

Projekt-Nr.: G 103/04 HS

Verringerung des Mykotoxingehaltes von Weizen bei Befall mit Ährenfusariosen durch zuchtmethodische Verfahren (04HS015)

Abschlußbericht

Laufzeit des Projekts: 01.04.2005 – 31.03.2008

Beteiligte Forschungsstellen:

TP 1: Zuchtmethodische Verfahren:

Universität Hohenheim (720)

Landessaatzuchtanstalt

Prof. Dr. Thomas Miedaner

Fruwirthstr. 21

70593 Stuttgart

Tel: 0711/459-22690

Fax: 0711/459-23841

E-mail: miedaner@uni-hohenheim

M.Sc. agr. Hans-Henning Voß

TP2: Markergestützte Verfahren:

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung

Dr. L. Hartl, Dr. G. Zimmermann

Vöttinger Str. 38

85354 Freising

Tel: 08161 / 71-3814

Fax: 08161 / 71-4085

E-mail: lorenz.hartl@lfl.bayern.de

Dipl. Ing. agr. Josef Holzapfel

Julius-Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, 06484 Quedlinburg,
Dr. Frank Rabenstein

Beteiligte Zuchtfirmen:

KWS LOCHOW GMBH, 29296 Bergen, Dr. Viktor Korzun, Dr. Erhard Ebmeyer, Meike Scholz

RAGT 2n, 38855 Silstedt, Hilmar Cöster, Uta Liesenberg

Saatzucht Schweiger, 85368 Moosburg, Dr. Hubert Kempf

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.



Teilprojekt 1: Zuchtmethodische Verfahren

Gliederung:

<u>1.</u>	<u>Ziele und Aufgabenstellung des Projekts</u>	3
<u>1.1</u>	<u>Planung und Ablauf des Projekts</u>	3
<u>1.2</u>	Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	4
<u>2.</u>	<u>Material und Methoden</u>	7
<u>3.</u>	<u>Ergebnisse</u>	11
<u>3.1</u>	<u>Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse</u>	11
<u>3.2</u>	<u>Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse</u>	21
<u>4.</u>	<u>Zusammenfassung</u>	22
<u>5.</u>	<u>Gegenüberstellung der geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen</u>	24
<u>6.</u>	<u>Literaturverzeichnis</u>	25
<u>7.</u>	Eigene Literatur	27

1. Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

Aus zuchtmethodischer Sicht sollen folgende Ziele im Projekt erreicht werden:

1. Phänotypische Erfassung der Aufspaltungsvariation und Häufigkeit von Transgressionen von vier spaltenden Winterweizenpopulationen, welche *Rht*-Gene enthalten
2. Beziehung zwischen der visuellen Ährenbonitur, der *Fusarium*-Myzelmenge (ELISA) und dem DON-Gehalt des Erntegutes an einer ausgewählten Stichprobe der spaltenden Nachkommenschaften
3. Einfluss der Verwendung von Zwerg (*Rht*)-Genen und weiterer morphologischer Merkmale auf die Resistenz
4. Erprobung eines neu entwickelten ELISA auf *Fusarium*myzel für den breiten Einsatz in der züchterischen Praxis
5. Prüfung der Resistenz von acht ausgewählten Weizenlinien gegen elf verschiedene, z.T. hochaggressive *Fusarium*isolate

1.1 Planung und Ablauf des Projekts

Milestones	2004		2005		2006		2007		2008
	1	2	1	2	1	2	1	2	1
		2	1	2	1	2	1	2	1
Feldprüfung 1									
Feldprüfung 2									
DON-Analyse ausgewählter Prüfglieder									
Bestimmung <i>Fusarium</i> -Gehalt (ELISA)									
Feldprüfung 3									
Daten-Auswertung und Interpretation									

Dem Arbeitsplan entsprechend wurden die Feldprüfungen 1 und 2 von vier Kreuzungspopulationen aus adaptiertem Winterweizen jeweils in an zwei Orten im Versuchsjahr 2005 und an drei Orten im Versuchsjahr 2006 durchgeführt und die erhobenen phänotypischen Daten in Hohenheim statistisch ausgewertet. Somit liegen für diese vier Populationen Bonitur-Daten für eine Serien-Verrechnung über die im Projektantrag vorgesehenen fünf Umwelten (Ort x Jahr-Kombinationen) vor.

Darüber hinaus wurden die Versuche der Feldprüfung 3 für 2006 und 2007 in Kooperation mit allen Projektpartnern durchgeführt. Dazu wurden zwei Sätze isogener Linien in acht bzw. 4 Umwelten geprüft. Darüber hinaus wurde ein zusätzlicher Versuch mit faktoriellen Inokulation von mittel bis wenig anfälligen Weizensorten mit hoch aggressiven *Fusarium*-Isolaten an zwei Orten in 2007 durchgeführt um eine mögliche Adaptation des Pilzes an ein gesteigertes Resistenzniveau im Weizen zu prüfen. Die Bestimmung des *Fusarium*-Pilzmyzelgehaltes mittels eines neu entwickelten ELISA durch Herrn Dr. F. Rabenstein

(Julius-Kühn-Institut Quedlinburg) sowie die in Hohenheim durchgeführten DON-Analysen anhand ausgewählter Genotypen wurden in 2007 abgeschlossen. Neben der Aussaatplanung und Probenaufarbeitung lief begleitend seit der Ernte im Jahr 2006 die Datenverrechnung, -auswertung sowie die Interpretation.

1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand an den angeknüpft wurde

Fusarium-Resistenz bei Weizen ist ein quantitativ vererbtes Merkmal (Mesterházy 1995). Das Zusammenwirken der verantwortlichen Loci ist überwiegend additiv (Snijders 1990a,b, Bai & Shaner 1994). Genotypen mit geringer Anfälligkeit zeigen auch bei hohem Infektionsdruck wenig Symptome und in der Regel geringe DON-Gehalte im Erntegut. *Fusarium*-resistente Genotypen sind bei Weizen in drei Genpools zu finden: Sommerweizen aus China und Japan, Sommerweizen aus Süd-Amerika und Winterweizen aus Europa (Ruckenbauer et al. 2001; Rudd et al. 2001, Beschreibende Sortenliste 2004). Allerdings ist bis heute noch kein Genotyp mit vollständiger Resistenz gegen Ährenfusarien identifiziert worden. Die bisher, insbesondere in den USA, am häufigsten in der Züchtung verwendete Resistenzquelle ist Sumai3. Sie stammt aus dem subtropischen China, ist nicht an humid-feuchte Klimabedingungen adaptiert (Ruckenbauer et al. 2001, Rudd et al. 2001) und besitzt eine sehr hohe Anfälligkeit gegen Braunrost und Mehltau, eine extreme Lageranfälligkeit sowie eine völlig ungenügende Ertragsleistung.

Aber auch im adaptierten europäischen Weizenmaterial lassen sich Genotypen finden, die deutlich weniger Ährensymptome und geringere DON-Gehalte im Erntegut zeigen (Hartl et al. 2001, Miedaner et al. 2003, BSA). Bei Inokulation mit Sporensuspensionen ergibt sich eine Korrelation zwischen Ährenbefall und DON-Gehalt im Korn (Mesterházy et al. 1999, Miedaner et al. 2003). Die dabei festgestellten Korrelationen liegen bei $r = 0,8-0,9$. Die Korrelationsdiagramme zeigen aber gerade im mittleren Bereich der Anfälligkeit, der für die praktische Züchtung sehr wichtig ist, eine Streuung des DON-Gehaltes bei gleichem Befall. Die phänotypisch quantitative Ausprägung der *Fusarium*-Resistenz 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 bedeutenden Genotyp x Umwelt-Interaktionen, also Rangverschiebungen der Anfälligkeit von Genotypen in unterschiedlichen Umwelten (Miedaner et al. 2001). Dies hat eine niedrige Heritabilität für die *Fusarium*-Resistenz in frühen Generationen und auf Einzelpflanzen-Basis zur Folge (Snijders 1990b). Für eine verlässliche Einschätzung der Resistenzeigenschaften ist eine künstliche Inokulation in möglichst vielen Umwelten (Orte/Jahre) und in Parzellenprüfung notwendig. Diese kann beim Züchter entweder erst in relativ späten Generationen erfolgen (ab F_4 , d.h. vier Jahre nach der Kreuzung) oder erfordert eine deutliche Umstellung des herkömmlichen Pedigree-Verfahrens (Herstellung von Teilrassen in frühen Generationen). Die Evaluierung von Genotypen hinsichtlich ihrer Resistenzeigenschaften wird somit langwierig und kostspielig. Mit Hilfe klassisch-genetischer Studien (Snijders 1990a/b/c; Van Ginkel et al. 1996; Bai et al. 2000; Ban und Suenaga 2000) wurde gezeigt, dass die Vererbung der Resistenz zumindest oligogen ist. Dies wurde durch aktuelle QTL-Analysen bestätigt (s. TP2). Das Zusammenspiel unabhängig vererbter

Resistenzgene wurde mit einer hauptsächlich additiven Genwirkung beschrieben. Allerdings können in einzelnen Kreuzungen auch epistatische Effekte eine Rolle spielen (Snijders 1990a/b; Bai et al. 2000; Buerstmayr et al. 2000). Bei additiver Genwirkung kann es zur Transgression in Kreuzungsnachkommenschaften kommen, wenn die Eltern unterschiedliche Resistenzgene besitzen. Zur Erhöhung des Resistenzniveaus einer Zuchtpopulation bietet sich aufgrund der additiven Genwirkung die rekurrente Selektion mit Einkreuzung unterschiedlicher Resistenzquellen an. Allerdings sind für eine signifikante Verbesserung der Resistenzeigenschaften mehrere Zyklen notwendig (Jiang et al. 1994). Trotz überwiegend optimistischer Beurteilung durch praktische Züchter (z.B. Spanakakis 2003), können bei ungünstigem Zusammentreffen mehrerer Risikofaktoren (Vorfrucht, Relief, Witterung) auch in den weit in der Praxis verbreiteten, besseren Sorten doch erhebliche DON-Mengen auftreten, da sich die Faktoren in ihrer Wirkung multiplizieren (Obst 1997). Zudem zeigen neuere Ergebnisse eines europäischen Ringtests deutlich, dass bei hohem Infektionsdruck selbst Sorten wie Petrus, die in der Beschreibenden Sortenliste mit einer Ausprägungsstufe (APS) der Fusarium-Resistenz von 2 eingestuft sind (BSL 2004), signifikant anfälliger sind als Sumai 3 in denselben Umwelten (Miedaner et al. unveröff.). Obwohl verschiedentlich an dem Zusammenhang zwischen der Resistenz und morphologischen Faktoren gearbeitet wird (z.B. Mesterházy 1995), fehlen solche Untersuchungen zu den praktisch wichtigen Kurzstroh (*Rht*)-Genen in der internationalen Literatur völlig. Die *Rht* (reduced height)-Gene bewirken über einen Eingriff in den Hormonhaushalt der Pflanze eine starke Verminderung der Zellstreckung. Dies führt zu kurzem Wuchs der Pflanze („Kurzstroh-, Zwerggene“), verbesserter Halmstabilität und somit zu einer verminderten Lageranfälligkeit. Zusätzlich werden mehr Assimilate zur sich entwickelnden Ähre transportiert, welches die Ährenfertilität verbessert, zu höherer Kornzahl pro Ähre und letztlich zu einer 8-24%-igen Ertragssteigerung führt, abhängig vom genetischem Hintergrund und der Umwelt (Gale and Youssefian 1985, Flintham et al. 1997, Worland et al. 2001, Li et al. 2006). Die Vorteile der Ertragsteigerung und der verminderten Lagerneigung, die eine höhere N-Düngung zulassen, führten zu einer rapiden weltweiten Verwendung speziell von *Rht-D1b* in der Weizen-Züchtung. In Tabelle 1 sind einige der bekannten *Rht*-Allele und deren Loci aufgelistet.

Tab. 1: Alte und neue Nomenklatur von einigen *Rht*-Allelen (nach Börner et al. 1996 und Peng et al. 1999).

Locus	Neu	Alt
<i>Rht-B1</i>	<i>Rht-B1a</i>	<i>rht1</i>
	<i>Rht-B1b</i>	<i>Rht1</i>
	<i>Rht-B1c</i>	<i>Rht3</i>
	<i>Rht-B1d</i>	<i>Rht1Saitama</i>
<i>Rht-D1</i>	<i>Rht-D1a</i>	<i>rht2</i>
	<i>Rht-D1b</i>	<i>Rht2</i>
	<i>Rht-D1c</i>	<i>Rht10</i>
<i>Rht8</i>		<i>Rht8</i>

Alle bis zum Projektbeginn geprüften Weizensorten mit *Rht*-Genen sind aber mittel bis hoch anfällig gegen Ährenfusariosen. In einer Studie zum Einfluß von *Rht*-Allelen auf die Anfälligkeit gegenüber *Septoria tritici* konnten Simón et al (2004) anhand von isogenen *Rht*-Linien allerdings keinen eindeutigen Zusammenhang zu einer gesteigerten Anfälligkeit gegenüber *Septoria tritici* feststellen.

Inzwischen enthalten etwa 50% der in Deutschland zugelassenen Weizensorten solche Kurzstrohgene, so dass die Studie auch von großer wirtschaftlicher Bedeutung ist. Bisher ist nicht klar, ob *Rht*-Gene und Anfälligkeitsallele gegenüber Ährenfusariosen eng gekoppelt sind. In diesem Fall müßten in den geprüften Populationen trotz erfolgter Rekombination nahezu alle *Rht*-Träger auch hochanfällig sein. Ist der Zusammenhang epidemiologisch begründet, weil etwa die wenigen sehr kurzen Genotypen in Prüfungen meist zwischen vielen langen Genotypen stehen, könnte dies wiederum ihre Anfälligkeit durch erhöhte Luftfeuchtigkeit, längere Beschattung etc. indirekt erhöhen. Bei Pleiotropie bewirken dieselben Gene, die die Wuchshöhe verkürzen, direkt auch eine erhöhte Anfälligkeit und können somit züchterisch nicht getrennt werden.

2. Material und Methoden

Kreuzungspopulationen (Exp. 1 + 2)

Die Nachkommen der Kreuzungspopulationen aus einem anfälligen *Rht-D1b*-tragenden Genotypen und einem Resistenzdonor wurden 2005 und 2006 auf ihre Resistenz gegen Ährenfusarium nach künstlicher Infektion mit einem hoch aggressiven *Fusarium culmorum*-Isolat (FC46) untersucht (Tab.2). Zur ausführlichen Beschreibung der verwendeten Methoden wie Versuchsanlage, Inokulumsproduktion, Inokulation, Symptombonitur sowie Mykotoxin- und Pilzmyzelanalyse siehe 2. Zwischenbericht.

Tab. 2: Material und Prüfungsumfang (Umwelten = Ort x Jahr-Kombinationen)

Exp.	Fragestellung	Material	N Prüfglieder	N Orte			Summe Umwelte
				2005	2006	2007	
1	Spaltende Populationen	Apache x Biscay ¹⁾	190	2	3		5
		Romanus x Pirat ¹⁾	216	2	3		5
		History x Rubens ¹⁾	103	2	3		5
		Solitär x Travix ¹⁾	180	2	3		5
2	Verifizierungs- Populationen	History x Exzellenz ¹⁾	32			4	4
		Apache x Contra ¹⁾	168			3	3
3	Faktorielle Inokulationen	7 WW-Sorten je mit 11 FG- und FC-Isolaten	77			2	2
4	Isogene <i>Rht</i> -Linien	Mercia	6		4	4	8
		Maris Huntsman	5			4	4

¹⁾ *Rht-D1b*-Träger

Im Versuchsjahr 2006 wurden zusätzlich aus den Populationen Apache x Biscay, Romanus x Pirat und History x Pirat Prüfglieder mit vergleichbarer Wuchshöhe selektiert und die DON- sowie die Pilzmyzelgehalte (ExAg) im Erntegut ermittelt. Die ausgewählten Prüfglieder der Population Apache x Biscay rangierten von 76 bis 79 cm, für Romanus x Pirat von 85,5 bis 92,5 cm und für History x Rubens von 82 bis 90 cm gemittelter Wuchshöhe über drei Orte.

Faktorielle Inokulationen (Exp. 3)

Zum Abschluss des Projekts wurden die im Projekt verwendeten Resistenzträger plus Vergleichssorten auf die Stabilität ihrer Fusariumresistenz durch Inokulation mit den aggressivsten Nachkommen zweier Kreuzungen von *F. graminearum* (FG)-Isolaten in Hohenheim und Eckartsweier in 2007 geprüft. Als Kontrolle diente das *F. culmorum* (FC)-Isolat FC46 mit welchem alle Versuche der Populationen durchgeführt wurden. Die Versuchsanlage erfolgte als Spalt-Anlage mit Sorten als Großteilstück und FG- bzw. FC-Isolaten als Kleinteilstück. Neben den zweireihigen Prüfparzellen dienten im Schachbrettmuster angelegte, zweireihige Triticale-Parzellen (Sorte Ticino) als Barrieren zur

Minimierung von Prüfglied-Interaktionen durch Abdrift oder Sekundärinfektionen zur jeweiligen Nachbarparzelle.

Für die verwendeten elf *FG*- und *FC*-Isolate wurde die Methode zur Massenvermehrung in Flüssigkultur nach Reid und Hamilton (1996) verwendet und optimiert. Nach Anzucht auf nährstoffarmen SNA-Medium wurden die Isolate in 50 mm Petri-Schalen bei 20°C für drei Tage unter UV-Licht (Philips TLO, 40W/80, Royal Philips Electronics, Amsterdam) zur Sporenproduktion angeregt. Diese wurden anschließend in 150ml Erlenmeyer-Kolben mit nährstoffarmen Flüssig-Medium überführt und sieben Tage unter UV-Licht geschüttelt, um die Sporenproduktion zu fördern und das Myzelwachstum zu hemmen. Abschließend folgte eine Verdünnung der Sporenlösungen mit Hilfe eines Haemocytometers auf eine Konzentration von 2×10^6 Sporen/ml. Die benötigte Menge für 100 ml Sporensuspension pro Parzelle wurde bis zur Inokulation bei -20°C eingefroren. Zum zügigen Auftauen wurden die konzentrierten Sporenlösungen mit Leitungswasser auf 100 ml aufgefüllt und anschließend individuell mit einer Sprühpistole mit 3 bar auf die jeweilige Parzelle appliziert.

Nach Erscheinen der ersten Symptome erfolgte die 5-malige Bonitur des Fusariumbefalls (s. Exp. 4) angepaßt an den jeweiligen Blühzeitpunkt der Sorte analog zu den isogenen Linien. Nach den Bonituren wurden alle Prüfglieder (Sorte x Isolat-Kombinationen) zur Vollreife von Hand geerntet, gedroschen, gereinigt und vermahlen (Siebporengröße 1mm). Anhand einer Probe von 5g wurde der Gehalt des Typ-B-Trichotheceus Deoxynivalenol (DON) und seiner acetylierten Derivate gemessen.

Isogene Linien (Exp. 4)

Der Einfluß verschiedener *Rht*-Allele auf die Fusariumanfälligkeit wurde anhand von sechs bzw. fünf isogenen *Rht*-Linien im genetischen Hintergrund der britischen Sorten Mercia bzw. Maris Huntsman, erstellt am John Innes Center (Norwich, GB), in den Versuchsjahren 2006 und 2007 geprüft. Im Vergleich zum Wildtyp standen bei den Mercia-Linien mit *Rht-B1b* (aus Norin 10, syn. *Rht1*), *Rht-B1d* (aus Saitama 27, syn. *Rht1S*), *Rht-D1b* (aus Norin 10, syn. *Rht2*), *Rht8* (aus Akakomugi) sowie die Kombination aus *Rht-D1b* und *Rht8* zur Verfügung. Im Vergleich zum Maris Huntsman-Wildtyp lagen Linien mit *Rht-B1b*, *Rht-B1c* (aus Tom Thumb, syn. *Rht3*), *Rht-D1b* und die Kombination aus *Rht-B1b* und *Rht-D1b* vor. Die drei *Rht-D1b*-tragenden kommerziellen Sorten Travix, Certo und Toras dienten als Standards in allen Umwelten. Alle Genotypen wurden von Dr. Viktor Korzun (KWS LOCHOW GMBH) auf die Anwesenheit der entsprechenden *Rht*-Allele anhand von molekularen Markern nach Korzun et al. (1998) und Ellis et al. (2002) untersucht.

Beide Sätze isogener *Rht*-Linien wurden analog zu den Kreuzungspopulationen in zweireihigen Mikro-Parzellen in jeweils vier Umwelten in 2006 und 2007 (Mercia-Linien) bzw. nur 2007 (Maris Huntsman) auf ihren Fusariumbefall nach Inokulation mit dem hochaggressiven *F. culmorum*-Isolat FC46 untersucht. Die Inokulationsproduktion und Inokulation wurden in gleicher Weise wie bei den Kreuzungspopulationen durchgeführt. Jeder Genotyp wurde zu seiner Vollblüte jedoch nur einmal inokuliert. Die drei aufeinanderfolgenden Bonituren des Fusariumbefalls (0-100% befallene Ährchen der gesamten Ährchen einer Parzelle) im Abstand von 3 - 5 Tagen wurden für jeden Genotypen 14 Tage nach Inokulation begonnen, um einen identischen Zeitabstand zwischen Inokulation

und Merkmalerfassung zu gewährleisten. Zusätzlich wurden die Wuchshöhe und das Ährenschiebedatum erfasst.

DON-Analysen

Die DON-Gehalte der selektierten Prüfglieder aus den drei Kreuzungspopulationen Apache x Biscay, Romanus x Pirat und History x Rubens wurden mit einem kommerziellen Enzym-Immunoassay (RIDASCREEN™ FAST DON, R-Biopharm GmbH, Darmstadt) analysiert. Dieser kompetitive Immunoassay detektiert DON und 3-acetyl-DON (Kreuzreaktivität 213%) und zeigt keine Kreuzreaktion mit anderen Trichothecenen wie 15-acetyl-DON, Triacetyl-DON, Nivalenol, Triacetyl-Nivalenol und Fusarenon-X. Die Messungen erfolgten bei 405nm mit Hilfe eines Mikrotiter-Platten-Spektrometers (TECAN SLT Lab Instruments, Crailsheim). Die berechneten Werte basieren auf der Umrechnung der Extinktion mittels einer erstellten Standardgeraden (0 ppm, 0.222, 0.666, 2 ppm, and 6 ppm).

Exo-Antigen (ExAg)-ELISA

Die Pilzmyzelgehalte wurden anhand derselben gemahlener Ernteproben wie die DON-Analysen mit Hilfe eines *Fusarium*-spezifischen Antikörpers, verwendet in einem Double Antibody Sandwich (DAS) ELISA-Format, von Dr. Frank Rabenstein am JKI Quedlinburg gemessen. Die *Fusarium*-Antigene wurden dabei nach einer Methode von Rohde und Rabenstein (2005) extrahiert und nach Zentrifugation in NUNC Maxisorb ELISA-Platten nach einer Standard-Prozedur von Clark und Adams (1977) überführt. Monoklonale Immunoglobulin-Antikörper wurden nach Rabenstein et al. (2007) präpariert, nach einer Methode von Hampton et al. (1990) mit alkalischer Phosphatase (AP) konjugiert und für die Analysen der *Fusarium*-Antigene aus Weizenmehl-Proben verwendet. Die ELISA-Platten wurden mit monoklonalem Immunoglobulin für 4 h bei 37°C beschichtet, anschließend konnten die 1:10-verdünnten Proben über Nacht im Kühlschrank inkubiert werden. Nach einer erneuten Reinigung wurden die monoklonalen AP-Konjugate, verdünnt 1:3000, ebenfalls für 4 h bei 37°C zugegeben. Nach einstündiger Inkubation konnte die Farbentwicklung des Substrates als Extinktion bei 405nm in einem ELISA-Spektrometer (TECAN SLT Lab Instruments, Crailsheim) gemessen und als optische Dichte (OD) der Probe aufgezeichnet werden.

Statistik

Alle Verrechnungen basieren auf Einzel-Parzellen-Werten. Als Analyse-Programm für die Varianzkomponenten-Schätzung der Kreuzungspopulationen wurde PLABSTAT (Utz 2000) verwendet. Die Heritabilitäten (h^2) der Kreuzungspopulationen wurden aus der ANOVA als Quotient aus genotypischer zu phänotypischer Varianz nach Fehr (1987) geschätzt. Die Populationen Apache x Biscay und History x Rubens wurden als unvollständiges Block-Design in einer Zweistufen-Analyse verrechnet, mit der Formel: $h^2 = \sigma_G^2 / (\sigma_G^2 + \sigma_{GU}^2 / U + \sigma_{e\text{eff}}^2 / U)$, mit σ_G^2 = genotypischer Varianz, σ_{GU}^2 = Genotyp x Umwelt-Interaktionsvarianz, $\sigma_{e\text{eff}}^2$ = effektive Fehlervarianz und G = Genotyp, U = Umwelt (Cochran and Cox 1957). Aufgrund unbalancierter Anzahl Genotypen in der Aufteilung von

langstrohigen und kurzstrohigen Genotypen (Siehe 2. Zwischenbericht) wurde die Population Romanus x Pirat in einer Einstufen-Analyse als vollständiges Block-Design verrechnet, mit der Formel $h^2 = \sigma^2_G / (\sigma^2_G + \sigma^2_{GU}/U + \sigma^2_e/UR)$, mit σ^2_e = Fehler-Varianz and R = Anzahl der Wiederholungen. Für alle Merkmale sind die Signifikanzen der Mittelwertvergleiche, sowie Transgressionen anhand eines t-Tests (Grenzdifferenz = GD) berechnet worden. Die Vergleiche der für *Rht-D1a* bzw. *Rht-D1b* homozygoten und heterozygoten Subpopulationen wurden mit Hilfe der PROC MIXED Prozedur in SAS/STAT (SAS Institut 2004) durchgeführt. Für die Analysen der BLUP-Werte (Best linear unbiased predictors) für die Merkmale des mittleren Fusariumbefalls (BMW), DON- und ExAg-Gehalt innerhalb der selektierten Genotypen mit vergleichbarer Wuchshöhe in 2006, wurde ebenfalls SAS verwendet. Die BLUP-Werte spezifizieren in diesem Fall die Werte der selektierten Genotypen as zufällige Effekte adjustiert um den Restfehler (Searle et al. 1992). Die Verrechnungen der Isogenen Linien erfolgten ebenfalls mit PLABSTAT. Signifikante Unterschiede zwischen den Genotypen wurden darüber hinaus mit dem Tukey-Test geprüft. Die Faktoriellen Inokulationen wurden als zweifaktorielle Spaltanlage mit Sorten als Großteilstücke und Isolaten als Kleinteilstücke ausgewertet.

3. Ergebnisse

3.1. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

Kreuzungspopulationen (Exp 1+ 2)

Für alle Kombinationen aus Population x Umwelt konnte ein vergleichsweise hoher mittlerer Fusariumbefall durch künstliche Inokulation erreicht werden (Tab. 3). Ein gleichmäßig hohes Infektionsniveau resultierte in ähnlichen Mittelwerten des Fusariumbefalls der Populationen an den einzelnen Orten.

Tab. 3: Allokation und Mittelwerte des mittleren Fusariumbefalls (0-100%) der Nachkommenschaften aller Kreuzungspopulationen an den jeweiligen Standorten für die Jahre 2005 und 2006

Kreuzung	Jahr	WOH ¹⁾	SIL	MOS	FRE	HOH
Apache x Biscay	2005	37,6		29,8		
	2006	28,5	37,3	27,9		
Romanus x Pirat	2005		49,4			36,4
	2006	30,4	30,1			29,8
History x Rubens	2005		31,0		37,4	
	2006		36,4		30,4	32,6
Solitär x Travix	2005	37,8		23,1		
	2006	31,3		8,5	39,8	

¹⁾ WOH = Wohlde, SIL = Silstedt, MOS = Moosburg, FRE = Freising, HOH = Hohenheim.

Die Schätzwerte der Genotyp- und Genotyp x Umwelt Interaktions-Varianz des Boniturmittelwertes (BMW) des Fusariumbefalls waren für alle Populationen signifikant ($P = 0,01$) bei gleichzeitig hohen Heritabilitäten (Tab. 4). Während die Populationen Romanus x Pirat, History x Rubens und Solitär x Travix eine vergleichbare Wuchshöhe aufwiesen, zeigten sich die Nachkommen aus Apache x Biscay deutlich kürzer (Tab. 4). Die Genotyp- und Genotyp x Umwelt-Interaktions-Varianzen für das Merkmal Wuchshöhe waren ebenfalls signifikant, jedoch mit geringerem Einfluß der Interaktion. Dies resultierte somit in sehr hohen Heritabilitäten für die Wuchshöhe. Das jeweilige Eltern- und das Populationsmittel zeigten sich für die ermittelten Merkmale bei allen vier Populationen ähnlich.

Unter Verwendung der für *Rht-D1a* bzw. *Rht-D1b* diagnostischen Marker von Ellis et al. (2002) wurde in den Markeranalysen aller Kreuzungseltern durch Dr. Viktor Korzun nachgewiesen, dass Biscay, Pirat, Rubens und Travix das Kurzstroh-Allel *Rht-D1b* tragen. Für die Resistenzdonoren Apache, Romanus, History und Solitär konnte jeweils das Wildtyp-Allel *Rht-D1a* nachgewiesen werden.

Tab. 4: Mittelwerte, Genotypischer Wertebereich und Varianzkomponenten der vier Weizenpopulationen für den Boniturmittelwert (BMW) des Fusariumbefalls und die Wuchshöhe (gemittelt über fünf Umwelten aus 2005 und 2006; N = Anzahl Nachkommen, G x U = Genotyp x Umwelt-Interaktion, h² = Heritabilität)

Population ¹⁾	N	Eltern-Mittel	Populations-Mittel	Genoytpische Spannweite	Varianzkomponenten			h ²	
					Genotyp	G x U	Fehler		
BMW (%)									
Apache x Biscay	190	29,9	32,2	12,0– 56,0	69,2**	26,8**	19,3	0,90	
Romanus x Pirat	216	37,2	35,2	14,1– 68,9	131,8**	51,8**	33,7	0,91	
History x Rubens	103	37,1	33,5	14,7– 59,1	106,0**	26,3**	23,1	0,93	
Solitär x Travix	180	27,8	28,1	13,5– 50,8	26,1**	21,8**	19,1	0,81	
Wuchshöhe (cm)									
Apache x Biscay	190	79,1	78,9	69,0– 94,3	22,2**	3,1**	6,4	0,95	
Romanus x Pirat	216	86,9	90,4	70,6–111,5	103,9**	6,9**	9,1	0,98	
History x Rubens	103	90,0	96,3	66,8–116,6	120,4**	11,2**	9,9	0,97	
Solitär x Travix	180	92,8	97,4	75,4–114,0	37,9**	4,1**	10,5	0,95	

¹⁾ Resistenzdonor x *Rht-D1b*-tragende Sorte.

** Signifikant bei P = 0,01.

In den Merkmalen Fusariumbefall und Wuchshöhe erwiesen sich die jeweiligen Kreuzungseltern gemittelt über alle Umwelten als statistisch signifikant verschieden (P = 0,01). Pirat, Rubens und Travix waren dabei signifikant kürzer als ihre Kreuzungspartner. Demgegenüber zeigte sich Apache als signifikant kürzer als der *Rht-D1b*-tragende Kreuzungspartner Biscay, obwohl Apache kein derzeit bekanntes *Rht*-Allel trägt.

Alle Linien der Populationen konnten durch Marker-Analysen ebenfalls in Genotypen aufgeteilt werden, die entweder homozygot das Wildtyp-Allel *Rht-D1a* bzw. das halmverkürzende Allel *Rht-D1b* tragen oder heterozygot sind. Die für *Rht-D1b* homozygoten Subpopulationen zeigten in der Apache x Biscay-Nachkommenschaft eine durchschnittlich um 7%, in Romanus x Pirat um 18% und in History x Rubens um 17% reduzierte Wuchshöhe im Vergleich zu den jeweiligen für *Rht-D1a* homozygoten Subpopulationen (Abb. 1). Darüber hinaus stieg jedoch die Anfälligkeit gegenüber Ährenfusarium im Mittel der *Rht-D1b*-Subpopulationen um 22, 53 und 43% gegenüber den *Rht-D1a*-Subpopulationen an. Die Reaktionen der heterozygoten Subpopulationen zeigten sich dagegen unterschiedlich. In der Nachkommenschaft der Kreuzung Solitär x Travix konnten aufgrund großer Unterschiede in der Anzahl der *Rht-D1a* bzw. *Rht-D1b*-tragenden Genotypen keine eindeutigen Aussagen gemacht werden.

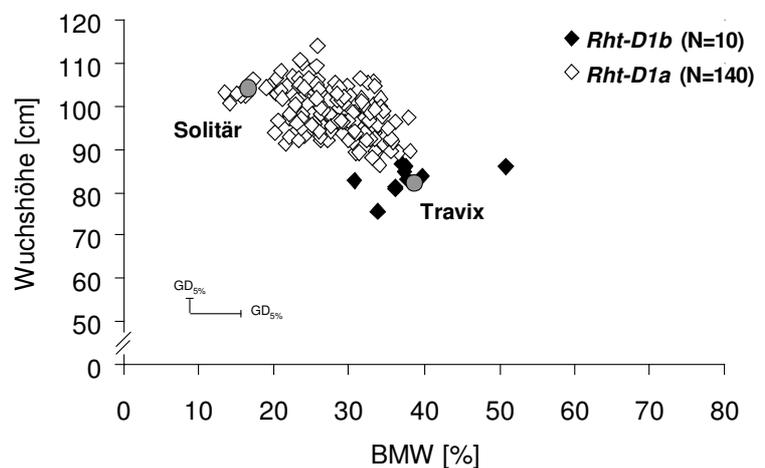
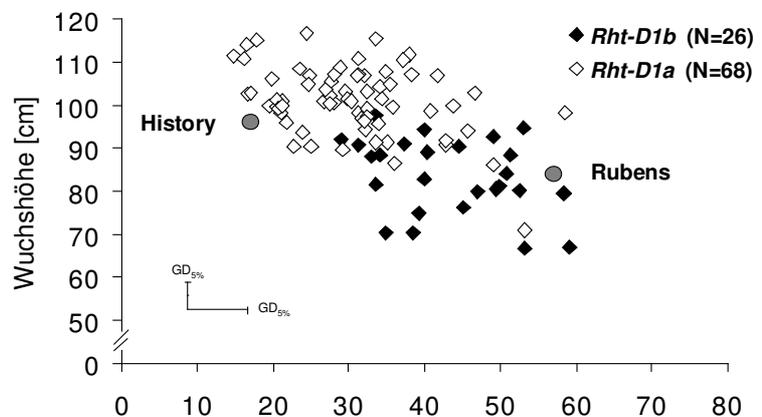
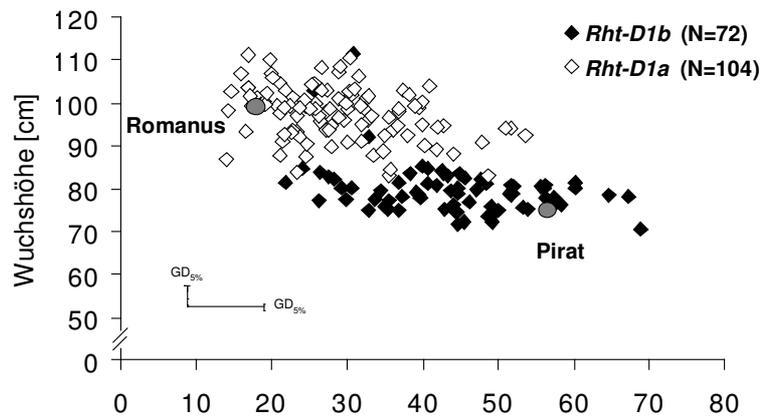
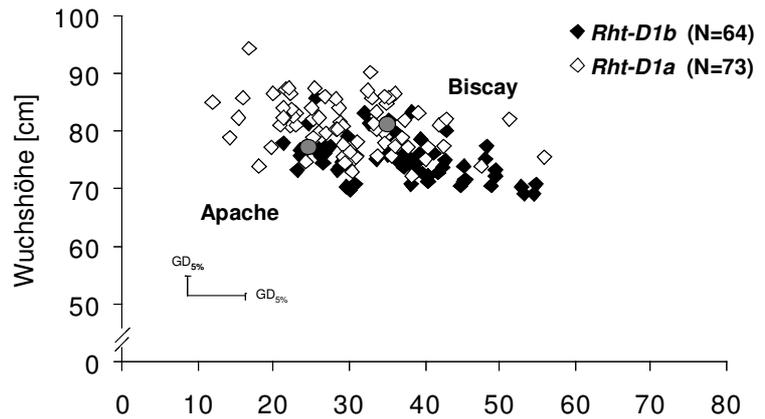


Abb. 1:

Beziehung zwischen Boniturmittelwerten (BMW) des Fusariumbefalls und der Wuchshöhe anhand der Nachkommen der Kreuzungspopulationen Apache x Biscay, Romanus x Pirat, History x Rubens und Solitär x Travix, aufgeteilt in homozygot das Kurzstroh (*Rht-D1b*)-Allel bzw. das Wildtyp-Allel (*Rht-D1a*) tragende Subpopulationen. Mittelwerte über fünf Umwelten, heterozygote Genotypen nicht berücksichtigt. Elternmittelwerte als Punkte dargestellt. ($GD_{5\%}$ = Grenzdifferenz bei $P = 0,05$).

Wuchshöhe und der Mittelwert der Fusariumbonituren waren in allen drei Nachkommenschaften signifikant ($P = 0,01$) negativ korreliert, gemittelt über alle Umwelten (Tab. 5). Innerhalb der *Rht-D1a/Rht-D1b*-Subpopulationen nahmen diese Korrelationen jedoch ab. Durch die geringere Aufspaltungsva-riation im Merkmal Wuchshöhe zeigte sich diese Abnahme für Apache x Biscay nur in verminderter Form.

Tab. 5: Korrelationskoeffizienten zwischen Wuchshöhe und Boniturmittelwert des Fusariumbefalls für alle Nachkommen und die für *Rht-D1a* bzw. *Rht-D1b* homozygoten Subpopulationen aus drei Populationen gemittelt über fünf Umwelten

Population	Gesamt	Subpopulation	
		<i>Rht-D1b</i>	<i>Rht-D1a</i>
Apache x Biscay	-0.48**	-0.44**	-0.33**
Romanus x Pirat	-0.61**	-0.38**	-0.34**
History x Rubens	-0.54**	-0.35	-0.39**

** Signifikant bei $P = 0,01$.

Zusätzlich ergaben sich in den geprüften Populationen auch moderate Korrelationen von $r = -0,35$ bis $-0,52$ zwischen dem Boniturmittelwert des Fusariumbefalls und dem Ährenschiebedatum. Im Mittel resultierte die Anwesenheit von *Rht-D1b* in einer Verzögerung von 0,3 bis 0,5 Tagen, die in Apache x Biscay und Romanus x Pirat aufgrund der hohen Heritabilität des Merkmals signifikant ($P = 0,01$) war. Die *Rht-D1a* bzw. *Rht-D1b*-Subpopulationen wiesen dabei in allen Merkmalen ähnliche genotypische Variationen wie in den jeweiligen Gesamtpopulationen auf.

In den drei Populationen Apache x Biscay, Romanus x Pirat und History x Rubens traten zahlreiche Nachkommen mit vergleichbarer Wuchshöhe wie der kurzstrohige Elter, jedoch mit signifikant geringerer Fusariumanfälligkeit auf (Abb. 1). Zusätzlich konnten in den Populationen Romanus x Pirat und History x Rubens einige Genotypen gefunden werden, die bei gleichem Resistenzniveau signifikant kürzer waren als der resistenter Elter. Transgressionen für verbesserte Fusariumresistenz zeigten sich allerdings nur in der Apache x Biscay-Nachkommenschaft. Dabei waren sechs von sieben Linien jedoch signifikant länger als Apache.

Neben der Bonitur des Fusariumbefalls wurden der DON- sowie der Pilzmyzelgehalt der auf vergleichbare Wuchshöhe selektierten Linien in den drei Populationen Apache x Biscay, Romanus x Pirat und History x Rubens über drei Orte in 2006 gemessen. Der negative Effekt von *Rht-D1b* war innerhalb der selektierten Gruppen immer noch nachweisbar, jedoch mit 7 bis 27% erhöhtem BMW des Fusariumbefalls in den *Rht-D1b*-tragenden Subpopulationen gegenüber den *Rht-D1a*-Subpopulationen deutlich abgeschwächt (Tab. 6). Interessanterweise war der Einfluß von *Rht-D1b* auf den DON-Gehalt deutlich ausgeprägter, mit erhöhten DON-Gehalten von 25 bis 47%. Für die Menge an Pilzmyzel im Erntegut ergab sich ebenfalls eine Zunahme durch Anwesenheit von *Rht-D1b*, die je nach Population jedoch unterschiedlich ausgeprägt war. Aufgrund hoher Genotyp x Ort-Interaktionen und kleiner

Gruppengrößen erreichten die ermittelten Unterschiede zwischen den Selektionsgruppen nur in der Population Romanus x Pirat Signifikanz ($P = 0,05$).

Tab. 6: BLUP (Best linear unbiased predictors)-Werte für Wuchshöhe (WH), BMW, DON- und Pilzmyzel- (ExAg, OD = optische Dichte) Gehalt der Kreuzungseltern und der nach vergleichbarer Wuchshöhe selektierten Nachkommen der homozygoten Subpopulationen und deren Differenz (Δ) in % in drei spaltenden Populationen über drei Umwelten 2006

Population ¹⁾	Merkmal	P1 ¹⁾	P2 ¹⁾	Subpopulation		$\Delta Rht-D1b/$ <i>Rht-D1a</i>
				<i>Rht-D1a</i>	<i>Rht-D1b</i>	
Apache x Biscay	N			N=17	N=18	
	WH (cm)	78,3	82,8	77,6	77,8	+ 0,2
	BMW (%)	20,3	34,4	29,9	32,1	+ 7,4
	DON (mg/kg)	17,1	27,8	15,8	19,8	+ 24,8
	ExAg (OD)	0,17	0,24	0,31	0,35	+ 11,9
Romanus x Pirat	N			N=15	N=16	
	WH (cm)	100,8	78,5	90,5	87,9	- 2,9*
	BMW (%)	15,2	51,1	26,5	33,8	+ 27,4*
	DON (mg/kg)	28,1	54,1	30,9	45,4	+ 46,8*
	ExAg (OD)	0,08	0,37	0,25	0,39	+ 54,7**
History x Rubens	N			N=10	N=11	
	WH (cm)	97,0	84,1	86,8	86,5	- 0,4
	BMW (%)	17,9	57,3	34,0	38,1	+ 11,9
	DON (mg/kg)	24,3	77,8	37,2	48,4	+ 30,2
	ExAg (OD)	0,59	1,69	0,98	1,07	+ 8,8

¹⁾ Bezeichnung nach Schema: Resistenzdonor (P1) x *Rht-D1b* tragende Sorte (P2).

*,** Signifikant bei $P = 0,05$ bzw. $0,01$.

N = Anzahl selektierter Nachkommen aus der entsprechenden Subpopulation.

Allerdings zeigten die absoluten Konzentrationen an DON und Pilzmyzel große Schwankungen in Abhängigkeit des genetischen Hintergrundes. So wiesen die selektierten Genotypen der Population History x Rubens im Mittel bis zu zweieinhalbfach erhöhte DON- sowie bis zu dreifach höhere Pilzmyzelgehalte auf als die selektierten Genotypen der Population Apache x Biscay (Tab. 6). Die gemittelten DON- und Pilzmyzelgehalte der Linien aus der Population Romanus x Pirat, welche bei niedrigen Pilzmyzelgehalten vergleichsweise hohe DON-Gehalte aufweisen, zeigten, dass das Verhältnis der produzierten DON-Menge pro Einheit Pilzmyzel nicht konstant ist, sondern vom Genotyp abhängt. Dies erwies sich auch in den Korrelationen von DON-Gehalt zum BMW der Fusariumbonitur bzw. zum Pilzmyzelgehalt (Abb. 2). Während bei Apache x Biscay und History x Rubens die Korrelation des DON-Gehaltes zum BMW mit $r = 0,82$ und $r = 0,87$ sehr

eng waren, erwiesen sich die Korrelationen des DON- zum Pilzymzelgehalt mit $r = 0,66$ und $r = 0,58$ weniger deutlich. Durch hohe genotypische Variation sowohl im DON- als auch im Pilzymzelgehalt der Linien aus der Kreuzung Romanus x Pirat ergab sich in diesem Fall eine engere Korrelation des DON- zum Pilzymzelgehalt als zum BMW des Fusariumbefalls. Zusammenfassend lassen die Ergebnisse des günstigeren Pilzymzel-ELISA-Tests keine eindeutigen Aussagen über das exakte Niveau des DON-Gehaltes zu.

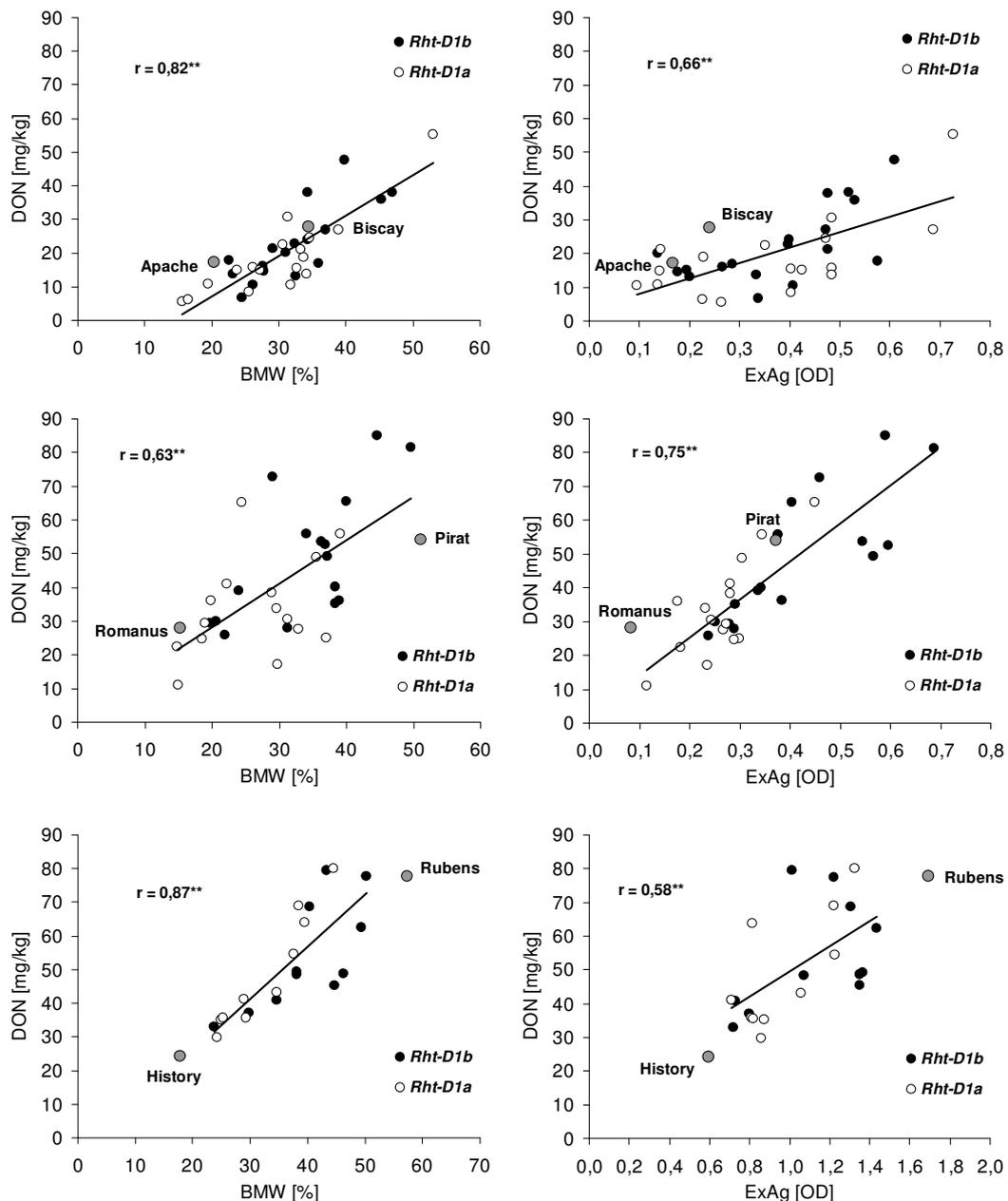


Abb. 2: Korrelationen des DON-Gehaltes zum BMW des Fusariumbefalls bzw. zum Pilzymzelgehalt (ExAg-Gehalt in optischer Dichte (OD)) innerhalb der auf vergleichbare Wuchshöhe selektierten Genotypen aus den Populationen Apache x Biscay, Romanus x Pirat und History x Rubens mit den Mittelwerten der jeweiligen Eltern, gemittelt über drei Umwelten in 2007

Faktorielle Inokulationen (Exp. 3)

In einem 2007 abschließend durchgeführten Versuch zur Stabilität der Fusariumresistenz nach Inokulation mit hoch aggressiven *F.graminearum* und *F.culmorum*-Isolaten wurden die wenig anfälligen Sorten Romanus, Solitär, History und Apache, sowie die mittelanfälligen Sorten Certo, Biscay und Tommi auf ihren Fusariumbefall sowie DON-Gehalt nach künstlicher Infektion untersucht. Im Mittel über die elf verwendeten Isolate zeigen auch die resistentesten Sorten wie Romanus, Solitär und History deutlichen Befall von 16 bis 21%, bei den mittelanfälligen Sorten Biscay und Tommi werden jedoch im Mittel der Fusariumbonituren bereits Befallswerte von 50% erreicht (Abb. 3). In der finalen Bonitur, welche dem Befall kurz vor der Gelbreife entspricht, sind die Befallsmittelwerte mit 28% bei Romanus bis zu 72% bei Tommi noch einmal entsprechend höher. Während der BMW des Fusariumbefalls von der am wenigsten bis zur anfälligsten Sorte im Vergleich um den Faktor 3 zunimmt, ist der Unterschied im DON-Gehalt mit einer Zunahme um den Faktor 5 noch deutlicher.

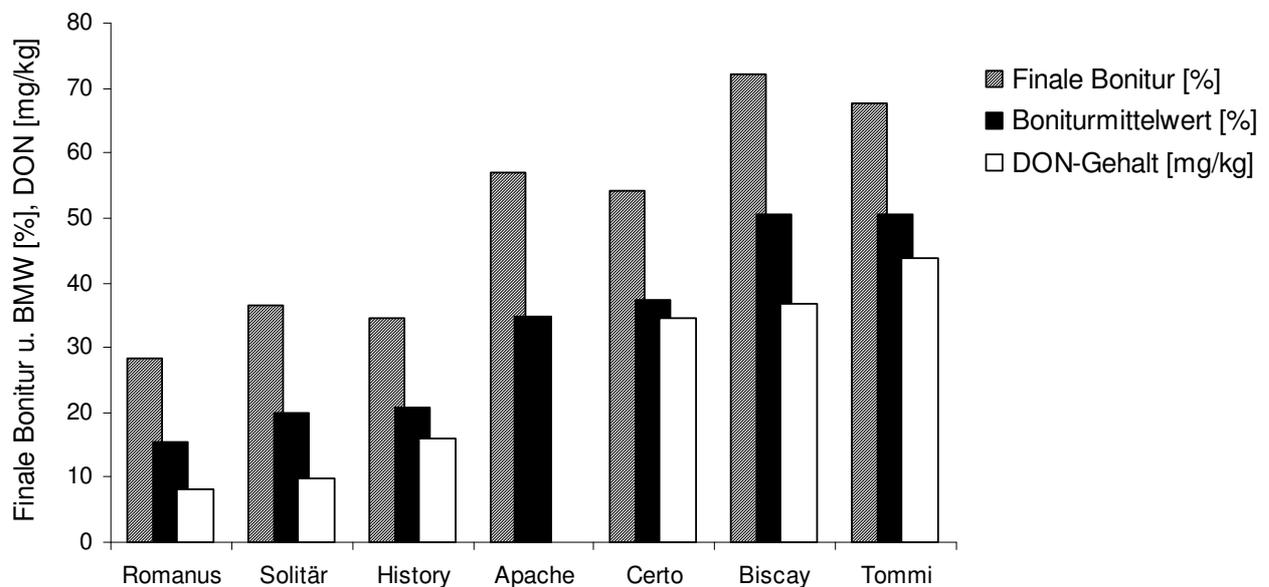


Abb. 3: Finale Bonitur, Mittelwert des Fusariumbefalls und DON-Gehalte der wenig anfälligen Kreuzungseltern Romanus, Solitär, History und Apache und den mittelanfälligen Vergleichssorten Certo, Biscay und Tommi, gemittelt über 11 hochaggressive Isolate gemittelt über zwei Umwelten 2007

Werden die Isolate einzeln betrachtet, so zeigte sich im Mittel der sieben geprüften Weizensorten eine signifikante Zunahme der Aggressivität (Abb. 4). Dass ein sehr hohes Aggressivitätsniveau erreicht wurde, zeigt auch die Tatsache, dass das von Miedaner et al. (1996) als hochaggressiv eingestufte Isolat FC46 in der Aggressivität signifikant übertroffen wurde. Der Fusariumbefall stieg bei den geprüften Sorten mit zunehmender Aggressivität der Isolate stetig an, allerdings mit steigenden isolatbedingten Schwankungen bei zunehmender Anfälligkeit der Weizensorte. Im Merkmal der akkumulierten DON-Menge zeigte sich der

Effekt der isolatabhängigen Zunahme der Streuung noch deutlicher, es ergaben sich für beide Merkmale jedoch keine signifikanten ($P = 0,05$) Weizen-Genotyp \times Isolat-Interaktionen, obwohl die Variation für beide Hauptfaktoren Weizen-Genotyp und Isolat signifikant ($P = 0,05$) war.

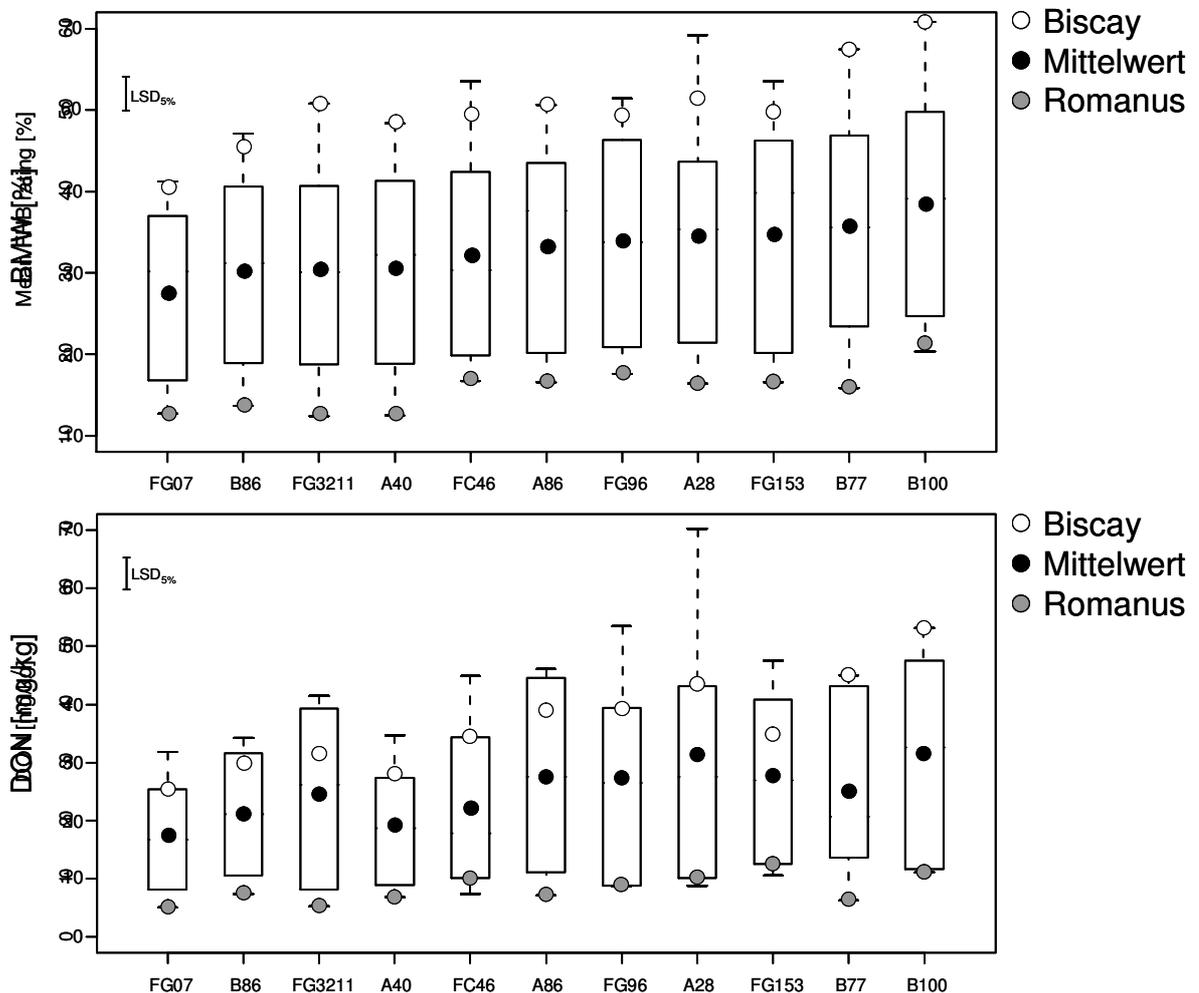


Abb. 4: Boniturmittelwert (BMW) des Fusariumbefalls und DON-Gehalt hochaggressiver FG- und FC-Isolate gemittelt über sieben (BMW) bzw. sechs (DON) wenig- bis mittelanfällige Winterweizensorten in zwei Umwelten in 2007, aufsteigend sortiert nach dem Mittelwert des BMW. Die Werte der Sorten Biscay und Romanus, sowie die Mittelwerte sind als Punkte dargestellt

Isogene Linien (Exp. 4)

In den Feldprüfungen der zwei Sätze isogener *Rht*-Linien konnte 2006 und 2007 ebenfalls ein zuverlässiger hoher Fusariumbefall erzielt werden. Das Befallsniveau war jedoch im Versuchsjahr 2006 deutlich höher als 2007, daraus resultierte ein deutlich höherer Mittelwert für den Fusariumbefall im zweijährig geprüften Mercia-Satz im Vergleich zu den, nur in 2007 geprüften, Maris Huntsman-Linien (Tab. 7). Aufgrund eines milden Winters erfolgte das Ährenschieben in 2007 ca. 20 Tage früher als 2006.

Sowie bei Mercia als auch bei Maris Huntsman zeigten die Wildtyp-Linien den geringsten Fusariumbefall gemittelt über alle Umwelten (Abb. 5). In den Mercia-Linien erhöhten alle geprüften *Rht*-Allele die Fusariumanfälligkeit signifikant ($P = 0,05$), nur die Linie mit der Kombination aus *Rht-D1b* + *Rht8* erreichte keinen signifikanten Unterschied, da diese nur in 2007 geprüft werden konnte. Den stärksten Effekt zeigte im Mercia-Hintergrund das *Rht-D1b*-Allel mit einer Steigerung der Fusariumanfälligkeit um 20%-Punkte im Mittel über acht Umwelten.

Tab. 7: Varianzkomponenten und Heritabilität (h^2) des Boniturmittelwertes (BMW) des Fusariumbefalls, der Wuchshöhe und Zeitpunkt des Ährenschiebens für fünf isogene Linien mit Mercia- (ohne *Mercia Rht1+Rht8*) und fünf isogene Linien mit Maris Huntsman-Hintergrund, inokuliert mit *Fusarium culmorum* in je vier Umwelten (U) 2006 und 2007 (Mercia) bzw. vier Umwelten 2007 (Maris Huntsman), T.i.J. = Tage im Jahr

Rekurrenter Elter Merkmal	Mittelwert	Varianzkomponenten			h^2
		Genotyp	G x U	Fehler	
Mercia					
BMW (%)	48,2	447,56 **	42,48 *	13,04	0,91
Wuchshöhe (cm)	74,3	450,47 **	3,83 †	1,73	0,99
Ährenschieben (T.i.J.)	150,3	54,09 **	1,70 †	0,12	0,97
Maris Huntsman					
BMW (%)	37,6	338,67 *	68,87 *	10,19	0,80
Wuchshöhe (cm)	72,5	1953,45 **	12,97 *	1,63	0,99
Ährenschieben (T.i.J.)	143,3	10,77 **	1,74 †	0,12	0,84

*Signifikanzniveau bei $P = 0,05$.
 **Signifikanzniveau bei $P = 0,01$.

Dass diese negative Wirkung jedoch stark vom genetischen Hintergrund abhängig ist, zeigten die verwendeten Kontrollsorten Toras, Certo und Travix, die alle das *Rht-D1b*-Allel tragen und sich in ihrer Fusariumanfälligkeit, allerdings auch in ihrer Wuchshöhe, signifikant ($P = 0,05$) unterschieden. Einen ähnlichen einkürzenden Effekt von 19 cm durch *Rht-D1b*-Präsenz zeigte *Rht8* mit 18 cm, in Kombination mit einer Zunahme der Fusariumanfälligkeit von nur 7%-Punkten.

Innerhalb der Maris Huntsman-Linien führten *Rht-B1b* und *Rht-D1b* ebenfalls zu einer signifikanten Einkürzung von ca. 16 cm. Die gesteigerte Fusariumanfälligkeit im Maris Huntsman-Hintergrund erreichte allerdings kein signifikantes Niveau. Die extrem einkürzend wirkende Kombination aus *Rht-B1b* + *Rht-D1b* sowie *Rht-B1c* bewirkten demgegenüber eine deutlich ausgeprägte, signifikante Erhöhung des Fusariumbefalls von 20 bzw. 22%-Punkten.

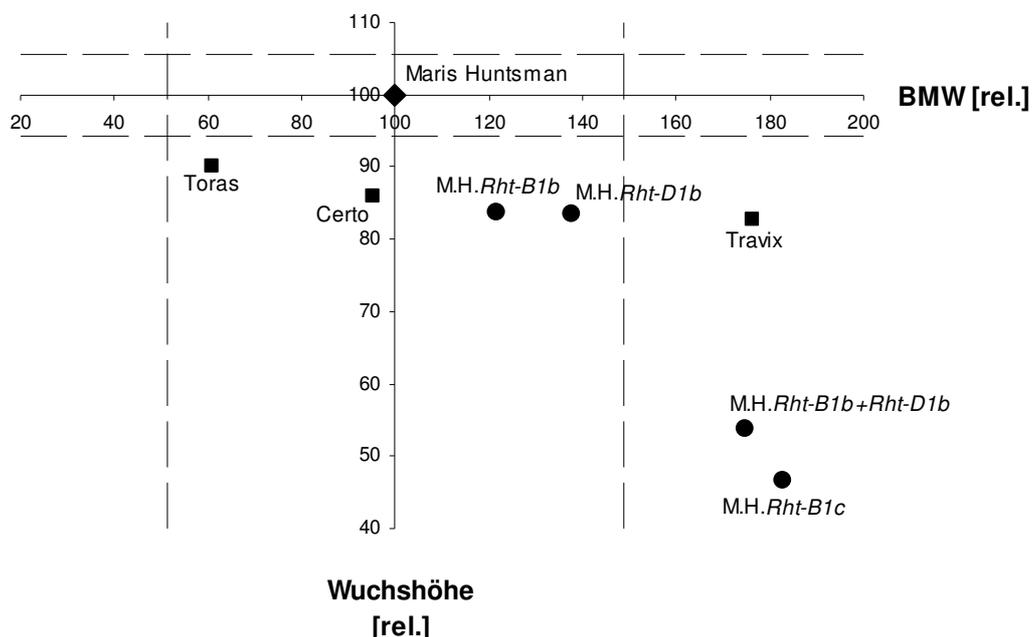
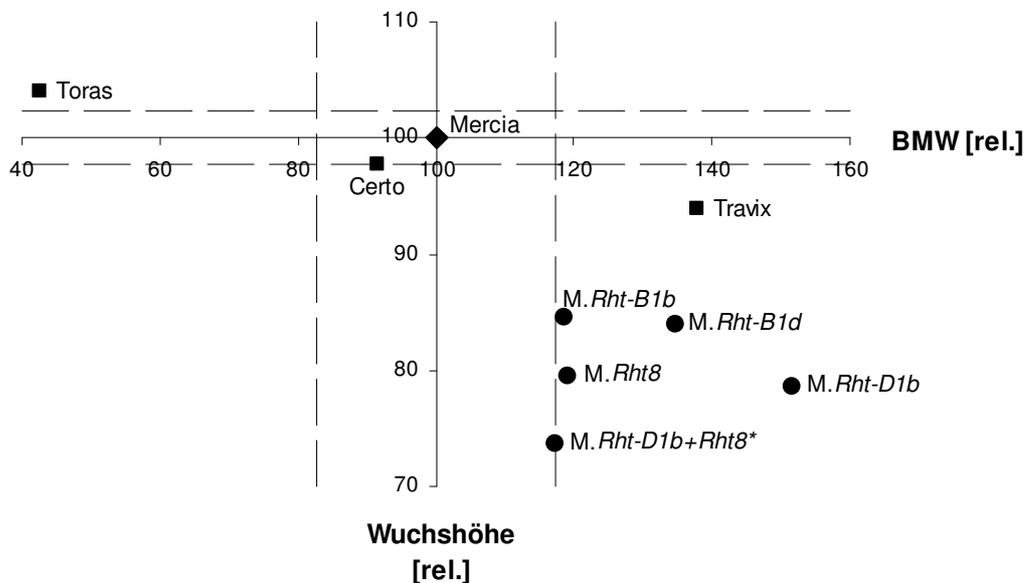


Abb. 5: Relativer Boniturmittelwert (BMW) des Fusariumbefalls und relative Wuchshöhe von fünf isogenen *Rht*-Linien im Vergleich zu Mercia (100%) über acht Umwelten 2006 und 2007 bzw. vier isogenen *Rht*-Linien im Vergleich zu Maris Huntsman (100%) über vier Umwelten 2007. Zusätzlich sind die *Rht-D1b*-tragenden Sorten Toras, Certo und Travix als Standards in beiden Sätzen relativ zu Mercia bzw. Maris Huntsman dargestellt. Gestrichelte Linien repräsentieren die doppelseitig abgetragene Grenzdifferenz der Merkmale bei $P = 0,05$

3.2. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Anhand von vier nicht-verwandten Kreuzungspopulationen konnte eine deutliche Erhöhung der genetisch bedingten Fusarium-Anfälligkeit durch das *Rht-D1b*-Kurzstrohgen nachgewiesen werden. Eine zum *Rht-D1b*-Allel vergleichbare Einkürzung wurde durch Prüfung von zwei Sätzen isogener Linien auch bei weiteren *Rht*-Allelen festgestellt. Jedoch zeigten alle untersuchten *Rht*-Allele ebenso eine spezifische Erhöhung der Fusariumanfälligkeit, die in ihrer Ausprägung allerdings stark vom genetischen Hintergrund abhängig ist. Da die Auswirkungen von *Rht-D1b* auf die Merkmale Fusariumanfälligkeit, DON- und Pilzmyzel-Gehalt in Abhängigkeit des genetischen Hintergrundes sehr unterschiedlich sind, scheint eine enge Kopplung eines einzelnen Resistenzgens mit dem Wildtyp-Allel *Rht-D1a* somit unwahrscheinlich. Außerdem zeigen alle *Rht*-Loci einen anfälligkeitserhöhenden Effekt, obwohl sie von mindestens vier verschiedenen Ausgangssorten (Norin 10, Saitama 27, Akakomugi und Tom Thumb) stammen (Gale und Youssefian 1985). Deshalb können die Auswirkungen von *Rht-D1b* auf die Fusariumanfälligkeit als pleiotropische Effekte angesehen werden, die nicht direkt durch Züchtung vom gewünschten Einkürzungseffekt getrennt werden können.

Für eine Verbesserung der Fusariumresistenz war jedoch innerhalb der homozygoten *Rht-D1a*- bzw. *Rht-D1b*-Subpopulation ausreichend genetische Variation zur Selektion vorhanden bei deutlich abgeschwächter Auswirkung der Wuchshöhe auf die Fusariumresistenz. Somit kann eine frühe Marker-Untersuchung der Nachkommen auf *Rht-D1a* bzw. *Rht-D1b* und anschließende Selektion innerhalb der Subpopulationen empfohlen werden, welche jedoch eine höhere Selektionsintensität bzw. zunehmende Populationsgrößen bedingt. Dennoch scheint eine Verbesserung der Fusariumresistenz bei gleichzeitiger Nutzung der positiven agronomischen Eigenschaften des *Rht-D1b*-Allels aussichtsreich.

Es zeigten sich innerhalb der auf vergleichbare Wuchshöhe selektierten Genotypen zwar signifikante gute Korrelationen zwischen dem DON-Gehalt und dem BMW des Fusariumbefalls mit Korrelationskoeffizienten von $r = 0,63$ bis $0,87$, jedoch erfordern große genotypische Unterschiede im Niveau der DON-Akkumulation spezifische DON-Analysen. Da das Verhältnis von akkumulierter DON-Menge pro Einheit Pilzmyzel im geprüften Material nicht konstant war und allgemein in Abhängigkeit des Genotyps als variabel angesehen werden kann, ist somit der kostengünstigere Pilzmyzel-ELISA gegenüber der kostenintensiveren Analyse des DON-Gehaltes nicht unmittelbar als Ersatz geeignet.

Bei ansteigender Aggressivität von verschiedenen *FG*- und *FC*-Isolaten ergab sich eine signifikante Zunahme des Befalls auch bei wenig anfälligen Sorten. Allgemein resistenterer Sorten erwiesen sich dabei trotzdem als stabiler in ihrer Ausprägung der Fusariumresistenz und der DON-Akkumulation als anfälligere Sorten. Es konnten selbst auf dem hohen Befallsniveau keine Weizen-Genotyp x Isolat - Interaktionen für Fusariumbefall und DON-Akkumulation festgestellt werden, welches für eine quantitativ wirksame Fusariumresistenz spricht, die Isolat-unabhängig geprüft und züchterisch bearbeitet werden kann.

4. Zusammenfassung

Aufgrund hoher Ertrags- und Qualitätsverluste sowie der Kontamination des Erntegutes mit Mykotoxinen, vor allem Deoxynivalenol (DON), zählen Ährenfusariosen weltweit zu den bedeutendsten Weizenkrankheiten. Im Jahr 2005 wurden auf circa 50% der Weizen-Vermehrungsfläche in Deutschland Weizensorten angebaut, die das ertragssteigernde Kurzstroh-Gen *Rht-D1b* (syn. *Rht2*) tragen. Zur Untersuchung der Aufspaltungsva-riation der Fusariumresistenz und des Einflusses des *Rht-D1b*-Gens auf die Resistenz gegen Ährenfusarium wurden vier für das *Rht-D1b*-Gen spaltende Populationen aus adaptierten Weizeneltern (Apache × Biscay, Romanus × Pirat, History × Rubens und Solitär × Travix) auf Fusariumbefall, Wuchshöhe und Ährenschiebedatum geprüft. Die Feldprüfungen der Populationen auf Fusariumbefall mittels Sprühinokulation mit einem hochaggressiven *Fusarium culmorum*-Isolat erfolgten 2005 und 2006 in insgesamt fünf Umwelten. Gemittelt über alle Umwelten zeigten die vier Populationen signifikante genotypische Unterschiede für den Fusariumbefall und die Wuchshöhe bei einem erheblichen mittleren Fusariumbefall der Populationen von 32,2 – 35,2%. In allen Populationen zeigten kurze, homozygot *Rht-D1b*-tragende Genotypen eine um 7-18cm signifikant geringere Wuchshöhe und eine um 22-53% signifikant höhere Fusariumanfälligkeit im Vergleich zu den langen, homozygot *Rht-D1a*-tragenden Genotypen.

Im Jahr 2006 wurden aus drei Populationen Genotypen jeweils eines Wuchshöhenbereiches selektiert, die entweder homozygot das Kurzstroh-Allel *Rht-D1b* oder das Wildtyp-Allel *Rht-D1a* trugen. Diese wurden 2007 auf ihren DON- sowie Pilzmyzelgehalt untersucht. Zur Analyse des Pilzmyzelgehaltes wurde von Dr. F. Rabenstein ein neuartiger ELISA-Test des Julius-Kühn-Institutes in Quedlinburg entwickelt und optimiert. Anhand der beiden *Rht-D1*-Subpopulationen ergab sich eine, im Vergleich zur Gesamtpopulation zwar abgeschwächte, jedoch immer noch deutliche Erhöhung der Fusariumanfälligkeit von 7 - 27% in Genotypen, die das *Rht-D1b*-Allel enthielten, im Vergleich zu Genotypen mit dem Wildtyp-Allel *Rht-D1a*. Für den DON-Gehalt ergab sich sogar eine Erhöhung von 25 - 48% und für den Pilzmyzelgehalt von 9 - 55% in *Rht-D1b* tragenden Genotypen. Aufgrund hoher Genotyp × Ort-Interaktionen erwiesen sich die Unterschiede allerdings nur in der Population Romanus × Pirat als signifikant ($P = 0.05$). Des Weiteren zeigten die absoluten Konzentrationen an DON und Pilzmyzel große Schwankungen in Abhängigkeit des genetischen Hintergrundes. So wiesen die selektierten Genotypen der Population History × Rubens bis zu zweieinhalbfach erhöhte DON- sowie bis zu dreifach höhere Pilzmyzelgehalte auf als die der Population Apache × Biscay. Innerhalb der selektierten Genotypen zeigten sich signifikante gute Korrelationen zwischen dem DON-Gehalt und dem BMW des Fusariumbefalls, mit Korrelationskoeffizienten von $r = 0,63$ bis $0,87$. Das Verhältnis der Menge an akkumuliertem DON pro Einheit Pilzmyzel erwies sich jedoch in Abhängigkeit des Genotyps als sehr variabel. Somit ist der Pilzmyzel-ELISA nicht unmittelbar als Ersatz zum kostenintensiveren DON-ELISA geeignet.

In einem zusätzlich in 2007 durchgeführten faktoriellen Versuch wurde die Ausprägung des Fusariumbefalls bzw. die Stabilität der Fusariumresistenz von adaptierten Winterweizensorten mit mittlerem bis hohem Resistenzniveau nach Inokulation mit verschiedenen *F. graminearum* bzw. *F. culmorum*-Isolaten mit hoher bis sehr hoher

Aggressivität geprüft. Es zeigten sich keine signifikanten Sorte × Isolat-Interaktionen, jedoch stieg das Befallsniveau auch bei resistenteren Genotypen mit zunehmender Aggressivität der Isolate signifikant an.

Zur Evaluierung weiterer *Rht*-Allele wurden in 2006 und 2007 in insgesamt acht Umwelten sechs isogene *Rht*-Linien mit Mercia-Hintergrund und in 2007 fünf Linien mit Maris Huntsman-Hintergrund auf ihren Einfluß auf die Fusariumanfälligkeit geprüft. Im Mercia-Satz bestätigte sich der signifikante negative Einfluß von *Rht-D1b* auf die Fusariumresistenz (+52% Befall). *Rht-B1b* und *Rht 8* erwiesen sich als weniger negativ im Sinne der Fusariumresistenz (beide +19%) bei leicht abgeschwächter bzw. vergleichbarer Einkürzung der Wuchshöhe. Im Maris Huntsman-Satz zeigten sich ebenfalls die negativen Effekte von *Rht-B1b* sowie *Rht-D1b*, erreichten aber keine Signifikanz. Die mitgeprüften *Rht-D1b*-tragenden Standardsorten Toras, Certo und Travix demonstrieren dabei den großen Einfluß des genetischen Hintergrundes auf die Auswirkungen des *Rht-D1b*-Allels auf die Fusariumanfälligkeit sowie die Möglichkeit, die positiven agronomischen Eigenschaften von *Rht-D1b* mit guter Fusariumresistenz zu kombinieren. Durch konsequente Selektion sind somit mittelfristig Sorten mit geringer Wuchshöhe, hohem Ertragsniveau und verbesserter Fusariumresistenz realisierbar.

5. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen und Hinweise auf weiterführende Fragestellungen

Die Aufspaltungsvariation und Häufigkeit von Transgressionen von vier spaltenden Winterweizenpopulationen, welche das Kurzstrohhallele *Rht-D1b* enthalten, wurde wie geplant in fünf Umwelten erfasst. Anhand von, für vergleichbare Wuchshöhe, selektierten Genotypen der spaltenden Nachkommenschaften konnte die Beziehung zwischen der visuellen Ährenbonitur, der *Fusarium*-Myzelmenge mittels ELISA und dem DON-Gehalt des Erntegutes ermittelt werden. Darüberhinaus wurden zwei Sätze isogener Linien auf die Auswirkungen weiterer *Rht*-Allele auf die Fusariumanfälligkeit untersucht. In diesem Zusammenhang wurde ein deutlicher Einfluß allgemein der Kurzstroh(*Rht*)-Gene und speziell von *Rht-D1b* auf die Resistenz gegenüber Ährenfusariosen festgestellt, der jedoch stark variiert in Abhängigkeit des genetischen Hintergrundes.

Ein vom JKI neu entwickelter ELISA zur Erfassung der *Fusarium*-Myzel-Konzentration ist, wie vorgesehen, für den breiten Einsatz in der züchterischen Praxis entwickelt und optimiert worden. In einem nachträglich beantragten faktoriellen Versuch zur Prüfung der Resistenz-Stabilität von sieben ausgewählten Weizenlinien mit elf verschiedenen, hochaggressiven *Fusarium*isolaten zeigte sich, dass auch resistenterere Sorten bei zunehmender Aggressivität der Isolate stärker befallen werden, allerdings in deutlich geringerem Ausmaß als mittelanfällige Sorten. Nicht vorhandene Sorte x Isolat-Interaktionen bewiesen eine isolatunabhängige quantitative Resistenzausprägung.

Weiterführend wäre die Untersuchung der genauen Ursachen der höchstwahrscheinlich pleiotropen negativen Effekte von *Rht-D1b* auf die Fusariumresistenz von besonderem Interesse. Durch die quantitative Ausprägung der Fusariumresistenz und großer Ausspaltungsvariation im getesteten Material kann der negative Einfluß züchterisch zwar weitgehend kompensiert werden, darüber hinaus wären jedoch genauere Kenntnisse über die physiologische Wirkungsweise der erhöhten Anfälligkeit und die Möglichkeiten der züchterischen Bearbeitung zur stetigen konsequenten Fusariumresistenz-Verbesserung und Verringerung der Mykotoxinbelastung des Erntegutes von umfassender Bedeutung. Weiterhin zu klären wäre die Frage, ob andere *Rht*-Allele wie z.B. *Rht8*, ohne Verlust von agronomischer Leistung der Sorte, eine dauerhaft verbesserte Fusariumresistenz erreichen können. Durch die fortlaufende Suche, Analyse und Einkreuzung von Resistenz-QTL aus exotischem Material, wie "Sumai3", könnten zukünftig derzeit unbekannte Major-Gene zur Verbesserung der Fusariumresistenz sowie neue *Rht*-Allele gefunden werden, die kombiniert mit den regional adaptierten genetischen Hintergründen und speziell den verschiedenen bereits verwendeten *Rht*-Allelen weltweit zur einer dauerhaften Ertragsicherheit und Resistenz-Stabilität gegenüber Fusarienepidemien beitragen würden.

6. Literaturverzeichnis

- Bai, G., G. Shaner, 1994. Scab of wheat: Prospects for control. *Plant Dis.* 78, 760-766.
- Bai, G-H.; G. Shaner, H. Ohm, 2000. Inheritance of resistance to *Fusarium graminearum* in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 100: 1-8.
- Ban, T.; K. Suenaga, 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.
- Beschreibende Sortenliste, 2004. Getreide. Landbuch-Verlag Hannover.
- Börner, A., J. Plaschke, V. Korzun, A.J. Worland, 1996. The relationship between wheat and rye. *Euphytica* 89, 69-75.
- Buerstmayr, H.; B. Steiner, M. Lemmens, P. Ruckenbauer, 2000. Resistance to *Fusarium* head blight in two winter wheat crosses: heritability and trait associations. *Crop Science* 40: 1012-1018.
- Clark, M. F., and A. N. Adams, 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34, 475–483.
- Cochran, W. G. and G. M. Cox, 1957. *Experimental Designs*. Second Edition. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Ellis, M. H., W. Spielmeyer, K. R. Gale, G. J. Rebetzke, and R. A. Richards, 2002. "Perfect" markers for the *Rht-B1b* and *Rht-D1b* dwarfing genes in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 105, 1038–1042.
- Fehr, W. R., 1987. *Principles of Cultivar Development, Theory and Technique*, Vol. 1. Macmillan, New York, USA.
- Flintham, J. E., A. Börner, A. J. Worland, and M. D. Gale, 1997. Optimizing wheat grain yield: effects of *Rht* (gibberelin-insensitive) dwarfing genes. *Journal of Agricultural Science* 128, 11–25.
- Gale, M.D., S. Youssefian, 1985. Dwarfing genes in wheat. Ed. G.E. Russell, London, Butterworths. *Progress in Plant Breeding* 1, 1-35.
- Hampton, R., E. Ball, S. De Boer, 1990. *Serological Methods for Detection and Identification of Viral and Bacterial Plant Pathogens*. APS Press. St. Paul. MN.
- Hartl, L., A. Wosnitza, G. Zimmermann, 2001. Sortenresistenz wird besser. *DLG-Mitteilungen* 8 / 2001, 40-43.
- Jiang, G.; Z. Wu, and D. Huang, 1994. Effects of recurrent selection for resistance to scab (*Gibberella zeae*) in wheat. *Euphytica* 72: 107-113.
- Korzun, V., M. S. Röder, M. W. Ganal, A. J. Worland, and C. N. Law, 1998. Genetic analysis of the dwarfing gene (*Rht8*) in wheat. Part I. Molecular mapping of *Rht8* on the short arm of chromosome 2D of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 96, 1104–1109.
- Mesterházy A., 1995. Types and components of resistance to *Fusarium* head blight of wheat. *Plant Breeding* 114: 377-386.
- Mesterházy, Á., T. Bartók, C.G. Mirocha, R. Komoróczy, 1999. Nature of wheat resistance to *Fusarium* head blight and the role of deoxynivalenol for breeding. *Plant Breed.* 118, 97-110.
- Miedaner, T., G. Gang, and H. H. Geiger, 1996. Quantitative-genetic basis of aggressiveness of 42 isolates of *Fusarium culmorum* for winter rye head blight. *Plant Disease* 80, 500–504.

- Miedaner, T., C. Reinbrecht, U. Lauber, M. Schollenberger, H.H. Geiger, 2001. Effects of genotype and genotype x environment interaction on deoxynivalenol accumulation and resistance to *Fusarium* head blight in rye, triticale, and wheat. *Plant Breeding* 120, 97-105.
- Miedaner, T., B. Schneider, H.H. Geiger, 2003. Deoxynivalenol (DON) Content and *Fusarium* Head Blight Resistance in Segregating Populations of Winter Rye and Winter Wheat. *Crop Science* 43, 519-526.
- Obst, A., 1997. Zu Epidemiologie und Bekämpfung von *Fusarium graminearum* und *Fusarium culmorum* – Erkenntnisse aus den Rahmenplanversuchen Nr. 955. In: Ährenfusariosen des Getreides, 2. Auflage, Bayer. Staatsmin. Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, Bodenkultur und Pflanzenbau, Sondernummer 1/97, 2-28.
- Rabenstein, F., S. Rohde, A. Haase, K. Rohrig, and H.-H. Voss, 2007. Application of polyclonal antisera and monoclonal antibodies for detection of fungal antigens in *Fusarium* infected cereal grains and their use for resistance assessment. *J. Plant Diseases and Protection* 114, 186.
- Reid, L.M. and R.I. Hamilton, 1996. Screening maize for resistance to *Gibberella* ear rot. Technical bulletin 1996-5E. Eastern Cereal and Oilseed Research Centre.
- Rohde, S., and F. Rabenstein, 2005: Standardization of an indirect PTA-ELISA for detection of *Fusarium* spp. in infected grains. *Mycotoxin Res.* 21, 100–104.
- Ruckenbauer, P.; H. Buerstmayr, M. Lemmens, 2001. Present strategies in resistance breeding against scab (*Fusarium* spp.). *Euphytica* 119: 121-127.
- Rudd, J.C., R.D. Horsle, A.L. McKendry, and E.M. Eljas. 2001. Host plant resistance genes for *Fusarium* head blight: 1. Sources, mechanisms, and utility in conventional breeding systems. *Crop Sci.* 41:620-627.
- Searle, S.R., G. Casella, and C.E. McCulloch, 1992. Variance components. Wiley series in probability and statistics. John Wiley and Sons, Inc.
- Simón, M. R., A. J. Worland, and P. C. Struik, 2004. Influence of plant height and heading date on the expression of the resistance to *Septoria tritici* Blotch in near isogenic lines of wheat. *Crop Sci.* 44, 2078–2085.
- Snijders, C.H.A., 1990a. Diallel analysis of resistance to head blight cause by *Fusarium culmorum* in winter wheat. *Euphytica* 50, 1-9.
- Snijders, C.H.A., 1990b. The inheritance of resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum* in winter wheat. *Euphytica* 50, 11-18.
- Snijders, C.H.A., 1990c. Response to selection in F2 generations of winter wheat for resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum*. *Euphytica* 50, 163-169.
- Spanakakis A., 2003. Stand der Resistenzzüchtung gegen Fusarien bei Winterweizen. *Gesunde Pflanzen* 55, 144-150.
- Utz, H. F., 2000. PLABSTAT: A Computer Programme for Statistical Analysis of Plant Breeding Experiments, Version 2N. Institute of Plant Breeding, Seed Science, and Population Genetics, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany.
- Van Ginkel, M.; W. Van Der Schaar, Y. Zhuping, S. Rajaram, 1996. Inheritance of resistance to scab in two wheat cultivars from Brazil and China. *Plant Disease* 80, 863-867.
- Worland A. J., E. J. Sayers, and V. Korzun, 2001. Allelic variation at the dwarfing gene *Rht8* locus and its significance in international breeding programmes. *Euphytica* 119, 155–159.

7. Eigene Literatur

- Voss, H.-H., J. Holzapfel, L. Hartl, V. Korzun, F. Rabenstein, E. Ebmeyer, H. Coester, H. Kempf, and T. Miedaner, 2008. Effect of the *Rht-D1* dwarfing locus on *Fusarium* head blight rating in three segregating populations of winter wheat. Plant Breeding (in press).
- Miedaner, T., and H.-H. Voss, 2008. Effect of dwarfing *Rht* genes on *Fusarium* head blight resistance in two sets of near-isogenic lines of wheat and standard varieties. Crop Science (submitted).
- Rabenstein, F., S. Rohde, A. Haase, K. Rohrig, and H.-H. Voss, 2007. Application of polyclonal antisera and monoclonal antibodies for detection of fungal antigens in *Fusarium* infected cereal grains and their use for resistance assessment. J. Plant Diseases and Protection 114, 186-187.

Konferenzbeiträge

- Voss, H.-H., V. Korzun, and T. Miedaner, 2006. Effect of the height-reducing allele *Rht2* on *Fusarium* head blight in three segregating populations of winter wheat. 9th European Fusarium Seminar (EFS9), Wageningen, Niederlande.
- Voss, H.-H., und J. Holzapfel, 2007. Phänotypische und molekulare Untersuchungen zum Einfluß des *Rht2*-Gens bei Weizen auf den Befall mit Ährenfusariosen. Vortragsbeitrag zur GPZ-Resistenztagung, Fortschritte in der Krankheitsbekämpfung und Resistenzzüchtung bei landwirtschaftlichen Kulturpflanzen, Fulda.