

# **Verringerung des Mykotoxingehaltes von Weizen bei Befall mit Ährenfusariosen durch zuchtme- thodische Verfahren**

Forschungsprojektnr. G 104/04 HS

GFP-Nr. 04HS015

## **ABSCHLUSSBERICHT**

Laufzeit: 01.04.2005 – 31.03.2008

Berichtszeitraum: 01.04.2005 – 31.03.2008

### **Teilprojekt 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  
Sachbearb.: M.Sc.agr. Hans-Henning Voß

### **Teilprojekt 2:**

#### **Markergestützte Verfahren**

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft  
Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung  
Dr. Lorenz Hartl, Dr. Gerhard Zimmermann  
Am Gereuth 6  
85354 Freising-Weißenstephan  
Tel: 08161/71-3814  
Fax: 08161/71-4085  
E-Mail: lorenz.hartl@lfl.bayern.de  
Dipl.-Ing. agr. Josef Holzapfel

### **Zusammenarbeit:**

Dr. Erhard Ebmeyer, KWS Lochow GmbH, Bollersener Weg 5, 29303 Bergen  
Dr. Hilmar Cöster, RAGT-Saaten, Lockhauser Str. 68, 32052 Herford  
Dr. Hubert Kempf, Saatzucht Schweiger, Feldkirchen 3, 85368 Moosburg  
Dr. Victor Korzun, KWS Lochow GmbH, Bollersener Weg 5, 29303 Bergen  
Dr. Frank Rabenstein, Julius Kühn-Institut, 38104 Braunschweig

**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 2**

### **Gliederung**

1	Ziele und Aufgabenstellung.....	3
1.1	Planung und Ablauf des Projektes .....	3
1.2	Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde .....	4
2	Material und Methoden .....	6
2.1	Pflanzenmaterial und Phänotypisierung.....	6
2.2	Molekulare Analysen.....	6
2.3	Statistische Auswertung.....	6
2.4	QTL-Vergleich.....	7
3	Ergebnisse .....	8
3.1	Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse.....	8
3.2	Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse .....	23
4	Zusammenfassung .....	25
5	Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Ziele mit Hinweisen auf weiterführende Fragestellungen .....	26
6	Literaturverzeichnis.....	28

## 1 Ziele und Aufgabenstellung

Die Fusariumresistenz des Saatweizens besitzt eine komplexe Vererbung und ist zudem von der morphologischen Variation beeinflusst. Daher ist die *quantitative trait loci* (QTL) -Analyse die geeignete Methode, um Resistenzgenorte zu identifizieren. Die Genotypisierung, also die Charakterisierung des Genoms der Weizenlinien mit molekularen Markern, ist neben der Phänotypisierung die wichtigste Datengrundlage. Zentrale Bedeutung für das Teilprojekt 2 hatte deshalb die Kartierung der Kreuzungsnachkommenschaften mit AFLP- und Mikrosatellitenmarkern. Im Zusammenhang mit anderen Resistenzloci sollte auch der Einfluss halmverkürzender *reduced height (Rht)* -Gene auf den Fusariumbefall untersucht werden, da bereits in vielen Studien ein starker Einfluss der Pflanzenlänge auf den Fusariumbefall dokumentiert wurde. Um schließlich die Bedeutung und Verwendbarkeit der gefundenen QTL für die Resistenzzüchtung zu validieren, war es ein weiteres Ziel im Projekt, Verifizierungspopulationen mit anderem genetischen Hintergrund zu analysieren. Der Vergleich der in diesem Projekt gefundenen Resistenzloci mit bereits publizierten QTL sollte dazu beitragen, die Genetik der Fusariumresistenz in diversem Zuchtmaterial abzuschätzen.

Marker für Genorte mit bedeutenden Effekten sollten dann auch in markergestützten Züchtungsprogrammen Eingang finden. Denn gerade für die Fusariumresistenz, die wegen der starken Umweltinteraktionen schwierig zu erfassen ist, wären molekulare Marker eine nützliche Selektionshilfe.

### 1.1 Planung und Ablauf des Projektes

Das Hauptziel des Teilprojektes 2 war die Kartierung von QTL für die vier phänotypisierten Kreuzungspopulationen aus Teilprojekt 1. So wurden in den ersten beiden Projektjahren parallel zur Genotypisierung Feldprüfungen der Populationen durchgeführt und die Hälfte der Bestandsbeobachtung und der Fusariumbonituren, die die Datengrundlage für beide Teilprojekte waren, mit den Ressourcen des Teilprojektes 2 bestritten. Die detaillierte methodische Beschreibung der Prüfungen ist im Bericht des Teilprojektes 1 enthalten.

Zunächst sollten die Populationen selektiv anhand von Linien, die die Extreme der Verteilung für das Zielmerkmal Fusariumbefall repräsentieren, genotypisiert werden, um danach die gefundenen QTL an der Gesamtpopulation zu überprüfen (Tabelle 1). Wie schon im ersten Zwischenbericht 2006 erläutert, wurde dies aufgrund negativer Erfahrung aus einem anderen Projekt nicht in dieser Weise durchgeführt. Aus arbeitswirtschaftlichen Gründen wurde stattdessen sofort die Gesamtpopulationen mit

AFLP- und später mit Mikrosatelliten (SSR) -Markern analysiert. Die Meilensteine im zweiten Projektjahr wurden wie geplant erreicht. Im Jahr 2008 wurde die Anreicherung der QTL-Regionen mit SSR-Markern nach Plan abgeschlossen. Daraufhin wurden für alle vier Kartierungspopulationen genetische Karten erstellt und abschließende QTL-Analysen durchgeführt, so dass der geplante Vergleich der identifizierten mit bereits publizierten QTL möglich wurde. Im dritten Versuchsjahr wurden die gefundenen QTL aus der Population History/Rubens anhand einer History/Exzellenz\*2-Rückkreuzungspopulation überprüft.

Tabelle 1: Arbeitsplan für das Teilprojekt „Markergestützte Verfahren“ (TP 2).

Meilensteine	2005		2006		2007		2008		Verantwortlich
	1	2	1	2	1	2	1	2	
Selektive Genotypisierung	■	■	■						LfL
Überprüfung der QTL an der Gesamtpopulation				■	■	■			LfL
Vergleich der identifizierten mit bereits publizierten QTL		■						■	LfL
Bestimmung des <i>rht</i> -Genotyps		■							LfL
Verifikation der History-QTL							■		LfL
Anreicherung der QTL-Regionen mit SSR- Markern						■	■		LfL

## 1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Zu Beginn des Projektes war die Vererbung der Fusariumresistenz im europäischen Winterweizen nur teilweise erforscht (vgl. Gervais et al. 2003, Paillard et al. 2004, Schmolke et al. 2004). QTL-Studien mit asiatischen und lateinamerikanischen Resistenzdonoren zeigten, dass die Resistenz dieser Herkünfte durch wenige Loci mit großen Effekten vererbt wird. Durch verschiedene Arbeitsgruppen konnte vor allem der Haupt-QTL der asiatischen Sommerweizensorte Sumai 3 auf Chromosom 3BS unabhängig in mehreren Populationen bestätigt werden (Bai und Shaner 2004). Der große Effekt dieses QTL in verschiedenen genetischen Hintergründen macht ihn interessant für den Einsatz in der markergestützten Selektion. Die negativen agronomischen Eigenschaften von Sumai 3 verhindern jedoch die uneingeschränkte Nutzung dieser Resistenz. Die große Variation im europäischen Winterweizen-Genpool sowie erste QTL-Studien mit den europäischen Resistenzdonoren Dream, G16-92, Renan und Arina gaben Anlass zur Hoffnung, dass die Resistenz gegen Ährenfusariosen auch im adaptierten Pflanzenmaterial durch einige Resistenzloci mit großen und reproduzierbaren Effekten vererbt sein könnte, die durch Minorgene nur modifiziert werden. Die Nutzung von solchen adaptierten Resistenzdonoren, wie Apache, History, Romanus und Solitär hätte aus züchterischer Sicht den Vorteil, dass weniger negative agronomischen Eigenschaften in den Nachkommenschaften zu erwarten sind.

Phänotypische Beobachtungen und QTL-Analysen deuteten schon vor Projektbeginn an, dass die Fusariumresistenz oftmals mit längerem Wuchs einhergeht (Mesterházy 1995, Schmolke 2004). Versuche mit nah-isogenen Maris-Huntsman-Linien gaben einen ersten Hinweis auf einen negativen Einfluss des *Rht-D1b*-Kurzstrohallels auf den Fusariumbefall (Hilton et al. 1999). Daher war es ein weiteres Ziel im Projekt, den Effekt dieses weit verbreiteten Allels auf den Fusariumbefall zu untersuchen.

Auf Grund der wenigen Studien zur Vererbung der Fusariumresistenz im europäischen Winterweizen waren die genetischen Unterschiede bzw. Gemeinsamkeiten zwischen den verschiedenen Resistenzdonoren unbekannt. Wichtige Informationen zur Kombinierbarkeit und Pyramidisierung der Resistenzgene fehlten. Der Vergleich der hier identifizierten mit den publizierten Resistenzloci des europäischen Winterweizens sollte die Basisinformation zur Genetik der Fusariumresistenz für praxisorientierte Zuchtstrategien darstellen.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Pflanzenmaterial und Phänotypisierung

Die Kartierungspopulationen und deren Phänotypisierung wurden bereits in Teilprojekt 1 beschrieben. Die Verifizierungspopulation History/Excellenz\*2 wurde 2007 an vier Standorten (Freising, Hohenheim, Seligenstadt und Silstedt) auf die Zielmerkmale Zeitpunkt des Ährenschiebens, Fusariumbefall und Pflanzenlänge geprüft. Die Linien der Verifizierungspopulation gehen auf Selbstungsnachkommenschaften der Rückkreuzung History/Excellenz\*2 ( $BC_1F_{2:6-7}$ ) zurück. Die Methoden für die künstliche Inokulation mit *F. culmorum*, die Phänotypisierung und die statistischen Auswertung der phänotypischen Daten sind im Bericht des Teilprojektes 1 beschrieben.

### 2.2 Molekulare Analysen

Von allen Linien der Populationen wurde die DNA mit der CTAB-Methode nach Murray und Thompson (1980) mit kleinen Modifikationen extrahiert. Für die AFLP-Analysen wurde die DNA mit den beiden Restriktionsenzymen *Pst*I und *Mse*I geschnitten. Das verwendete Protokoll für die AFLP-Marker geht aus Hartl et al. (1999) mit Modifikationen nach Schmolke et al. (2005) hervor. Die Kartierungspopulationen wurden mit 44–46 Primerkombinationen genotypisiert, wobei bei den selektiven *Pst*I- und *Mse*I-AFLP-Primern jeweils drei selektive Nukleotide verwendet wurden. Die Comigration von AFLP-Markern in Chinese Spring ermöglichte die chromosomale Zuordnung von AFLP-Loci mit Hilfe des daraus entwickelten Sortimentes nullitetrasomer Linien, die freundlicherweise von Prof. F. Zeller (Technische Universität München, Freising-Weihenstephan) zur Verfügung gestellt wurden. Mit SSR-Analysen nach dem Protokoll von Häberle (2008) konnte die chromosomale Zuordnung und die Abdeckung schwer zu kartierender Genombereiche, vor allem auf dem D-Genom, verbessert werden.

### 2.3 Statistische Auswertung

Die Erstellung der genetischen Karten erfolgte mit der Software JoinMap Version 3.0 (Van Ooijen und Voorrips 2001). Mit den genotypischen Daten und den nach Blockeffekten adjustierten Mittelwerten der erfassten Merkmale aus Teilprojekt 1 wurde für jede Population eine QTL-Analyse mit der Software MultiQTL Version 2.5 (Korol et al. 2005) durchgeführt. Die QTL-Analyse wurde mit der *multiple-environment*-Option gerechnet, bei der die Daten nicht über die Prüfumwelten gemittelt, sondern einzeln eingehen. Nach einer einfachen Intervall-Kartierung (SIM) wurde für jede Kopplungsgruppe und jedes Merkmal die Signifikanz eines putativen QTL durch einen Permutat-

tionstest ( $N = 1.000$ ) empirisch geschätzt (Churchill und Doerge 1994). Alle Chromosomen mit signifikanten ( $P < 0,05$ ), putativen QTL aus SIM wurden in das Modell der multiplen Intervall-Kartierung (MIM) aufgenommen. Bei der MIM wird durch die Berücksichtigung von QTL-Effekten anderer Kopplungsgruppen die Kovarianz des genetischen Hintergrunds berücksichtigt, was die Präzision der QTL-Schätzung erhöht (Kao et al. 1999). Durch einen globalen Permutationstest mit 10.000 Permutationen wurden die detektierten QTL aus dem MIM auf Signifikanz geprüft ( $P < 0,001$ ). Daraufhin wurde für jeden signifikanten QTL die Standardabweichung von QTL-Parametern, die Vertrauensbereiche und die statistische Power der QTL-Detektion durch einen Bootstrapping-Test (Lebreton und Visscher 1998) ermittelt ( $N = 10.000$ ). Die Signifikanz von QTL  $\times$  Umwelt-Interaktionen wurde ebenfalls durch Permutation ( $N = 1.000$ ) bestimmt. Dazu wurde ein Sub-Modell mit gleichem Substitutionseffekt in allen Umwelten (keine Wechselwirkung) gegen ein Sub-Modell mit unterschiedlichen Substitutionseffekten (Wechselwirkung) getestet. Auf ähnliche Weise wurden epistatische Wechselwirkungen zwischen zwei gekoppelten QTL getestet. Als „Haupt-QTL“ werden im Folgenden all jene QTL bezeichnet, die in mindestens einer Umwelt mehr als zehn Prozent der phänotypischen Varianz erklären ( $R^2$ ). Die Effekte der QTL zwischen den Markerklassen wurden durch Varianzanalysen mit dem Statistikpaket SAS Version 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, USA) ausgewertet.

## 2.4 QTL-Vergleich

Um Aussagen über die Reproduzierbarkeit der QTL in verschiedenen genetischen Hintergründen treffen zu können, wurden die Genom-Positionen der identifizierten QTL gegenübergestellt. Innerhalb der Populationen wurden die Vertrauensbereiche (99,9 %) der QTL verglichen. Beim Vergleich mit QTL aus anderen Studien wurde die wahrscheinlichste Position der QTL anhand der veröffentlichten LOD-Kurven bzw. Markerintervalle betrachtet. Wenn aufgrund fehlender gemeinsamer Marker ein direkter Vergleich nicht möglich war, wurden Referenzkarten der GrainGenes-Datenbank benutzt (GrainGenes 2.0 2008). Diese waren in erster Linie die Consensus-SSR-Karte von Somers et al. (2004), die physikalische SSR-Karte von Sourdille et al. (2004), sowie die SSR-Karte der Synthetic/Opata-Kartierungspopulation (Röder et al. 1998). Für den QTL-Vergleich wurden aus publizierten Studien alle QTL betrachtet, die mit dem Fusariumbefall in mittel- und unmittelbarer Verbindung stehen, wie zum Beispiel QTL für die Eindringungs- und Ausbreitungsresistenz, den Fusariumbefall, DON-Gehalt, Anteil fusariumgeschädigter Körner oder durch Fusarium reduziertes Korngewicht.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

##### 3.1.1 Erstellung der genetischen Karten

Für die vier Kartierungspopulationen wurden zwischen 230 (Apache/Biscay) und 337 (History/Rubens) spaltende AFLP-Fragmente ausgewertet. Durch das Verwenden derselben Primerkombinationen in den Kartierungspopulationen konnten insgesamt 308 comigrierende AFLP-Fragmente als gemeinsam in mindestens zwei Populationen ausgewertet. In die genetischen Karten wurden 141–228 AFLP-Marker aufgenommen (Tabelle 2) und sehr eng gekoppelte Marker (<1 cM) grundsätzlich entfernt. Von insgesamt 354 getesteten Mikrosatelliten-Markern waren bei den Populationen Apache/Biscay, History/Rubens, Romanus/Pirat und Solitär/Travix jeweils 159, 194, 182 bzw. 179 SSR polymorph. Der Polymorphiegrad war somit bei der Population Apache/Biscay (0,45) am geringsten und bei der Population History/Rubens (0,55) am höchsten. Alle Populationen spalteten bezüglich des *Rht-D1*-Genortes und wurden daher mit den entsprechenden funktionellen STS-Markern genotypisiert (Ellis et al. 2002). In den Kreuzungseltern Pirat und Travix wurde durch den diagnostischen Marker *Xiag95* die 1BL.1RS Weizen–Roggen-Translokation nachgewiesen. Die Populationen Romanus/Pirat und Solitär/Travix spalteten daher bezüglich dieser Translokation, was zu Markerclustern in diesem Genombereich führte. Mikrosatelliten-Marker bestätigten die 5BL.7BS Translokation beider Eltern der Population Solitär/Travix. Die Karten der Kreuzungspopulationen umfassten 44 (Apache/Biscay), 54 (History/Rubens), 45 (Romanus/Pirat) bzw. 40 (Solitär/Travix) Kopplungsgruppen. Mit Ausnahme zweier Kopplungsgruppen der Population History/Rubens konnten alle Kopplungsgruppen den Chromosomen des Weizengenoms zugeordnet werden. Die kartierte Gesamtlänge des Genoms betrug zwischen 1.532 cM (Solitär/Travix) und 2.187 cM (History/Rubens). In jeder Population waren alle 21 Chromosomen zumindest teilweise durch Kopplungsgruppen repräsentiert.

Tabelle 2: Markerabdeckung und kartierte Genomlänge der vier Kreuzungspopulationen.

Population	Genom	# AFLP	# SSR	# STS	# Marker	Genetische Distanz (cM) <sup>‡</sup>
Apache/Biscay	A	61	36	-	97	707
	B	86	47	1	134	809
	D	27	33	2	62	568
	<b>Gesamt</b>		<b>174 (115)<sup>†</sup></b>	<b>116</b>	<b>3</b>	<b>293</b>
History/Rubens	A	79	54	0	133	726
	B	123	57	0	180	923
	D	23	53	1	77	525

Population	Genom	# AFLP	# SSR	# STS	# Marker	Genetische
						Distanz (cM) <sup>‡</sup>
	X	3	1	-	4	13
	<b>Gesamt</b>	<b>228 (120)</b>	<b>165</b>	<b>1</b>	<b>394</b>	<b>2.187</b>
Romanus/Pirat	A	55	42	0	97	613
	B	63	47	1	111	570
	D	23	43	2	68	539
	<b>Gesamt</b>	<b>141 (111)</b>	<b>132</b>	<b>3</b>	<b>276</b>	<b>1.722</b>
Solitär/Travix	A	55	32	0	87	520
	B	68	30	1	99	476
	D	23	26	2	51	536
	<b>Gesamt</b>	<b>146 (89)</b>	<b>88</b>	<b>3</b>	<b>237</b>	<b>1.532</b>

\* X: Kopplungsgruppe keinem Chromosom zugeordnet.

† Zahl in Klammern: Anzahl in mindestens einer zweiten Population comigrierender AFLP-Marker.

‡ cM: centiMorgan Haldane.

### 3.1.2 QTL-Analyse

Mit der multiplen Intervall-Kartierung (MIM) wurden 13, 8, 14 bzw. 18 hochsignifikante ( $P < 0,001$ ) QTL für Fusariumbefall in den Populationen Apache/Biscay, History/Rubens, Romanus/Pirat bzw. Solitär/Travix identifiziert (Tabelle 3). Haupt-QTL, definiert als QTL mit einer erklärten phänotypischen Varianz in mindestens einer Umwelt von mindestens 10 %, wurden in allen Populationen auf Chromosom 4DS im Bereich des Kurzstrohgens *Rht-D1* lokalisiert (LOD 25,3–142,8). Der Vertrauensbereich (99,9 %) für die QTL-Position lag in allen Populationen am *Rht-D1*-Locus, in drei der vier in einem Intervall, das kleiner als 1 cM war. Donor des Resistenzallels waren dabei die Eltern mit dem Wildtypallel *Rht-D1a*. Gemessen am Substitutionseffekt zeigte dieser QTL in jeder Population den größten Effekt auf den Fusariumbefall. Die erklärte phänotypische Varianz variierte bei diesem QTL trotz des relativ großen Effektes sehr stark zwischen den Umwelten.

Obwohl die meisten QTL in den Populationen von den resistenten Kreuzungseltern vererbt wurden, trugen auch die anfälligen Eltern mehrere Resistenzgene bei. Die QTL mit den größten Effekten auf den Fusariumbefall – abgesehen vom *Rht-D1*-QTL – stammten von den anfälligen Eltern Rubens und Pirat. Aber auch die anfälligen Kreuzungseltern Biscay und Travix steuerten bedeutende Haupt-QTL bei. In den Populationen Apache/Biscay und Romanus/Pirat zeigten die meisten QTL signifikante Wechselwirkungen mit der Umwelt. Diese Interaktionen waren auch für vier bzw. acht QTL der Populationen History/Rubens bzw. Romanus/Pirat erkennbar. Das Gesamtmodell erklärte zwischen 45,1 % (Apache/Biscay, Wohlde 2005) und 79,0 % (History/Rubens, Silstedt 2005) der phänotypischen Varianz für den Fusariumbefall in allen Populationen und Umwelten.

Tabelle 3: Signifikante ( $P < 0,001$ ) QTL für Fusariumbefall in den vier Kartierungspopulationen. Die Parameter wurden mittels MIM und dem „multiple environment“ Modell errechnet. Die Chromosomen mit Haupt-QTL ( $R^2 > 10\%$  in mindestens einer Umwelt) sind hervorgehoben.

Chromosom	Donor*	Nächster Marker	LOD	Überlappung†	$R^2$ Umwelt‡ (%)					Mittl. Subst. effekt§ (%)
					1	2	3	4	5	
<b>Apache/Biscay</b>										
1BL	Biscay	<i>XP6451-190.AHR</i>		AES,	6,5					-
			11,8	PL		4,6	2,7	2,1		10,1
1D	Apache	<i>Xgwm458-1D</i>	8,3	PL	4,4	2,4	0,6	2,4	-	7,5
2B	Biscay	<i>XP6853-119.AS</i>	14,9	PL	6,3	6,7	3,3	1,8	-	10,6
<b>2D</b>	Biscay	<i>Xgwm484-2D</i>		AES,	10,7					-
			14,3	PL		5,6	0,6	0,6		9,0
3B	Apache	<i>XP7455-203.ARS</i>	10,2	-	2,1	4,8	2,0	7,5	-	9,8
3D**	Biscay	<i>Xgwm52-3D</i>	12,0	-	3,7	4,0	4,3	2,9	-	10,1
4AL	Apache	<i>XP7452-646</i>	12,0	-	1,6	1,0	7,8	3,4	-	8,6
<b>4D**</b>	Apache	<i>Rht-D1</i>	26,5	PL	15,2	8,9	2,1	19,4	-	16,3
4DL	Apache	<i>Xgwm265-4D</i>	8,1	-	1,5	3,3	3,0	2,1	-	7,9
5AL	Apache	<i>Xwmc410-5A</i>	7,2	-	0,4	0,3	4,0	3,5	-	4,9
5B-2	Apache	<i>XP7058-189.AHR</i>	11,6	-	2,4	0,5	7,9	4,4	-	8,9
<b>6A††</b>	Apache	<i>XP7647-189</i>	18,6	-	3,5	7,2	14,1	5,7	-	13,9
6B††	Apache	<i>XP6347-204</i>	8,0	-	1,0	1,0	4,9	2,8	-	7,5
<b><math>R^2</math> Gesamt:</b>					<b>58,3</b>	<b>45,1</b>	<b>50,8</b>	<b>52,7</b>	<b>-</b>	
<b>History/Rubens</b>										
1A	History	<i>XP6851-352</i>	12,2	-	4,1	9,2	5,7	3,1	3,2	12,0
1BL	History	<i>XP6451-190.AHR</i>	14,5	PL	6,6	0,7	2,5	7,9	4,3	10,7
2A**	Rubens	<i>Xgwm425-2A</i>	10,4	-	1,5	2,9	2,0	4,1	3,4	8,9
2BS**	History	<i>XP6852-318.AHR</i>	15,0	-	2,1	4,8	8,0	2,4	5,0	11,1
<b>4D</b>	History	<i>Rht-D1</i>	66,6	PL	30,4	35,5	28,1	30,9	29,6	29,2
<b>6BL</b>	Rubens	<i>XP7753-178.AHR</i>	28,0	AES	19,1	20,7	6,9	18,9	15,8	22,1
7B**	Rubens	<i>Xgwm43-7B</i>	11,2	-	3,0	4,3	3,0	1,9	3,1	9,6
7BS**	History	<i>XP6653-115</i>	8,4	AES	2,8	0,9	3,2	1,7	4,7	8,4
<b><math>R^2</math> Gesamt:</b>					<b>67,2</b>	<b>79,0</b>	<b>56,6</b>	<b>70,0</b>	<b>68,4</b>	
<b>Romanus/Pirat</b>										
1A-1	Pirat	<i>Xwmc818-1A</i>	8,1	-	0,2	2,3	0,4	0,2	2,1	4,3
		<i>XP7056-308.ARS</i>		AES,						
1B	Romanus		9,1	PL	3,0	0,4	0,4	1,6	0,7	6,0
<b>1BL</b>	Pirat	<i>XP6451-190.AHR</i>	57,9	AES	7,7	4,6	6,6	13,8	7,5	18,1
		<i>Xbarc149-1D</i>		AES,						
1DS	Pirat		13,2	PL	2,8	0,9	0,7	1,8	1,8	8,0
2DS	Romanus	<i>Xcfd56-2D</i>	9,1	PL	2,5	1,2	0,8	0,5	0,4	4,0
3DL-3	Romanus	<i>XP6452-257.RS</i>	15,4	-	0,5	2,3	0,6	4,2	4,2	9,1
4A	Pirat	<i>XP7553-254.AR</i>	25,6	AES	4,7	0,1	3,1	5,0	2,9	10,6
4B	Pirat	<i>Xgwm375-4B</i>	18,2	AES	2,3	1,5	1,3	4,7	0,2	5,7
<b>4D</b>	Romanus	<i>Rht-D1</i>	142,8	PL	31,9	30,2	36,4	20,7	22,1	31,5
5AL	Pirat	<i>Xgwm410-5A</i>	33,4	AES	9,2	0,5	5,7	5,9	4,5	14,0
6DL**	Romanus	<i>Xbarc96-6D</i>	15,6	AES	0,9	1,2	1,9	3,4	2,0	8,9
7A	Romanus	<i>XP6655-351</i>	27,6	PL	4,8	7,7	5,7	1,5	4,1	13,3
7AL	Romanus	<i>Xgwm344-7A</i>	14,3	-	0,5	6,1	1,4	0,2	0,7	6,1

Chromosom	Donor*	Nächster Marker	LOD	Überlappung <sup>†</sup>	$R^2$ Umwelt <sup>‡</sup> (%)					Mittl. Subst. effekt <sup>§</sup> (%)
					1	2	3	4	5	
7BL	Romanus	XP7061-206.RS	23,5	-	1,6	5,5	2,3	1,5	3,9	10,6
<b><math>R^2</math> Gesamt:</b>					<b>73,7</b>	<b>67,5</b>	<b>69,1</b>	<b>62,1</b>	<b>56,8</b>	
<b>Solitär/Travix</b>										
1AL**	Travix	XP6452-398.AS	12,9	-	1,8	1,7	0,5	1,8	-	6,2
1AS	Solitär	Xksum128-1A/ Xgwm33-1A <sup>¶</sup>	7,7	-	1,3	0,6	4,0	0,5	-	4,8
<b>1BL</b>	Travix	Xwmc546-1B	33,5	-	1,6	2,2	13,7	10,5	-	11,4
<b>1RS</b>									-	
1D <sup>††</sup>	Travix	Xbarc148-1D	7,8	-	0,6	0,5	0,4	2,1	-	4,2
2B-2	Solitär	XP6853-140	7,8	PL	1,0	0,2	5,2	1,3	-	1,8
3A <sup>**††</sup>	Travix	Xgwm2-3A	33,6	PL	6,7	8,3	0,3	1,6	-	10,3
4B**	Travix	XP6452-171	19,0	AES	0,3	1,4	4,5	4,9	-	7,5
4DL**	Solitär	XP6852-710.AS	19,5	-	3,4	3,8	1,4	1,0	-	8,0
<b>4DS</b>	Solitär	Rht-D1	25,3	PL	22,2	2,9	3,7	14,3	-	14,2
5AL <sup>††</sup>	Solitär	Xwmc410-5A	8,5	-	0,2	1,5	1,6	0,1	-	3,5
5AS**	Travix	Xgwm154-5A	27,6	PL	4,2	1,7	5,0	6,5	-	9,9
5DS	Solitär	XP6852-703.HS	37,0	-	1,1	5,5	6,9	7,8	-	11,5
6AL-1	Solitär	Xgwm570-6A	31,5	PL	8,0	2,8	1,1	9,2	-	11,0
6AL-2**	Solitär	XP7452-182.RS	14,5	PL	5,6	0,1	3,9	3,2	-	6,8
6B-2**	Solitär	XP6652-169.AHRS	18,6	PL	1,4	5,9	0,9	0,5	-	6,1
<b>7AS**</b>	Solitär	XP6655-280.AHRS	34,7	-	14,1	3,7	0,9	6,7	-	11,7
7B	Solitär	XP6851-253	18,3	AES	3,7	2,0	3,9	1,9	-	8,3
7D**	Travix	Xbarc172-7D	14,2	-	2,4	2,7	1,2	0,9	-	6,8
<b><math>R^2</math> Gesamt:</b>					<b>56,3</b>	<b>61,2</b>	<b>50,8</b>	<b>65,9</b>	<b>-</b>	

\* Donor des Resistenzallels.

<sup>†</sup> Konfidenzintervall des QTL (99,9 %) überlappt mit QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens (AES) bzw. mit QTL für Pflanzenlänge (PL).

<sup>‡</sup> Bestimmtheitsmaß für die jeweilige Umwelt. Apache/Biscay, Umwelt 1–4: Moosburg 2005, Wohlde 2005, Silstedt 2006, Wohlde 2006. History/Rubens, Umwelt 1–5: Freising 2005, Silstedt 2005, Freising 2005, Hohenheim 2006, Silstedt 2006. Romanus/Pirat, Umwelt 1–5: Hohenheim 2005, Silstedt 2005, Hohenheim 2006, Silstedt 2006, Wohlde 2006. Solitär/Travix, Umwelt 1–4: Moosburg 2005, Wohlde 2005, Freising 2006, Wohlde 2006.

<sup>§</sup> Substitutionseffekt des positiven QTL-Allels relativ zu Linien mit negativen QTL-Allel, gemittelt über die Umwelten.

<sup>¶</sup> QTL-Scheitelpunkt nicht eindeutig definierbar.

\*\* QTL zeigt keine signifikanten ( $P > 0,05$ ) Wechselwirkungen mit der Umwelt.

<sup>††</sup> QTL zeigt signifikante ( $P < 0,05$ ) epistatische Wechselwirkungen mit Chromosom 4D (Rht-D1).

Viele QTL überlappten mit QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens und/oder mit QTL für die Pflanzenlänge. In allen Populationen konnten jedoch mehrere QTL identifiziert werden, deren Effekt auf den Fusariumbefall unabhängig von der Pflanzenlänge bzw. vom Zeitpunkt des Ährenschiebens war. Die Effekte der detektierten QTL für den Fusariumbefall sind exemplarisch für die Population Apache/Biscay in Abbildung 1 visualisiert. Die Nachkommenschaften akkumulierten ein bis elf Resistenzallele der insgesamt 13 detektierten QTL-Allele. Je mehr günstige QTL-Allele eine Linie akkumulierte, desto weniger Fusariumbefall zeigte sie im Mittel. Dieser annähernd lineare Trend wurde ebenso für die anderen Kartierungspopulationen beobachtet (Daten

nicht gezeigt). Die relativ großen Streuungen der jeweiligen Klassen können größtenteils durch starke QTL × Umwelt-Effekte und die Spaltung des *Rht-D1*-Locus erklärt werden.

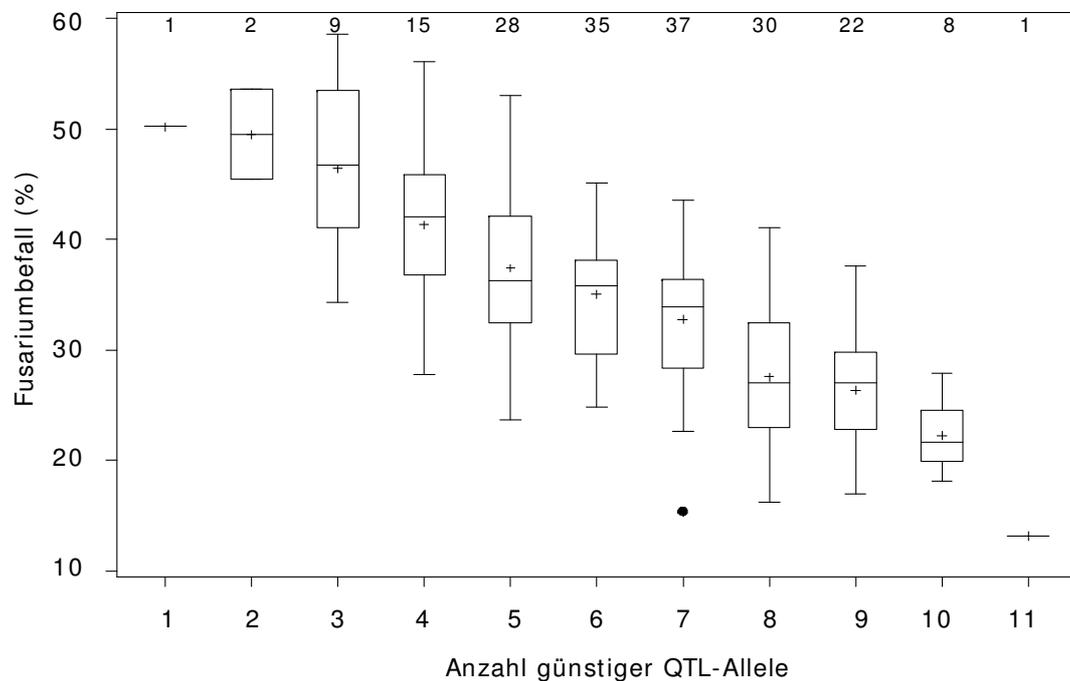
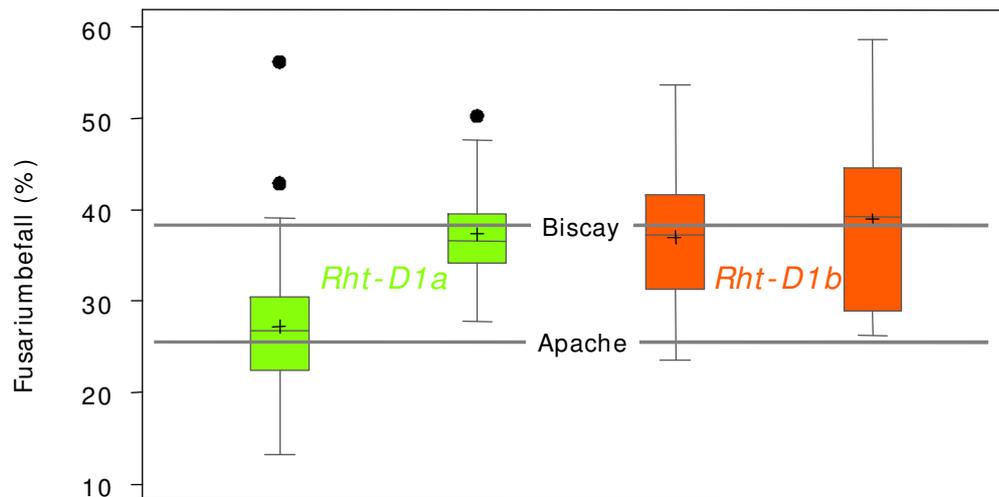


Abbildung 1: Boxplot-Verteilungen des Fusariumbefalls der Linien der Population Apache/Biscay, klassifiziert nach der Anzahl bezüglich der Fusariumresistenz günstiger QTL-Allele. Die Daten basieren auf den Mittelwerten der vier Umwelten. Durchgezogene Linien: Median, +: Mittelwerte, die Box beinhaltet 50% der Werte. Die Zahl über jedem Boxplot gibt die Klassengröße N an.

Neben dem QTL bei *Rht-D1* wurden weitere Haupt-QTL ( $R^2 > 10\%$  in mindestens einer Umwelt) bei der Population Apache/Biscay auf Chromosom 2D und 6A, bei der Population History/Rubens auf Chromosom 6BL, bei der Population Romanus/Pirat auf Chromosom 1BL und bei der Population Solitär/Travix auf Chromosom 1BL.1RS und 7A detektiert. Die resistenten Kreuzungseltern History und Romanus steuerten außer dem QTL im Bereich von *Rht-D1* keine Haupt-QTL bei. Der Haupt-QTL auf Chromosom 6A, vererbt von Apache, minderte im Mittel den Fusariumbefall relativ um 13,9 %, bezogen auf die Linien ohne Resistenzallel. Jedoch zeigte dieser QTL epistatische Wechselwirkungen ( $P < 0,05$ ) mit *Rht-D1*-Locus. Während der Fusariumbefall bei den *Rht-D1a*-Trägern (Wildtypinien) signifikant vermindert wurde, war der Effekt bei den *Rht-D1b*-Trägern nicht signifikant (Abbildung 2).



6A QTL (XP7647-189)	R	S	R	S
Fusariumbefall (%)	27 (a)	37 (b)	37 (b)	39 (b)
Pflanzenlänge (cm)	80 (a)	80 (a)	75 (b)	75 (b)
Ährenschieben (d)	158 (a)	157 (a)	158 (a)	159 (a)
N	48	25	27	37

Abbildung 2: Boxplot-Verteilungen der Markerklassen für die Population Apache/Biscay. Die Markerklassen wurden gruppiert nach Linien mit dem Wildtyp-Allel (*Rht-D1a*) bzw. Kurzstroh-Allel (*Rht-D1b*) und nach Linien mit Resistenzallel auf Chromosom 6A (R) bzw. ohne Resistenzallel (S). Die Daten basieren auf den adjustierten Mittelwerten über vier Umwelten. Markerklassen mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant im multiplen Mittelwertvergleich nach Scheffé ( $P < 0,05$ ).

Epistatische Interaktionen mit *Rht-D1* waren außerdem für QTL auf Chromosom 6B (Apache/Biscay), sowie den Chromosomen 1D, 3A und 5AL (Solitär/Travix) zu beobachten. Der Haupt-QTL für Fusariumresistenz auf Chromosom 2D – vererbt vom anfälligen Elter Biscay – überlappte mit einem QTL, der starken Effekt auf den Zeitpunkt des Ährenschiebens hatte (Daten nicht gezeigt). Es kann davon ausgegangen werden, dass dieser QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens pleiotrop auf den Fusariumbefall wirkte und deshalb aus züchterischer Sicht uninteressant ist.

### 3.1.3 QTL-Verifizierung

Für die Nutzung eines QTL in der markergestützten Selektion ist es wichtig, dass der Effekt auf das Zielmerkmal in anderen genetischen Hintergründen reproduzierbar bleibt. Daher war es ein Teilziel dieses Projektes, die QTL des Resistenzdonors History, die in der Population History/Rubens gefunden wurden, in einer History/Excellenz\*2 Rückkreuzungspopulation zu validieren. Dazu wurden die 32 Rückkreuzungslinien der Population History/Excellenz\*2 im Jahr 2007 zusammen mit Standardsorten an vier Standorten (Freising, Hohenheim, Seligenstadt und Silstedt) geprüft. Insgesamt wurden Marker für drei QTL der Chromosomen 1BL, 4DS und 7BS, deren positives Allel von History stammte, bei dieser Population untersucht. Varianzanalysen bestätigten lediglich für den QTL der *Rht-D1*-Genomregion (Chro-

mosom 4DS) signifikante Effekte ( $P < 0,001$ ) auf den Fusariumbefall. Die anderen QTL zeigten nur einen sehr schwach positiven, jedoch nicht signifikanten ( $P > 0,05$ ) Einfluss auf den Fusariumbefall (Daten nicht gezeigt). Dies könnte einerseits auf die kleine Populationsgröße ( $N = 32$ ) und die geringen QTL-Effekte zurückgeführt werden. Andererseits kann die Besetzung der beiden anderen QTL-Genorte von Exzellenz mit dem gleichen positiven Allel und damit die fehlende phänotypische Spaltung nicht ausgeschlossen werden, wie die häufige Übereinstimmung von QTL zwischen den Sorten zeigt.

#### 3.1.4 QTL-Vergleich

Wichtiger Abschluss des Projektes ist der Vergleich der QTL zwischen den Kartierungspopulationen im Projekt und in den bisher erschienenen Publikationen. Dieser ermöglicht Rückschlüsse über die Genetik der Fusariumresistenz im deutschen Sortenmaterial und lässt die Beurteilung der Reproduzierbarkeit der QTL-Kartierung zu. In einer Genomregion auf Chromosom 1BL kolokalisierten QTL aus drei der Kartierungspopulationen, in der Genomregion von *Rht-D1* sogar QTL aus allen vier Populationen. Insgesamt wurden 29 Genomregionen identifiziert, in die sowohl Fusariumresistenz-QTL aus dieser Studie, als auch QTL aus anderen Studien kartieren (Tabelle 4). Die chromosomale Lokalisierung aller Fusariumresistenz-QTL dieser Studie, sowie überlappender QTL aus Vergleichsstudien, ist in Abbildung 3 schematisch dargestellt.

Tabelle 4: Vergleich von QTL für Fusariumbefall dieser Studie mit publizierten QTL für Merkmale, die mit der Fusariumresistenz in Verbindung stehen und in gleiche Genomregionen kartieren.

Chromosom <sup>†</sup>	Vorliegende Studie		Vergleichsstudie		
	QTL-Donor	Nächster Marker	Population bzw. Sorten <sup>†</sup>	Flankierender Marker	Referenz
<b>1AS</b>	Pirat, Solitär	<i>Xwmc818, Xgwm33</i>	G16-92/ <b>Hussar</b> <sup>¶</sup> [G/H]	<i>XP68M52-309</i>	Schmolke et al. (2008)
1AS	History	<i>XP6851-352</i>	<b>CJ 9306</b> /Veery [C/V]	<i>Xbarc148</i>	Jiang et al. (2007a, b)
1AL	Travix	<i>XP6452-398.AS</i>	Arina/ <b>NK93604</b> [A/N]	<i>Xbarc213</i>	Semagn et al. (2007)
<b>1BL.1RS</b>	Travix <sup>‡</sup>	<i>Xiag95</i>	<b>Sincron</b> <sup>‡</sup> /F1054W [S/F]	<i>Gli-B1</i>	Ittu et al. (2000)
			<b>Fundulea 201R</b> <sup>‡</sup> /Patterson [F/P]	<i>Xgwm18</i>	Shen et al. (2003b)
			Wangshuibai/ <b>Alondra-S</b> <sup>¶</sup> [W/A]	<i>XEtcg.Magc-7</i>	Zhang et al. (2004)
			Dream/ <b>Lynx</b> <sup>¶</sup> [D/L]	<i>Xgwm18</i>	Schmolke et al. (2005)
			Frontana/ <b>Seri 82</b> <sup>‡</sup> [F/S]	<i>Xe38m50.10</i>	Mardi et al. (2006)
			<b>Cansas</b> <sup>‡</sup> /Ritmo <sup>¶</sup> [C/R]	<i>Gli-B1</i>	Klahr et al. (2007)
			Spark/ <b>Rialto</b> <sup>¶</sup> [S/R]	<i>XwPt-0705</i>	Srinivasachary et al. (2008)
<b>1B</b>	Romanus	<i>XP7056-308.ARS</i>	<b>CM-82036</b> /Remus [CM/R]	<i>Glu-B1</i>	Buerstmayr et al. (2002)
			<b>Wangshuibai</b> /Wheaton [W/W]	<i>Xgwm759</i>	Zhou et al. (2004)
			<b>Arina</b> /Riband <sup>¶</sup> [A/R]	<i>XS12M23.400</i>	Draeger et al. (2007)
			<b>Arina</b> /Riband <sup>¶</sup> [A/R]	<i>Xgwm18</i>	Draeger et al. (2007)
<b>1DS</b>	Pirat	<i>Xbarc149</i>	<b>Sincron</b> /F1054W [S/F]	<i>Gli-D1</i>	Ittu et al. (2000)
			Cansas/ <b>Ritmo</b> <sup>¶</sup> [C/R]	<i>Xwhs2001</i>	Klahr et al. (2007)
<b>2A</b>	Rubens	<i>Xgwm425</i>	<b>Wangshuibai</b> /Annong 8455 [W/An]	<i>Xgwm425</i>	Ma et al. (2006)
			<b>Wangshuibai</b> /Falat [W/F]	<i>Xgwm372</i>	Najaphy et al. (2006)
			<b>Wangshuibai</b> /Nanda 2419 [W/N]	<i>Xgwm328</i>	Li et al. (2007)
			<b>Spark</b> /Rialto <sup>¶</sup> [S/R]	<i>Xgwm515</i>	Srinivasachary et al. (2008)
2BS	History	<i>XP6852-318.AHR</i>	<b>Goldfield</b> /Patterson [G/P]	<i>Xbarc200</i>	Gilsinger et al. (2005)
2B	Biscay, Solitär	<i>XP6853-119, XP6853-140</i>	<b>Renan</b> /Récital [R/R]	<i>Xgwm374</i>	Gervais et al. (2003)
			Blackbird ( <i>T. carthlicum</i> )/ <b>Strongfield</b> ( <i>T. durum</i> ) [B/S]	<i>Xgwm55</i>	Somers et al. (2006)
			<b>Ernie</b> /MO 94-317 [E/M]	<i>Xgwm276</i>	Liu et al. (2007)

Chromosom <sup>*</sup>	Vorliegende Studie		Vergleichsstudie		
	QTL-Donor	Nächster Marker	Population bzw. Sorten <sup>†</sup>	Flankierender Marker	Referenz
2DS	Romanus	<i>Xcfd56</i>	Sumai 3/Stoa [S3/S]	<i>Xbarc1064</i>	Zhang und Mergoum (2007)
			Sumai 3/ <b>Gamenya</b> [S/G]	<i>Xgwm261</i>	Xu et al. (2001)
2DS	Biscay	<i>Xgwm484</i>	Ning 894037/ <b>Alondra</b> <sup>¶</sup> [N/A]	<i>Xgwm261</i>	Handa et al. (2008)
			Wuhan-1/ <b>Nyu Bai</b> [W/Ny]	<i>Xwmc25</i>	Shen et al. (2003a)
3AS	Travix	<i>Xgwm2</i>	<b>Wangshuibai</b> /Alondra-S <sup>¶</sup> [W/A]	<i>Xgwm261</i>	Somers et al. (2003)
			<b>Wangshuibai</b> /Alondra-S <sup>¶</sup> [W/A]	<i>Xgwm484</i>	Jia et al. (2005)
3B	Apache	<i>XP7455-203.AR</i>	<b>Ning7840</b> /OH542 [N/O]	<i>Xgwm2</i>	Jia et al. (2005)
			Langdon 3A Substitutionslinien ( <i>T. dicoccoides</i> ) [LDIC]	<i>Xgwm2</i>	Gupta et al. (2000)
3B	Apache	<i>XP7455-203.AR</i>	<b>Huapei 57-2</b> /Patterson [H/P]	<i>Xgwm5</i>	Otto et al. (2002)
			<b>Wangshuibai</b> /Alondra-S <sup>¶</sup> [W/A]	<i>Xgwm369</i>	Bourdoncle und Ohm (2003)
3B	Apache	<i>XP7455-203.AR</i>	<b>Spark</b> /Rialto <sup>¶</sup> [S/R]	<i>Xbarc19</i>	Jia et al. (2005)
			Sumai 3 abgeleitet [Sab]	<i>Xgwm274</i>	Srinivasachary et al. (2008)
3B	Apache	<i>XP7455-203.AR</i>	<b>Renan</b> /Récital [R/R]	<i>Xgwm383</i>	Del Blanco et al. (2003)
			Wuhan-1/ <b>Nyu Bai</b> <sup>§</sup> [W/Ny]	<i>Xgwm566</i>	Gervais et al. (2003)
3B	Apache	<i>XP7455-203.AR</i>	<b>Arina</b> /Forno [A/F]	<i>Xcfa2134</i>	Somers et al. (2003)
			<b>Wangshuibai</b> /Wheaton [W/W]	<i>Xbarc344</i>	Paillard et al. (2004)
3B	Apache	<i>XP7455-203.AR</i>	<b>DH181</b> /AC Foremost [D/F]	<i>Xwmc612</i>	Paillard et al. (2004)
			<b>Ernie</b> /MO 94-317 [E/M]	<i>Xgwm285</i>	Zhou et al. (2004)
3D	Biscay	<i>Xgwm52</i>	<b>Sumai 3</b> /Stoa [S3/S]	<i>Xgwm77</i>	Yang et al. (2005)
			Fundulea 201R/ <b>Patterson</b> [F/P]	<i>Xgwm341</i>	Liu et al. (2007)
4AL	Pirat	<i>XP7553-254.AR</i>	<b>Arina</b> /Forno [A/F]	<i>Xgwm160</i>	Zhang und Mergoum (2007)
4DS	Apache, History, Romanus, Solitär	<i>Rht-D1</i>	Maris Huntsman nah-isogene <i>Rht-D1</i> -Linien <sup>¶</sup> [MH]	<i>Rht-D1</i>	Shen et al. (2003b)
			<b>Arina</b> /Riband <sup>¶</sup> [A/R]	<i>Rht-D1</i>	Paillard et al. (2004)
					Hilton et al. (1999)
					Draeger et al. (2007)

Chromosom <sup>*</sup>	Vorliegende Studie		Vergleichsstudie		
	QTL-Donor	Nächster Marker	Population bzw. Sorten <sup>†</sup>	Flankierender Marker	Referenz
4DL	Apache, Solitär	<i>Xgwm265, XP6852-710.AS</i>	<b>Spark/Rialto</b> <sup>¶</sup> [S/R]	<i>Rht-D1</i>	Srinivasachary et al. (2008)
			<b>Spark/Rialto</b> <sup>¶</sup> [S/R]	<i>Xgwm265</i>	Srinivasachary et al. (2008)
5AS	Travix	<i>Xgwm154</i>	<b>(Sagvari/Nobeokabozu//Mini Mann/Sumai 3)</b> //Apollo [S/Ap]	<i>Xgwm205</i>	El-Badawy (2001)
5AL	Apache, Solitär	<i>Xwmc410</i>	<b>DH181/AC Foremost</b> [D/F]	<i>Xgwm293</i>	Yang et al. (2005)
			Arina/ <b>Riband</b> <sup>¶</sup> [A/R]	<i>XS18M24.330</i>	Draeger et al. (2007)
			<b>Spark/Rialto</b> <sup>¶</sup> [S/R]	<i>Xgwm443</i>	Srinivasachary et al. (2008)
			<b>Arina/Forno</b> [A/F]	<i>Xgwm291</i>	Paillard et al. (2004)
5AL	Pirat	<i>Xgwm410</i>	W14/ <b>Pioneer 2684</b> [W/P]	<i>Xgwm410</i>	Chen et al. (2000)
5DS	Solitär	<i>XP6852-703.HS</i>	<b>Arina/Forno</b> [A/F]	<i>Xgwm291</i>	Paillard et al. (2004)
			Wangshuibai/ <b>Alondra-S</b> <sup>¶</sup> [W/A]	<i>Xgwm358</i>	Jia et al. (2005)
6A	Apache	<i>XP7647-189</i>	<b>ND2603/Butte 86</b> [N/B]	<i>XksuH4</i>	Anderson et al. (2001)
6AL	Solitär	<i>XP7452-182.RS</i>	<b>Dream/Lynx</b> <sup>¶</sup> [D/L]	<i>XP66M55-242</i>	Schmolke et al. (2005), Häberle et al. (2007)
			<b>Spark/Rialto</b> <sup>¶</sup> [S/R]	<i>XwPt-8833</i>	Srinivasachary et al. (2008)
6BL	Solitär	<i>XP6652-169.AHRS</i>	Arina/ <b>Forno</b> [A/F]	<i>Xpsr966b</i>	Paillard et al. (2004)
6BL	Apache	<i>XP6347-204</i>	<b>Arina/Riband</b> <sup>¶</sup> [A/R]	<i>Xpsp3131</i>	Draeger et al. (2007)
7A	Romanus	<i>XP6655-351</i>	<b>Arina/Riband</b> <sup>¶</sup> [A/R]	<i>Xgwm219</i>	Draeger et al. (2007)
			<b>Wangshuibai/Wheaton</b> [W/W]	<i>Xgwm1083</i>	Zhou et al. (2004)
7BS	Rubens	<i>Xgwm43</i>	Langdon 7A Substitutionslinien ( <i>T. dicoccoides</i> ) [LDIC]	<i>Xbarc121</i>	Kumar et al. (2007)
			<b>Spark/Rialto</b> <sup>¶</sup> [S/R]	<i>Xpsp3050.2</i>	Srinivasachary et al. (2008)
			<b>Ning 7840/Freedom</b> [N/F]	<i>Xgwm46</i>	Gupta et al. (2000)
			<b>Wangshuibai/Alondra-S</b> <sup>¶</sup> [W/A]	<i>Xgwm297</i>	Jia et al. (2005)
7BL	Romanus	<i>XP7061-206</i>	<b>Cansas/Ritmo</b> <sup>¶</sup> [C/R]	<i>Xgwm46</i>	Klahr et al. (2007)
			Wangshuibai/ <b>Alondra-S</b> <sup>¶</sup> [W/A]	<i>Xgwm611</i>	Jia et al. (2005)

Chromosom <sup>*</sup>	Vorliegende Studie		Vergleichsstudie		
	QTL-Donor	Nächster Marker	Population bzw. Sorten <sup>†</sup>	Flankierender Marker	Referenz
			DH181/AC Foremost [D/F]	<i>Xwmc526</i>	Yang et al. (2005)
			Arina/ <b>Riband</b> <sup>¶</sup> [A/R]	<i>Xwmc276</i>	Draeger et al. (2007)
<b>7DL</b>	Travix	<i>Xbarc172</i>	Arina/ <b>Riband</b> <sup>¶</sup> [A/R]	<i>Xpsp3123</i>	Draeger et al. (2007)

<sup>\*</sup> QTL-Regionen, die in mindestens zwei *Rht-D1*-spaltenden Populationen gefunden werden, sind **hervorgehoben**.

<sup>†</sup> Der resistere Kreuzungselter ist zuerst genannt. Der Donor des Resistenzallels ist **hervorgehoben**. Die Zahl in Klammern gibt Kreuzreferenz zu Abbildung 3.

<sup>‡</sup> Träger der 1BL.1RS-Translokation.

<sup>§</sup> Publiziert als Wuhan-1/Maringa, wurde aber in Wuhan-1/Nyu Bai korrigiert (McCartney et al. 2007).

<sup>¶</sup> Population spaltet bezüglich *Rht-D1*.

Der Haupt-QTL der Population Romanus/Pirat auf Chromosom 1BL hatte den Scheitelpunkt der LOD-Kurve bei dem AFLP-Marker *XP6451-190.AHR*, das Resistenzallel stammte dabei vom anfälligen Elter Pirat. Interessanterweise wurden bei diesem Marker auch in den Populationen History/Rubens und Apache/Biscay QTL für den Fusariumbefall gefunden, allerdings mit kleineren Effekten. In den Populationen Apache/Biscay und Romanus/Pirat überlappten diese QTL mit QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens, in den Populationen Apache/Biscay und History/Rubens mit QTL für Pflanzenlänge. Für einen Haupt-QTL einer Cansas/Ritmo-Population, dessen Position zunächst auf Chromosom 5B vermutet wurde (Klahr et al. 2007), konnte ebenfalls gezeigt werden, dass er mit den QTL aus den hier untersuchten Populationen überlappt (Häberle, persönliche Mitteilung). Dies bekräftigt die Vermutung, dass es sich bei diesem QTL um einen gemeinsamen Genort der vier verschiedenen Populationen handelt, der häufiger im Zuchtmaterial vorhanden ist und in verschiedenen genetischen Hintergründen wirksam ist. Hinzu kommt noch, dass das amplifizierte Fragment *P6451-190.AHR* bei allen vier Populationen gleichgerichtet in *trans*-Stellung mit dem positiven QTL-Allel vorliegt. Die Population Solitär/Travix war für diesen Genombereich monomorph, so dass für diese Population keine Aussage zu diesem QTL getroffen werden konnte. Nach den Erkenntnissen von 10 Weizensorten, die für die Populationen geprüft wurden, scheint das AFLP-Fragment *P6451-190.AHR* diagnostisch zu sein.

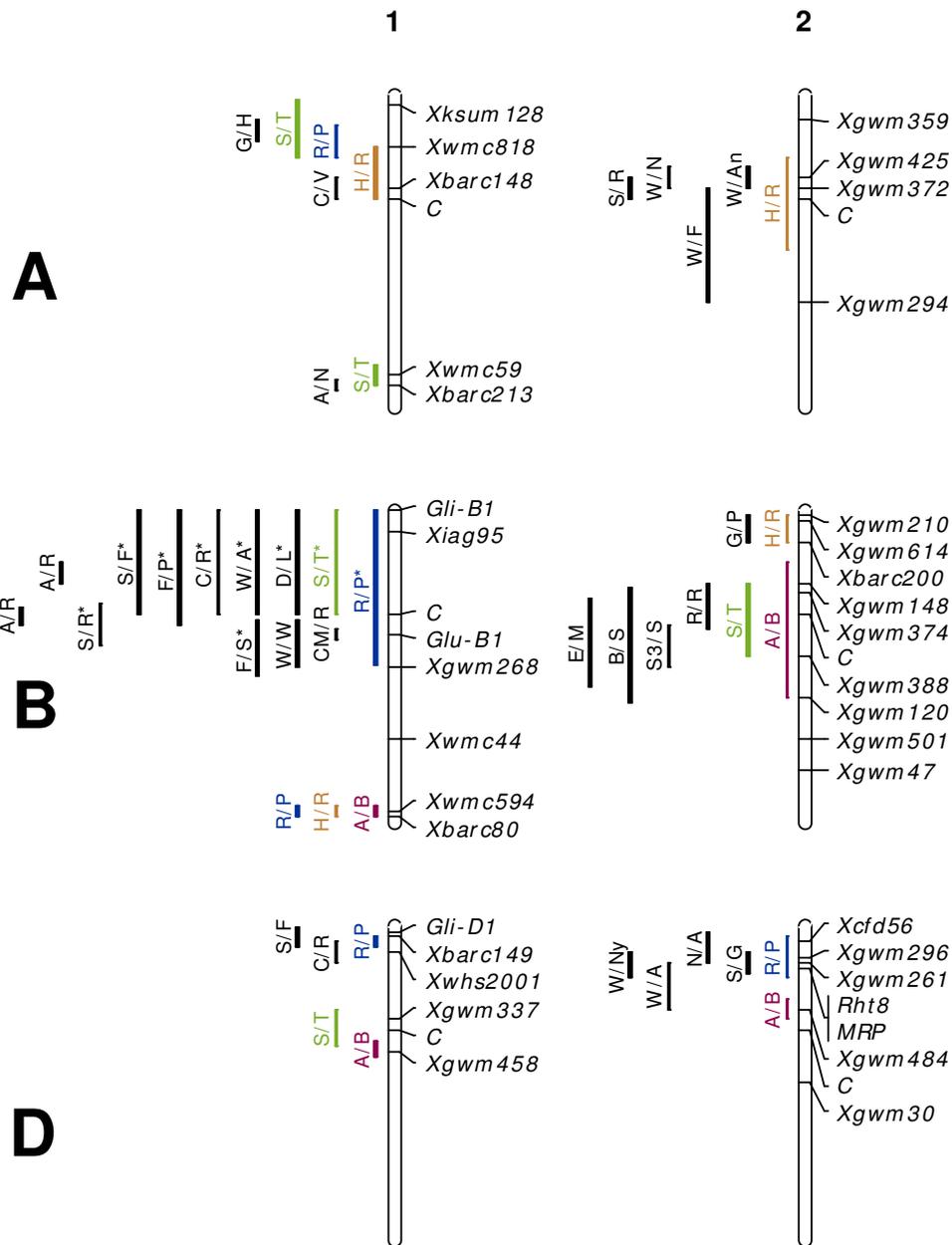
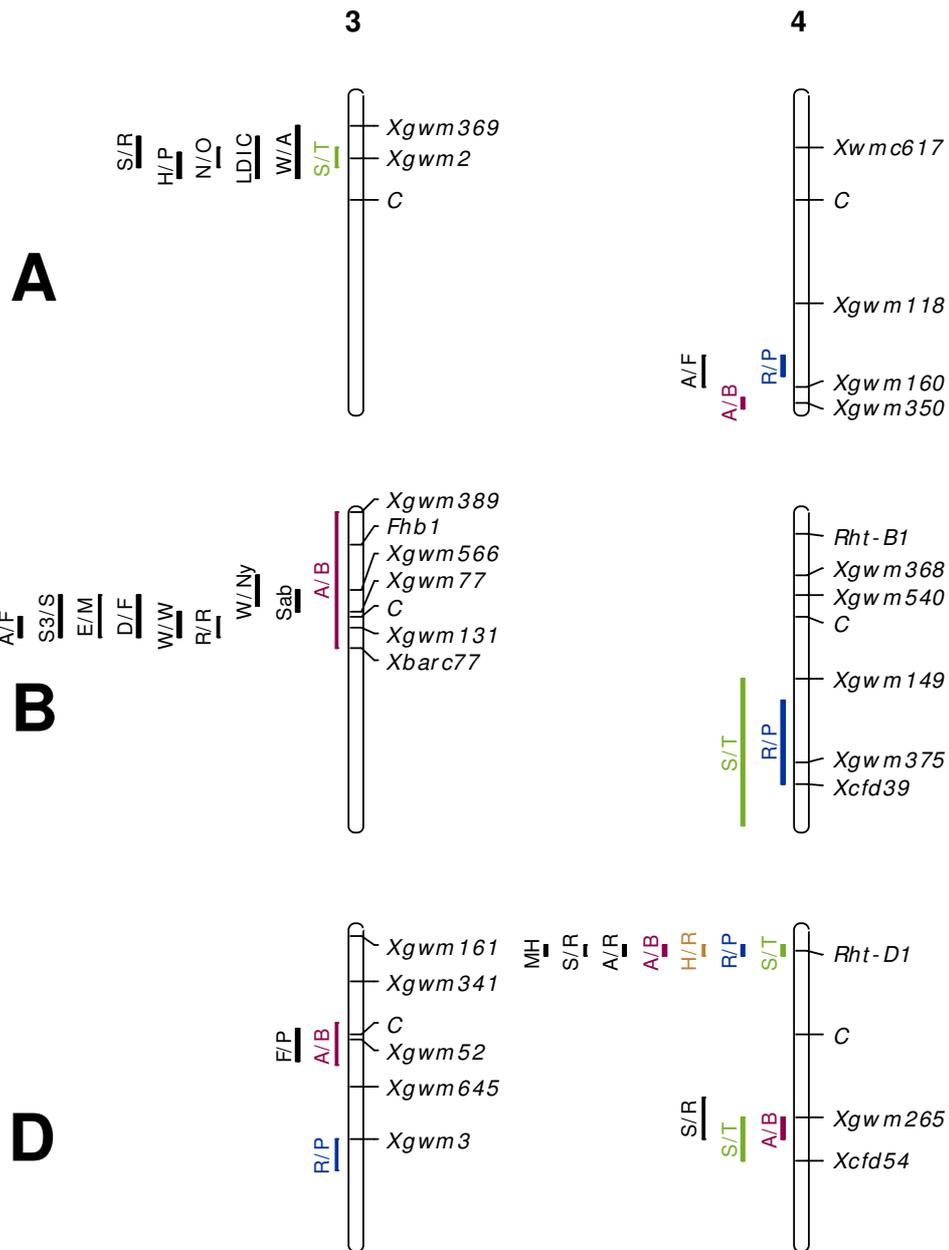
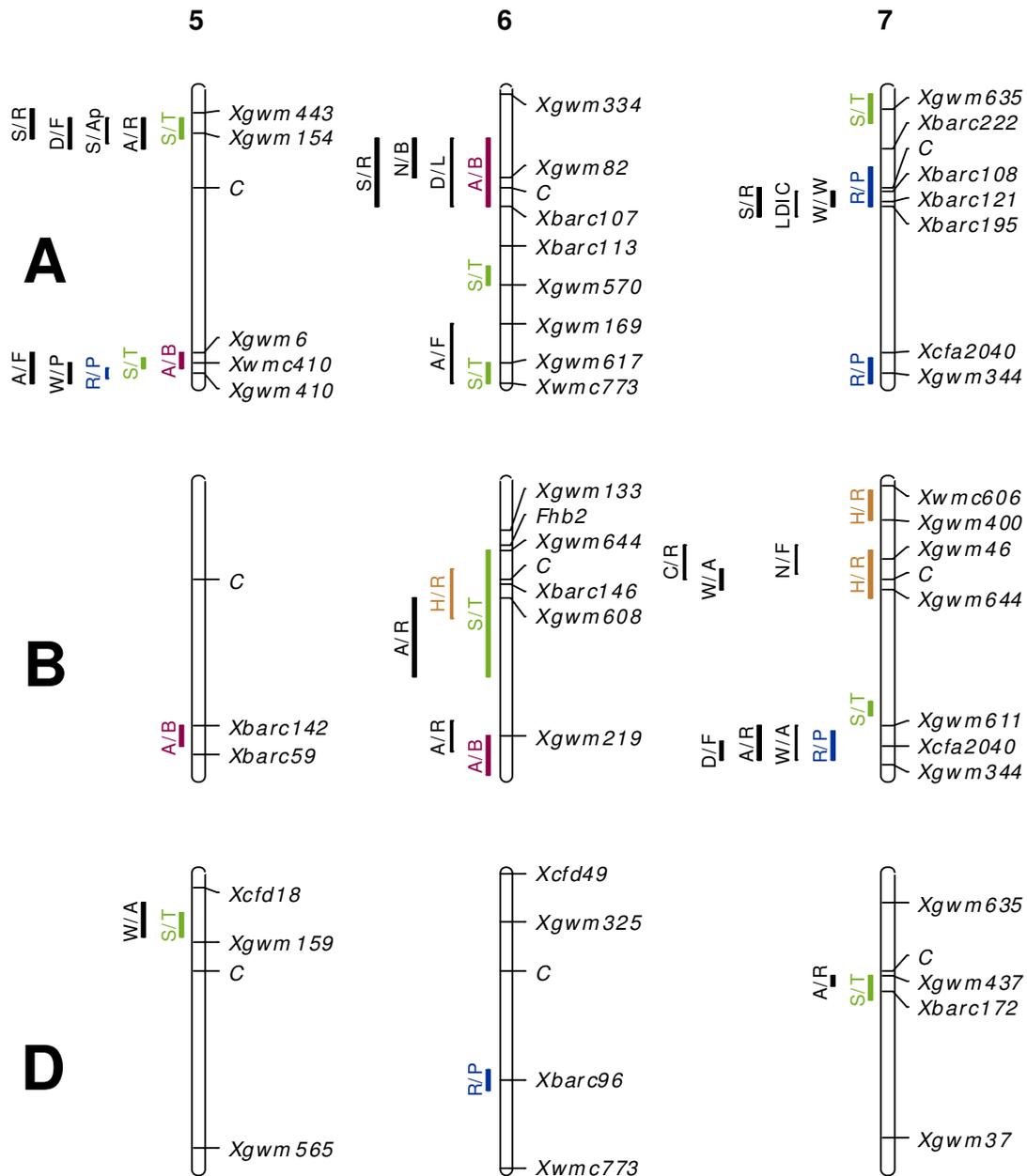


Abbildung 3: Chromosomale Lokalisierung der identifizierten QTL für Fusariumbefall der vier Kartierungspopulationen Apache/Biscay [A/B], History/Rubens [H/R], Romanus/Pirat [R/P] und Solitär/Travix [S/T]. QTL aus anderen Studien, die in gleiche Genomregionen kartieren, sind identifiziert durch die Abkürzungen der Kreuzungseltern wie in Tabelle 4 angegeben. C: Centromer. \*: Population spaltet auf die 1BL.1RS Weizen–Roggen-Translokation. Die Länge der Balken gibt für QTL aus dieser Studie das 99,9 %-Konfidenzintervall an, für alle anderen QTL die wahrscheinlichste Position. Kürzere Balken weisen auf eine genauere Lokalisierung hin.



Fortsetzung Abbildung 3.



Fortsetzung Abbildung 3.

In der Population Solitär/Travix wurde ein Haupt-QTL im Bereich der Weizen-Roggen-Translokation 1BL.1RS detektiert, der vermutlich auf dem Roggen-Chromatin liegt. Dies ist konsistent mit sechs anderen QTL-Studien, die ebenfalls von positiven Effekten von 1BL.1RS auf die Fusariumresistenz berichten (Tabelle 4). Für die Population Romanus/Pirat, die ebenfalls bezüglich dieser Translokation spaltete, wurde allerdings kein positiver Effekt der Translokation auf den Fusariumbefall festgestellt. Dagegen wurde ein Resistenz-QTL auf dem Weizen-Chromatin approximal zur Translokation lokalisiert. Ein Zusammenhang mit der Translokation kann ausgeschlossen werden, da dieser QTL von Romanus vererbt wird, der nicht die Translokation trägt. Jedoch lassen sich auch für diesen Locus Übereinstimmungen mit QTL

aus Populationen finden, die bezüglich 1BL.1RS nicht spalten. Kolokalisierung von Fusariumresistenz-QTL war für sehr viele Populationen im Centromersbereich von Chromosom 2B und 3B zu beobachten, sowie auf Chromosom 4DS beim Kurzstrohgen *Rht-D1*. Interessanterweise konnte eine große Anzahl der identifizierten Resistenz-QTL auf Positionen lokalisiert werden, die in diesem Projekt oder in Publikationen schon beschrieben worden sind (Abbildung 4).

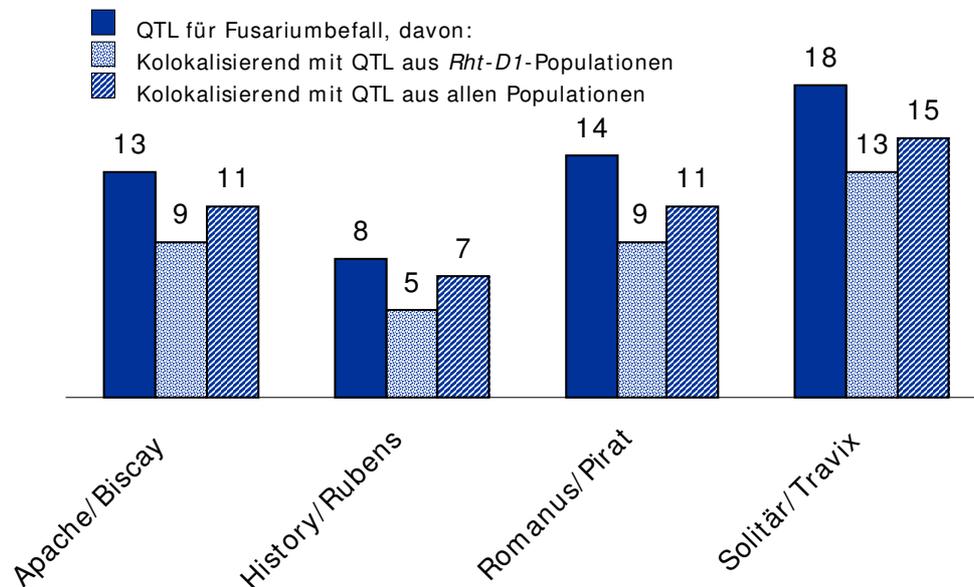


Abbildung 4: Vergleich der Anzahl an QTL, die in den vier untersuchten Populationen gefunden wurden. Die jeweils erste Säule repräsentiert die Gesamtzahl an QTL für Fusariumbefall für jede Population. Die zweiten Säulen repräsentieren den Anteil dieser QTL, die mit QTL aus *Rht-D1*-spaltenden Populationen kolokalisieren. Die dritten Säulen spiegeln den Anteil der QTL der jeweiligen Population, der mit QTL aus allen Vergleichspopulationen überlappt.

Je Kartierungspopulation gab es nur einen bis drei QTL, die weder mit QTL aus diesem Projekt, noch mit QTL aus publizierten Studien eine Kolokalisierung zeigten. Die insgesamt sehr hohe Übereinstimmung legt den Schluss nahe, dass in den europäischen Populationen häufig die selben Loci für die Fusariumresistenz verantwortlich sind.

### 3.2 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die Ergebnisse des Projekts haben gezeigt, dass die Resistenz im europäischen Winterweizen in erster Linie durch den *Rht-D1*-Genort und viele Resistenzloci mit jeweils mittleren bis kleinen Effekten vermittelt wird. Daher erscheint es nicht sinnvoll, die QTL für Fusariumresistenz dieser Sorten mit den derzeit verfügbaren Techniken und unter den aktuellen Kosten durch markergestützte Selektion in Züchtungsprogrammen zu verwenden. Der schon in mehreren Studien beobachtete Zusammenhang zwischen geringer Pflanzenlänge und erhöhter Fusarium-Anfälligkeit konnte durch das vorliegende Projekt auf den großen Einfluss des *Rht-D1*-Genes zurückgeführt werden. In allen untersuchten Kartierungspopulationen war in dieser Genomre-

gion der Resistenzlocus mit dem größten Effekt auf den Fusariumbefall lokalisiert. Diese Beobachtung hat enorme Bedeutung für die Züchtung fusariumresistenter Weizens: Wenn das *Rht-D1b*-Kurzstrohhallel – aufgrund positiver Ertragseigenschaften – in Züchtungsprogrammen bevorzugt verwendet wird, muss die Fusariumresistenz *Rht-D1b*-tragender Nachkommenschaften intensiv geprüft werden. Trotz der im Allgemeinen erhöhten Fusariumanfälligkeit *Rht-D1b*-tragender Genotypen konnten in den Projekt-Populationen dennoch einzelne Linien mit gutem Resistenzniveau selektiert werden. Die Sorte Apache hat sich in diesem Projekt aufgrund ihrer Fusarium-Resistenz und der Kurzstrohigkeit, die nicht durch *Rht-D1b* vermittelt wird, als interessanter Kreuzungspartner erwiesen. Allgemein stellt sich daher nun die Frage, ob durch den Einsatz von alternativen Kurzstrohgenen in Züchtungsprogrammen ein negativer Einfluss auf die Fusariumresistenz verhindert werden kann.

Die Ergebnisse des Projektes zeigen, dass für ein gutes Resistenzniveau aus europäischer Abstammung mehrere QTL mit kleinen Effekten kombiniert sein müssen. Eine wirtschaftliche Nutzung dieser Resistenzloci durch markergestützte Selektion mit den derzeit verfügbaren Techniken erscheint jedoch als wenig effizient – verglichen zur phänotypischen Selektion. Bei dem derzeitigen Tempo des technischen Fortschritts erscheint es jedoch durchaus realistisch, dass in den nächsten Jahren die Genotypisierung des Gesamtgenoms bei geringen Kosten auch für Kulturpflanzen bei geringen Kosten möglich wird. So werden komplexe Selektionsstrategien wirtschaftlich sinnvoll, die die komplette genetische Information nutzen und auch kleinere QTL berücksichtigen.

## 4 Zusammenfassung

Durch die QTL-Analyse konnten viele Genorte mit Bedeutung für die Resistenz gegen Ährenfusarium identifiziert werden. Der größte Effekt auf den Fusariumbefall ging in allen Populationen von der Genomregion aus, in der das Kurzstrohgen *Rht-D1* lokalisiert ist. Linien ohne Kurzstroh-Allel waren dabei im allgemeinen resistenter als halbverzweigte Genotypen. Trotz dieser negativen Eigenschaft der *Rht-D1b*-Genomregion muss dem Weizenzüchter nicht generell von der Verwendung dieses Gens in Zuchtprogrammen abgeraten werden: In den Populationen konnten einige kurzstrohige *Rht-D1b*-Träger identifiziert werden, die eine zufriedenstellende Fusariumresistenz zeigten. Des Weiteren wurden in den Populationen zahlreiche QTL mit mittleren und kleineren Effekten auf den Fusariumbefall detektiert. Sie zeigten größtenteils signifikante Umweltinteraktionen und überlappten teilweise mit Genorten mit Wirkung auf die Pflanzenlänge und den Zeitpunkt des Ährenschiebens. Wegen der guten Abdeckung des Genoms der vier Kartierungspopulationen mit molekularen Markern kann davon ausgegangen werden, dass weitgehend alle Resistenzloci mit größeren Effekten identifiziert wurden. Die Bedeutung der QTL - obwohl sie relativ kleine Effekte besitzen - wurde beim Vergleich der Linien deutlich, die unterschiedlich viele positive QTL-Allele akkumulieren: Während die einzelnen QTL teilweise nur sehr geringe Wirkung auf den Fusariumbefall zeigten, war dennoch eine stetige Verringerung des Fusariumbefalls mit zunehmender Anzahl an positiven QTL-Allelen zu beobachten. Es kann daher gefolgert werden, dass die Fusariumresistenz in europäischen Winterweizensorten auf der Abwesenheit des Verzweigungsallels *Rht-D1b* beruht und oligo- bis polygen durch viele Resistenzloci mit kleinen additiven Effekten vererbt wird. Die Qualität der durchgeführten QTL-Kartierung wird durch die Übereinstimmung der Genorte in mehreren Populationen unterstrichen. Diese Resistenzgene sind demnach im europäischen Zuchtmaterial weit verbreitet und Ursache für die kontinuierliche Resistenzausprägung. Wie gezeigt, enthalten auch moderat anfällige Linien und Sorten positive Resistenzgene, die in Kreuzungsnachkommenschaften zu Transgression mit verbesserter Resistenz in Nachkommen führen können. Die kartierten Minor-QTL können im Gegensatz zu einigen Haupt-QTL asiatischer Herkunft mit den derzeit zur Verfügung stehenden Genotypisierungsmethoden nicht wirtschaftlich sinnvoll in der markergestützten Züchtung eingesetzt werden. Erst der erwartete technische Fortschritt bei der Genotypisierung macht sie interessant für die Integration in markergestützte Selektionsstrategien.

## **5 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Ziele mit Hinweisen auf weiterführende Fragestellungen**

Diese Arbeit fügt zu den bisher publizierten Arbeiten zur Genetik der Fusariumresistenz im europäischen Zuchtmaterial eine Vielzahl wesentlicher Details hinzu. Dadurch wird erst die Metaanalyse von Fusariumresistenzgenorten im europäischen Zuchtmaterial in dieser Fülle ermöglicht. Aus den Ergebnissen ist nun ein klares Bild von der Vererbung der Fusariumresistenz im europäischen Material abzuleiten.

Je nach Population wurden zwischen 8 und 18 QTL für die Fusariumresistenz in den Populationen detektiert. Der Beitrag der Genomregion des *Rht-D1*-Gens konnte ebenfalls bei allen Populationen abgeschätzt werden. Zur geplanten Verifikation von QTL der Population History/Rubens wurden Linien der Populationen History/Excellenz\*2 untersucht. Damit konnte der Effekt des QTL der *Rht-D1*-Genomregion verifiziert werden. Die Kartierung von zahlreichen Mikrosatelliten-Markern ermöglichte eine sehr gute Vergleichbarkeit mit anderen Studien und zeigte eine hohe Übereinstimmung von QTL-Regionen. Gerade die Redundanz der QTL in den jetzt präsentierten QTL-Karten zeigt die hohe Güte der Analyse. Entgegen der Erwartung konnten neben dem *Rht-D1*-Locus nur QTL mit kleineren Resistenzeffekten in diesem europäischen Material detektiert werden. Somit ist letztendlich die meist oligo- bis polygenen Vererbung der Fusariumresistenz im europäischen Material nachgewiesen.

Das Augenmerk zukünftiger Forschung bezüglich der Fusariumresistenz im europäischen Weizen sollte sich auf Resistenzloci richten, die in mehreren Populationen detektiert wurden und somit reproduzierbare Effekte in unterschiedlichen genetischen Hintergründen zeigen. High-Throughput-Techniken zur Gesamtgenomanalyse wären für die detektierten QTL entscheidend, um sie einer wirtschaftlichen Verwertung zuzuführen. Mit der derzeitigen Technologie ist die molekulare Genotypisierung in der praktischen Züchtung zu aufwändig, um einzelne kleinere QTL zu selektieren. Aber im Rahmen einer markergestützten Index-Selektion könnten sich Verwertungsmöglichkeiten bieten. Insbesondere sollte für den QTL auf Chromosom 1BL, der in vier unterschiedlichen Populationen teils relativ große Effekte zeigte und in einem Sortiment von 10 Sorten bereits als diagnostisch identifiziert wurde, Marker entwickelt werden, die für moderne Analyse-Plattformen tauglich sind. Daneben ist es von größter Wichtigkeit, den Zusammenhang zwischen Kurzstroh-Genen und der Fusariumanfälligkeit weiter zu erforschen: Das *Rht-D1b*-Allel verändert scheinbar den Phytohormon-Stoffwechsel sehr grundlegend und könnte pleiotrope Wirkung auf den Fusariumbefall haben. Neben der weiteren Erforschung der Wirkung des *Rht-D1*-Gens, sollte es ein Ziel zukünftiger Forschung sein, den Einfluss von alternativen *Rht*-Genen auf den Fusariumbefall zu untersuchen. Desweiteren sollte das Ausmaß

des "linkage drags" d.h. der gekoppelten negativen Eigenschaften der asiatischen Resistenzdonoren näher untersucht werden. Bis auf den intensiv untersuchten QTL auf Chr. 3Bs ist nur wenig über die tatsächlich negativen Auswirkungen der Verwendung asiatischer Donoren bekannt. Markergestützte Rückkreuzung und Feinkartierung verbunden mit intensiven Feldprüfungen könnten darüber Erkenntnisse liefern, die für die Bewertung der möglichen Zuchtstrategien sehr wichtig sind.

## 6 Literaturverzeichnis

- Anderson JA, Stack RW, Liu S, Waldron BL, Fjeld AD, Coyne C, Moreno-Sevilla B, Fetch JM, Song QJ, Cregan PB, Frohberg RC (2001) DNA markers for Fusarium head blight resistance QTLs in two wheat populations. *Theor Appl Genet* 102:1164–1168
- Bai G, Shaner G (2004) Management and resistance in wheat and barley to Fusarium head blight. *Annu Rev Phytopathol* 42:135–161
- Bourdoncle W, Ohm H (2003) Quantitative trait loci for resistance to Fusarium head blight in recombinant inbred wheat lines from the cross Huapei 57-2 / Patterson. *Euphytica* 131:131–136
- Buerstmayr H, Lemmens M, Hartl L, Doldi L, Steiner B, Stierschneider M, Ruckenbauer P (2002) Molecular mapping of QTLs for Fusarium head blight resistance in spring wheat. I. Resistance to fungal spread (Type II resistance). *Theor Appl Genet* 104:84–91
- Chen J, Griffey CA, Maroof MAS, Zhao W, Xie W, Pridgen T, Biyashev RM (2000) Genetic Analysis of resistance to Fusarium head blight in common wheat. In: Ward RW, Canty SM, Lewis J, Siler L (Hrsg) *Proceedings of the National Fusarium Head Blight Forum*, Erlanger, KY, USA. Michigan State University, East Lansing, MI, USA:19–24
- Churchill GA, Doerge RW (1994) Empirical Threshold Values for Quantitative Trait Mapping. *Genetics* 138:963–971
- Del Blanco IA, Frohberg RC, Stack RW, Berzonsky WA, Kianian SF (2003) Detection of QTL linked to Fusarium head blight resistance in Sumai 3-derived North Dakota bread wheat lines. *Theor Appl Genet* 106:1027–1031
- Draeger R, Gosman N, Steed A, Chandler E, Thomsett M, Srinivasachary, Schondelmaier J, Buerstmayr H, Lemmens M, Schmolke M, Mesterhazy A, Nicholson P (2007) Identification of QTLs for resistance to Fusarium head blight, DON accumulation and associated traits in the winter wheat variety Arina. *Theor Appl Genet* 115:617–625
- El-Badawy ME-ZM (2001) *Localization and Characterization of Quantitative Trait Loci for Fusarium Head Blight Resistance in Wheat by Means of Molecular Markers*. Dissertation. Technische Universität München, Freising-Weihenstephan.
- Ellis MH, Spielmeier W, Gale KR, Rebetzke GJ, Richards RA (2002) "Perfect" markers for the Rht-B1b and Rht-D1b dwarfing genes in wheat. *Theor Appl Genet* 105, 1038–1042
- Gervais L, Dedryver F, Morlais JY, Bodusseau V, Negre S, Bilous M, Groos C, Trottet M (2003) Mapping of quantitative trait loci for field resistance to Fusarium head blight in an European winter wheat. *Theor Appl Genet* 106:961–970
- Gilsinger J, Kong L, Shen X, Ohm H (2005) DNA markers associated with low Fusarium head blight incidence and narrow flower opening in wheat. *Theor Appl Genet* 110:1218–1225
- GrainGenes 2.0 (2008) GrainGenes: A Database for Triticeae and Avena. <http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml>. Zitiert am 25.03.2008.

- Gupta AE, Lipps PE, Campbell KG (2000) Finding quantitative trait locus associated with Fusarium head blight of wheat using simple sequence repeat markers. In: Ward RW, Canty SM, Lewis J, Siler L (Hrsg) Proceedings of the National Fusarium Head Blight Forum, Erlanger, KY, USA. Michigan State University, East Lansing, USA:28–32
- Häberle J, Schmolke M, Schweizer G, Korzun V, Ebmeyer E, Zimmermann G, Hartl L (2007) Effects of Two Major Fusarium Head Blight Resistance QTL Verified in a Winter Wheat Backcross Population. *Crop Sci* 47:1823–1831
- Häberle J (2008) Kartierung und Validierung von Resistenz-QTL gegen Ährenfusarium in Winterweizen. Dissertation. Technische Universität München. Schriftenreihe der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising-Weihenstephan.
- Handa H, Namiki N, Xu D, Ban T (2008) Dissecting of the FHB resistance QTL on the short arm of wheat chromosome 2D using a comparative genomic approach: from QTL to candidate gene. *Mol Breed*. doi: 10.1007/s11032-008-9157-7
- Hartl L, Mohler V, Zeller FJ, Hsam SLK, Schweizer G (1999) Identification of AFLP markers closely linked to the powdery mildew resistance genes Pm1c and Pm4a in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome* 42:322–329
- Hilton AJ, Jenkinson P, Hollins TW, Parry DW (1999) Relationship between cultivar height and severity of Fusarium ear blight in wheat. *Plant Pathol* 48:202–208
- Ittu M, Saulescu NN, Hagima I, Ittu G, Mustatea P (2000) Association of Fusarium Head Blight Resistance with Gliadin Loci in a Winter Wheat Cross. *Crop Sci* 40:62–67
- Jia G, Chen P, Qin G, Bai G, Wang X, Wang S, Zhou B, Zhang S, Liu D (2005) QTLs for Fusarium head blight response in a wheat DH population of Wangshuibai/Alondra's'. *Euphytica* 146:183–191
- Jiang G, Shi J, Ward R (2007a) QTL analysis of resistance to Fusarium head blight in the novel wheat germplasm CJ 9306. I. Resistance to fungal spread. *Theor Appl Genet* 116:3–13
- Jiang G, Dong Y, Shi J, Ward R (2007b) QTL analysis of resistance to Fusarium head blight in the novel wheat germplasm CJ 9306. II. Resistance to deoxynivalenol accumulation and grain yield loss. *Theor Appl Genet* 115:1043–1052
- Kao CH, Zeng ZB, Teasdale RD (1999) Multiple interval mapping for quantitative trait loci. *Genetics* 152:1203–1216
- Klahr A, Zimmermann G, Wenzel G, Mohler V (2007) Effects of environment, disease progress, plant height and heading date on the detection of QTLs for resistance to Fusarium head blight in an European winter wheat cross. *Euphytica* 154:17–28
- Korol A, Ronin Y, Minkov D, Britvin E, Mester D, Korostishevsky M, Malkin I, Frenkel Z, Orion O, Brailovsky A (2005) MultiQTL version 2.5. Institute of Evolution, Haifa University. Haifa, Israel. <http://www.multiqtl.com>. Zitiert am 25.03.2008.
- Kumar S, Stack RW, Friesen TL, Faris JD (2007) Identification of a Novel Fusarium Head Blight Resistance Quantitative Trait Locus on Chromosome 7A in Tetraploid Wheat. *Phytopathology* 97:592–597
- Lebreton CM, Visscher PM (1998) Empirical Nonparametric Bootstrap Strategies in Quantitative Trait Loci Mapping: Conditioning on the Genetic Model. *Genetics* 148:525–536

- Li C, Zhu H, Zhang C, Lin F, Xue S, Cao Y, Zhang Z, Zhang L, Ma Z (2007) Mapping QTLs associated with Fusarium-damaged kernels in the Nanda 2419 × Wangshuibai population. *Euphytica*. doi: 10.1007/s10681-007-9626-9
- Liu S, Abate Z, Lu H, Musket T, Davis G, McKendry A (2007) QTL associated with Fusarium head blight resistance in the soft red winter wheat Ernie. *Theor Appl Genet* 115:417–427
- Ma HX, Bai GH, Gill BS, Hart LP (2006) Deletion of a chromosome arm altered wheat resistance to Fusarium head blight and deoxynivalenol accumulation in Chinese spring. *Plant Dis* 90:1545–1549
- Mardi M, Pazouki L, Delavar H, Kazemi MB, Ghareyazie B, Steiner B, Nolz R, Lemmens M, Buerstmayr H (2006) QTL analysis of resistance to Fusarium head blight in wheat using a 'Frontana'-derived population. *Plant Breed* 125:313–317
- McCartney CA, Somers DJ, Fedak G, DePauw RM, Thomas J, Fox SL, Humphreys DG, Lukow O, Savard ME, McCallum BD, Gilbert J, Cao W (2007) The evaluation of FHB resistance QTLs introgressed into elite Canadian spring wheat germplasm. *Mol Breed* 20:209–221
- Mesterházy Á (1995) Types and components of resistance to Fusarium head blight of wheat. *Plant Breed* 114:377–386
- Murray MG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucl Acids Res* 8:4321–4326
- Najaphy A, Toorchi M, Mohammadi SA, Chalmers KJ, Moghaddam M, Torabi M, Aharizad S (2006) Identification of Fusarium Head Blight Resistance QTLs in a Wheat Population Using SSR Markers. *Biotechnology* 5:222–227
- Otto CD, Kianian SF, Elias EM, Stack RW, Joppa LR (2002) Genetic dissection of a major Fusarium head blight QTL in tetraploid wheat. *Plant Mol Biol* 48:625–632
- Paillard S, Schnurbusch T, Tiwari R, Messmer M, Winzeler M, Keller B, Schachermayr G (2004) QTL analysis of resistance to Fusarium head blight in Swiss winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 109:323–332
- Röder MS, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier M, Leroy P, Ganai MW (1998) A Microsatellite Map of Wheat. *Genetics* 149:2007–2023
- Schmolke M (2004) Molekulargenetische Charakterisierung und Lokalisierung von Resistenzgenloci gegen Ährenfusariosen bei Winterweizen. Dissertation. Technische Universität München, Freising-Weihenstephan.
- Schmolke M, Zimmermann G, Buerstmayr H, Schweizer G, Miedaner T, Korzun V, Ebmeyer E, Hartl L (2005) Molecular mapping of Fusarium head blight resistance in the winter wheat population Dream/Lynx. *Theor Appl Genet* 111:747–756
- Schmolke M, Zimmermann G, Schweizer G, Miedaner T, Korzun V, Ebmeyer E, Hartl L (2008) Molecular mapping of quantitative trait loci for field resistance to Fusarium head blight resistance in an European winter wheat population. *Plant Breed*. akzeptiert.
- Semagn K, Skinnnes H, Bjørnstad Å, Marøy AG, Tarkegne Y (2007) Quantitative Trait Loci Controlling Fusarium Head Blight Resistance and Low Deoxynivalenol Content in Hexaploid Wheat Population from 'Arina' and NK93604. *Crop Sci* 47:294–303

- Shen X, Zhou M, Lu W, Ohm H (2003a) Detection of Fusarium head blight resistance QTL in a wheat population using bulked segregant analysis. *Theor Appl Genet* 106:1041–1047
- Shen X, Ittu M, Ohm HW (2003b) Quantitative Trait Loci Conditioning Resistance to Fusarium Head Blight in Wheat Line F201R. *Crop Sci* 43:850–857
- Somers DJ, Fedak G, Savard M (2003) Molecular mapping of novel genes controlling Fusarium head blight resistance and deoxynivalenol accumulation in spring wheat. *Genome* 46:555–564
- Somers D, Isaac P, Edwards K (2004) A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 109:1105–1114
- Somers DJ, Fedak G, Clarke J, Cao W (2006) Mapping of FHB resistance QTLs in tetraploid wheat. *Genome* 49:1586–1593
- Sourdille P, Singh S, Cadalen T, Brown-Guedira GL, Gay G, Qi L, Gill BS, Dufour P, Murigneux A, Bernard M (2004) Microsatellite-based deletion bin system for the establishment of genetic-physical map relationships in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Funct Integr Genomics* 4:12–25
- Srinivasachary, Gosman N, Steed A, Simmonds J, Leverington-Waite M, Wang Y, Snape J, Nicholson P (2008) Susceptibility to Fusarium head blight is associated with the Rht-D1b semi-dwarfing allele in wheat. *Theor Appl Genet*. doi: 10.1007/s00122-008-0742-2
- Van Ooijen J, Voorrips R (2001) JoinMap® 3.0, Software for the calculation of genetic linkage maps. Plant Research International. Wageningen, Nederlande.
- Xu DH, Juan HF, Nohda M, Ban T (2001) QTLs mapping of type I and type II resistance to FHB in wheat. In: Canty SM, Lewis J, Siler L, Ward RW (Hrsg) *Proceedings of the National Fusarium Head Blight Forum*, Erlanger, KY, USA. Michigan State University, East Lansing, MI, USA:40–42
- Yang Z, Gilbert J, Fedak G, Somers DJ (2005) Genetic characterization of QTL associated with resistance to Fusarium head blight in a doubled-haploid spring wheat population. *Genome* 48:187–196
- Zhang X, Zhou M, Ren L, Bai G, Ma H, Scholten OE, Guo P, Lu W (2004) Molecular characterization of Fusarium head blight resistance from wheat variety Wangshuibai. *Euphytica* 139:59–64
- Zhang G, Mergoum M (2007) Molecular mapping of kernel shattering and its association with Fusarium head blight resistance in a Sumai3 derived population. *Theor Appl Genet* 115:757–766
- Zhou W, Kolb FL, Yu J, Bai G, Boze LK, Domier LL (2004) Molecular characterization of Fusarium head blight resistance in Wangshuibai with simple sequence repeat and amplified fragment length polymorphism markers. *Genome* 47:1137–1143

## **Abstract**

### **Title**

Reduction of mycotoxin content in wheat after infestation with *Fusarium* head blight by breeding methods. Sub-project 2: Marker-assisted methods.

### **Author**

Josef Holzapfel, Lorenz Hartl

### **Introduction**

*Fusarium* head blight (FHB) is one of the most important fungal diseases in wheat. The assessment of FHB resistance and breeding for resistant cultivars is a difficult task, due to the large effects of the environment on disease severity. Therefore, molecular DNA-markers for FHB resistance loci would be beneficial to assist the selection of resistant wheat lines. The aim of the project was to analyse the inheritance of FHB resistance and to identify resistance loci from well adapted high-yielding European winter wheat cultivars. These loci could be incorporated into elite breeding material without strong negative influence on agronomic traits.

### **Methods**

Combined type I and II resistance to FHB of four winter wheat populations (Apache/Biscay, History/Rubens, Romanus/Pirat, Solitär/Travix) was assessed after artificial spray inoculation at five locations in two years as described in sub-project 1. The DNA of the populations was analysed with molecular markers and genetic maps for the whole genome of each population were constructed. Quantitative trait loci (QTL) mapping was performed to identify genome regions with effects on FHB resistance, plant height and ear emergence time. For QTL verification in a different genetic background, a population (History/Excellenz\*2) was analysed for FHB resistance in four locations while DNA was analysed with QTL flanking markers of the population History/Rubens. QTL regions identified in this project were compared with those of published studies via locus-specific microsatellite markers to confirm reproducible genome regions.

### **Results**

QTL mapping showed similarities of FHB resistance inheritance for European winter wheat. The strongest effect of reducing FHB was mediated by the absence of the semi-dwarfing allele *Rht-D1b* on chromosome 4DS in every population. Several further QTL had minor to moderate effects on resistance and depended on environmental conditions and genetic background. The additive effects of FHB QTL became obvious when lines differing in their number of accumulated favourable QTL alleles were compared. Susceptible cultivars also contributed resistance QTL with relatively strong effects, but these effects were masked in those cultivars by the semi-dwarfing allele. A comparison of the location of resistance QTL within the mapping populations and with published studies showed a high accordance of QTL positions.

## **Conclusions**

The results showed that resistance in European winter wheat is primarily mediated by the absence of the semi-dwarfing allele *Rht-D1b*. With the used methods it could not be discriminated whether this is caused by closely linked deleterious genes or by pleiotropy of *Rht-D1b*. Besides, several resistance loci, which were partly independent of plant height or ear emergence time, were identified and caused minor to moderate effects on FHB severity. However, results imply that these loci are not economically useful for marker-assisted breeding with current technology. However, high accordance between the location of resistance QTL in different populations were detected indicating that also minor QTL were accurately identified. In the next years, technical progress in genotyping would assist to make use of moderate and minor QTL in wheat breeding programs.

**Acknowledgements:** The study was financially supported by the Federal Ministry of Food, Agriculture and Consumer Protection, Germany.

### **Kurzfassung:**

Durch Bildung von Mykotoxinen beeinträchtigen Ährenfusariosen neben dem Ertrag vor allem die Produktqualität bei Winterweizen und gehören weltweit zu den bedeutendsten Krankheiten. Innerhalb der deutschen Sorten ist eine erhebliche Variation für die Resistenz vorhanden. Der größte Effekt auf den Fusariumbefall ging in allen Populationen von der Genomregion aus, in der das Kurzstrohgen *Rht-D1* lokalisiert ist. Linien ohne Kurzstroh-Allel waren im allgemeinen resistenter als die Kurzstrohtypen. Trotz dieser negativen Eigenschaft der *Rht-D1b*-Genomregion muss dem Weizenzüchter nicht generell von der Verwendung dieses Gens in Zuchtprogrammen abgeraten werden: In den Populationen konnten einige kurzstrohige *Rht-D1b*-Träger identifiziert werden, die eine zufriedenstellende Fusariumresistenz zeigten. Des Weiteren wurden in den Populationen zahlreiche QTL mit mittleren und kleineren Effekten auf den Fusariumbefall detektiert. Sie zeigten größtenteils signifikante Umweltinteraktionen und überlappten teilweise mit Genorten mit Wirkung auf die Pflanzenlänge und den Zeitpunkt des Ährenschiebens. Aus der QTL-Analyse kann gefolgert werden, dass die Fusariumresistenz in europäischen Winterweizensorten auf der Abwesenheit des Verzweigungsallels *Rht-D1b* beruht und oligo- bis polygen durch viele Resistenzloci mit kleinen bis mittleren additiven Effekten vererbt wird. Die Qualität der durchgeführten QTL-Kartierung wird durch die Übereinstimmung der Genorte in mehreren Populationen unterstrichen. Diese Resistenzgene sind demnach im europäischen Zuchtmaterial weit verbreitet und Ursache für die kontinuierliche Resistenzausprägung. Wie gezeigt, enthalten auch moderat anfällige Linien und Sorten positive Resistenzgene, die in Kreuzungsnachkommenschaften zu Transgression mit verbesserter Resistenz in Nachkommen führen können. Die kartierten QTL mit mittleren Effekten können mit den derzeit zur Verfügung stehenden Genotypisierungsmethoden nicht wirtschaftlich sinnvoll in der markergestützten Züchtung eingesetzt werden. Erst der erwartete technische Fortschritt bei der Genotypisierung macht sie interessant für die Integration in markergestützten Selektionsprogrammen.

## **Darstellung, Wertung sowie mögliche Umsetzung oder Anwendung der Ergebnisse in Bezug auf den bei Einholung des Projektangebotes angegebenen Forschungsbedarf/ Entscheidungshilfebedarf des BMELV**

Aufgrund der Belastung des Weizens mit Mykotoxinen, die durch die Infektion mit Fusariumarten entstehen, gehört Ährenfusarium zu den bedeutendsten Weizenkrankheiten. Schon vor der Einführung der deutschen und darauf folgend der EU-Grenzwerte für das Leittoxin Deoxynivalenol wurde dieser Problematik vor allem in den wärmeren und damit gefährdeteren süddeutschen Ländern größere Aufmerksamkeit geschenkt. Aber auch in Mittel- und Norddeutschland ist die Gefährdung durch Ährenfusarium stets vorhanden, wie es die Ernte 2007 zeigte. Ein nicht unerheblicher Teil der Ernteproben zeigte Toxinwerte über dem Grenzwert. Aufgrund der EU-Grenzwerte dürfen im unverarbeiteten Getreide für Nahrungszwecke nicht mehr als 1,25 mg DON/kg bzw. 0,01 mg ZEA/kg, in Brot, Kleingebäck und Feine Backwaren nicht mehr als 0,5 mg DON/kg und im Rahmen der Diätverordnung nicht mehr als 0,2 mg DON/kg enthalten sein. Im Hinblick auf den vorbeugenden Verbraucherschutz ist die Einhaltung dieser Grenzwerte die zentrale Herausforderung.

Neben den pflanzenbaulichen Maßnahmen, wie Fruchtfolge, Bodenbearbeitung und Pflanzenschutz, ist die Verwendung resistenter Sorten ein wichtiger Baustein zur Minimierung des Fusariumtoxinrisikos. So ist bei der Zulassung von Stämmen durch das Bundessortenamt und der Empfehlung durch die Länderdienststellen eine hohe, teilweise auch schon eine mittlere bis hohe Anfälligkeit ein Ausschlusskriterium für Sorten.

Aus den bisherigen Beobachtungen lies sich der Trend einer stärkeren Anfälligkeit kurzstrohiger Sorten erkennen. Aber gerade diese Sorten sind aufgrund ihrer agronomischen Leistungsfähigkeit und Standfestigkeit besonders gewünscht. Daher ist in vielen deutschen Sorten das Kurzstrohgen *Rht-D1b* (= *Rht2*, reduced height) enthalten. Dieses Gen hatte im Vergleich zu anderen Genen in allen Nachkommenschaften den stärksten negativen Einfluss. Damit kann grundsätzlich von einer deutlich erhöhten Anfälligkeit der Sorten mit dem Kurzstrohgen *Rht-D1b* ausgegangen werden. Durch die molekulargenetische Kartierung wurden noch weitere Genorte identifiziert, die einen geringen bis mittleren Beitrag zur Resistenz gegen Ährenfusarium leisten. Die Güte der Lokalisierung wird durch die Übereinstimmung der Genorte in mehreren Populationen dieser Arbeit und mit international publizierten Ergebnissen bestätigt. Aufgrund dieser Erkenntnisse kann von einer Vererbung der Fusariumresistenz durch mehrere Gene im europäischen Zuchtmaterial ausgegangen werden. Resistenzgene mit großen Effekten, wie sie im asiatischen Zuchtmaterial zu finden sind, wurden in europäischen Linien nicht detektiert. Bisher ist allerdings noch nicht geklärt, ob sich diese asiatischen Resistenzen auch in Zuchtlinien einbringen lassen, ohne die Leistungsfähigkeit der auf sehr hohem Ertragsniveau stehenden deutschen Sorten zu beeinträchtigen.

Aus den vorgelegten molekulargenetischen Untersuchungen geht hervor, dass für ein gutes Resistenzniveau mehrere Gene angereichert sein müssen und dass es möglich ist, in Kurzstrohsorten eine akzeptable Resistenz zu erreichen. Die Lokalisierung von

Resistenzgenen in Kurzstrohsorten zeigt, dass diese dadurch bereits verbessert wurden, um zur Sortenzulassung zu gelangen. Die weitere Pyramidisierung von Resistenzgenen ist notwendig, um auch die Resistenz der Kurzstrohsorten weiter zu erhöhen.

Die in diesem Projekt identifizierten Resistenzgene sind durch molekulare Methoden im Zuchtgang nachweisbar. Insbesondere Genorte, die in mehreren Populationen gefunden wurden, bieten sich für die aktive Einkreuzung und markergestützte Selektion an. Die molekulargenetische Analyse für Gene mit mittleren Effekten ist allerdings unter den derzeitigen technischen Rahmenbedingungen ökonomisch kaum sinnvoll, so dass die klassische Selektion nach künstlicher Inokulation oder Anbau unter Provokationsbedingungen weiterhin die wichtigste Methode bleiben wird. Der rasante technische Fortschritt wird aber in naher Zukunft die Genotypisierung des Gesamtgenoms ermöglichen. Damit können auch Genorte kostengünstig einbezogen werden, für die sich eigenständige Analysen aufgrund der nur mittleren Effekte nicht lohnen würden.

Diese Ergebnisse liefern klare Erkenntnisse über die Vererbung der Fusariumresistenz und ihrer Nutzung im europäischen Zuchtmaterial. Aufgrund der oligo- bis polygenen Vererbung der Resistenz, die im Gegensatz zu den wenigen Hauptgenen bei den asiatischen Linien steht, muss den Weizenzüchtern kurzfristig noch zur klassischen Selektion über Feldprüfungen geraten werden. Die vielen gefundenen Resistenzgene zeigen, dass die Verbesserung der Resistenz möglich ist und auch Kurzstrohsorten mit einer befriedigenden Resistenz gezüchtet werden können.

Die Projektergebnisse zeigen die Variation in den Nachkommenschaften und die Möglichkeiten zur weiteren Verbesserung der Resistenz auf. Die Resistenzzüchtung gegen Ährenfusariosen kann einen wesentlich Beitrag im Sinne des vorbeugenden Verbraucherschutzes zur Minimierung des Mykotoxinrisikos leisten und im Rahmen des "Reduktionsprogramms im Pflanzenschutz" des BMELV zur Einsparung von prophylaktischen Pflanzenschutzmaßnahmen führen.