39	49		0	36	0	0	
LP13	76	19	75	7	29		30	39	60	23		39	58	5	0	
LP14	18	24	39	0	13		6	37	11	32		29	50	0	0	
Caesar	50	41	6	3	0		10	10	3	0		0	4	0	0	
Charger	60	26	6	0	0		0	4	10	0		5	12	0	0	
Farandole	62	35	13	19	0		3	0	13	15		0	23	0	0	
Algalo	83	49	58	0	36		50	100	85	71		30	58	73	0	
Binova	93	62	88	13	50		36	75	90	0		50	71	84	0	
Capital	31	32	82	11	83		24	71	29	35		34	27	18	0	
Colossal	88	59	54	0	53		85	100	87	45		64	72	82	0	
Modus	86	46	76	0	68		81	100	97	88		18	80	77	0	
Ticino	47	38	7	0	26		9	57	30	39		19	32	13	0	
Viktor	55	28	84		55		17	84	8	47		10	32	48	0	

Tabelle A6: Ergebnisse des Ringversuchs für WSSMV. Dargestellt sind für die einzelnen Versuchsjahre die Mittelwerte für den Anteil infizierter Pflanzen (in%) aus zwei Wiederholungen.

WSSMV Genotyp	KK HOH		KK LP		Walternienburg		Gödnitz		Bergen		Petkus	
	2006	2007	2006	2007	2006	2007	2006	2007	2006	2007	2006	2007
HYB1	0		38		58	100	37	56	10	66	64	
HYB2	0		29		4	67	5	100	10	73	47	
HYB3	0		38		0	84	20	68	4	13	61	
HYB4	0		43		21	44	15	50	12	0	27	
HYB5	0		60		9	55	20	27	18	0	14	
HYB6	0		32		5	28	29	28	29	0	41	
LP1	0		75		14	52	34	100	8	68	25	
LP2	0		67		18	68	43	29	10	0	60	
LP3	0		25		12	33	36	20	12	0	76	
LP4	0		42		18	44	44	90	20	38	30	
LP5	0		75		14	73	18	28	24	15	45	
LP6	0		71		6	70	13	84	4	11	37	
LP7	0		24		0	54	8	35	8	34	28	
LP8	0		27		0	78	0	42	31	16	48	
LP9	0		27		3	83	50	65	30	0	69	
LP10	0		35		21	35	71	86	15	23	36	
LP11	0		7		8	59	38	43	8	10	31	
LP12	2		18		3	18	3	47	0	0	24	
LP13	0		35		0	31	9	50	8	8	37	
LP14	0		40		0	58	0	52	4	3	56	
Caesar	33		0		0	0	0	0	12	0	52	
Charger	74		0		0	9	0	0	23	0	35	
Farandole	98		45		0	0	3	0	19	0	33	
Algalo	2		79		19	50	9	24	4	0	20	
Binova	5		83		57	92	6	50	48	0	62	
Capital	0		80		38	71	25	52	5	38	56	
Colossal	5		53		6	92	0	15	4	0	40	
Modus	60		71		0	50	3	30	19	0	52	
Ticino	0		16		4	23	27	4	5	0	31	
Viktor	0		45		0	71	0	39	27	0	61	