

Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung
Departement Pflanzenwissenschaften
Wissenschaftszentrum Weihenstephan
der Technischen Universität München

**Kartierung von quantitativen Resistenzloci gegen die Blatt-
und Spelzenbräune (*Septoria nodorum* Berk.) bei Weizen
(*Triticum aestivum* L.) mittels molekularer Marker**

Gerold Stern

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

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. G. Forkmann
Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. G. Wenzel
2. Univ.-Prof. Dr. K.- H. Engel

Die Dissertation wurde am 02.12.2002 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 01.03.2003 angenommen.

Mit dem Reich Gottes ist es so,
wie wenn ein Mensch Samen aufs Land wirft
und schläft und aufsteht, Nacht und Tag;
und der Same wächst – er weiss nicht, wie.
Denn von selbst bringt die Erde Frucht,
zuerst den Halm, danach die Ähre,
danach den vollen
Weizen
in die Ähre.

(Jesus Christus in Markus 4, 26-28)

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. G. Wenzel für die Bereitstellung des Themas, der Arbeitsmöglichkeit am Lehrstuhl sowie die Verlängerung der Finanzierung danken.

Herrn Dr. V. Mohler danke ich für die freundliche Aufnahme in die Arbeitsgruppe Molekulare Marker, seine stete Diskussionsbereitschaft und für die kritische Durchsicht des Manuskriptes.

Der AG Molekulare Marker danke ich für die freundliche Atmosphäre und die vielseitige Unterstützung. Insbesondere möchte ich Frau Winterstein, Frau Busemann und Herrn Kornbauer für die gute technische Assistenz und Zusammenarbeit bei der Durchführung der Laborarbeiten danken.

Herrn Dr. G. Schwarz und Herrn Dr. M. Herz danke ich für viele wertvolle Diskussionen und ihre Hilfsbereitschaft.

Der Bayerischen Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau in Freising danke ich für die Bereitstellung der Kartierungspopulation 'Piko' × 'Euris' sowie Herrn Dr. Zimmermann und seiner Abteilung für die Durchführung der Feldversuche.

Dem Institut für Resistenzgenetik der Bunderforschungsanstalt für Züchtungsforschung in Grünbach danke ich für die Bereitstellung der Kartierungspopulation 'Apollo' × 'G18/90' sowie Herrn Dr. H. Walther für hilfreiche Diskussionen und seiner Abteilung für die Durchführung der Feldversuche.

Der Saatzucht Hadmersleben GmbH in Hadmersleben und der Lochow-Petkus GmbH in Bergen danke ich für die Durchführung der Feldversuche.

Meiner Hausgemeinde danke ich für die ausdauernde Anteilnahme und für die unzähligen Gebete.

Meiner Frau Solveig danke ich für die liebevolle Begleitung, ihre Geduld und moralische Unterstützung über die ganze Zeit der Fertigstellung dieser Arbeit.

Die vorliegende Arbeit wurde zum Teil aus dem Verbundprojekt 'Gesundes Getreide durch Nutzung biotechnologischer Züchtungskonzepte', G78/79 BMBF (Bundesministerium für Bildung und Forschung), finanziert.

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
2	MATERIAL UND METHODEN	15
2.1	Material.....	15
2.1.1	Pflanzenmaterial.....	15
2.1.2	Feldanbau, künstliche Infektion und Bonitur.....	17
2.1.2.1	Kreuzung 'Apollo' x 'G18/ 90'.....	17
2.1.2.2	Kreuzung 'Piko' x 'Euris'.....	17
2.2	Chemikalien und Verbrauchsmaterial.....	18
2.2.1	Enzyme.....	19
2.2.2	Oligonukleotide.....	19
2.2.3	DNA-Molekulargewichtstandards.....	20
2.2.4	Basislösungen.....	21
2.3	Methoden.....	22
2.3.1	DNA-Isolierung.....	22
2.3.2	RFLP-Analyse.....	23
2.3.2.1	Restriktion genomischer DNA.....	23
2.3.2.2	Gelelektrophorese der genomischen Weizen-DNA-Fragmente.....	23
2.3.2.3	Southern-Transfer der elektrophoretisch aufgetrennten Weizen-DNA.....	24
2.3.2.4	Radioaktives Markieren der DNA-Sonden.....	24
2.3.2.5	Hybridisierung der markierten Sonden auf Southern-Blots.....	25
2.3.3	SSR-Analyse.....	25
2.3.3.1	Reaktionsbedingungen für die PCR von SSR-Markern.....	26
2.3.3.2	Gelelektrophorese mit multifluorophorer Detektion.....	27
2.3.4	AFLP-Analyse.....	28
2.3.4.1	Restriktion und Ligation.....	28
2.3.4.2	Präselektive Amplifikation.....	29
2.3.4.3	Selektive Hauptamplifikation.....	30
2.3.4.4	Gelelektrophorese mit multifluorophorer Detektion.....	31
2.3.5	Fragmentanalyse.....	33
2.3.5.1	Zuordnung der SSR-Banden.....	33
2.3.5.2	Zuordnung der AFLP-Banden.....	34
2.3.6	Semiautomatische Zuordnung der Genotypen.....	34
2.3.7	Datenauswertung.....	34
2.3.7.1	Statistik.....	34
2.3.7.2	χ^2 -Test der Markerverteilung.....	35
2.3.7.3	Kopplungsanalyse.....	35
2.3.7.4	Regressionsanalyse.....	35
2.3.7.5	QTL-Analyse.....	35
3	ERGEBNISSE	36
3.1	Feldbonituren der Kreuzung 'Piko' x 'Euris' und Elternlinien.....	36
3.1.1	Korrelationen zwischen den bonitierten Merkmalen der Kreuzung 'Piko' x 'Euris'	38
3.1.2	Ergebnisse der berechneten Ertragsverluste durch <i>S. nodorum</i>	40
3.2	Feldbonituren der Kreuzung 'Apollo' x 'G18/ 90'.....	42
3.2.1	Standort Grünbach.....	42
3.2.1.1	Korrelationen Grünbach.....	45

3.2.2	Standort Bergen.....	47
3.2.2.1	Korrelationen Bergen	48
3.2.3	Standort Hadmersleben.....	49
3.2.3.1	Korrelationen Hadmersleben	50
3.2.4	Korrelationen zwischen den Umwelten.....	50
3.3	Markeranalyse bei den Elternlinien und der Kreuzungsnachkommenschaft der Kreuzung 'Piko' × 'Euris'	52
3.3.1	Analyse mit RFLP-Markern.....	52
3.3.2	Analyse mit Mikrosatelliten-Markern	52
3.3.2.1	Ergebnis des diagnostischen Markers gwm261 für das Verzweigungs- gen <i>Rht8</i>	52
3.3.3	Kopplungsanalyse.....	53
3.3.4	Untersuchung der Allelverteilung auf gestörte Spaltung.....	53
3.3.5	Auftreten von Nullallelen	55
3.4	Markeranalyse bei den Elternlinien und der Kreuzungsnachkommenschaft der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'	57
3.4.1	Analyse mit RFLP-Markern.....	57
3.4.2	Analyse mit Mikrosatelliten-Markern	57
3.4.3	Analyse mit AFLP-Markern	57
3.4.4	Kopplungsanalyse und Kartierung	58
3.4.5	Untersuchung auf gestörte Spaltung.....	63
3.4.6	Auftreten von Nullallelen	63
3.5	Detektion von merkmalsrelevanten Genloci.....	65
3.5.1	Kreuzung 'Piko' × 'Euris'.....	65
3.5.1.1	Regressionsanalyse einzelner Marker	65
3.5.1.2	QTL-Analyse	66
3.5.1.2.1	Resistenz der Ähre gegen <i>S. nodorum</i>	66
3.5.1.2.2	Resistenz der Blätter gegen <i>S. nodorum</i>	67
3.5.1.2.3	Halmlänge.....	68
3.5.1.2.4	Zeitpunkt des Ährenschiebens	68
3.5.1.2.5	Analyse der Marker für den QTL für Blattresistenz auf Chromosom 1BS über die Gesamtpopulation	70
3.5.2	Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'.....	73
3.5.2.1	Regressionsanalyse einzelner Marker	73
3.5.2.1.1	Ährenbefall	73
3.5.2.1.2	Blattbefall	74
3.5.2.1.3	Halmlänge.....	76
3.5.2.1.4	Ährenschieben	77
3.5.2.2	QTL-Analyse	78
3.5.2.2.1	Detektion von QTL für Blattresistenz.....	79
4	DISKUSSION.....	82
4.1	Kreuzungseltern.....	82
4.2	Merkmalsausprägung in der Nachkommenschaft	86
4.3	Korrelationen zwischen Merkmalen.....	86
4.4	Korrelationen zwischen Umwelten	87
4.5	Genetische Kartierung von Genorten für eine Resistenz gegen Blatt- und Spelzenbräune (<i>Septoria nodorum</i>)	88
4.5.1	Kartierungsspopulationen	88
4.5.2	Markersysteme und Kopplungskarten	88

4.5.3	Detektion von QTL für Resistenz gegen Blatt- und Spelzenbräune (<i>Septoria nodorum</i>).....	90
4.5.4	Detektion von QTL für Halmlänge und Ährenschieben sowie mögliche Koinzidenz mit Resistenzloci.....	96
4.6	Ausblick	98
4	ZUSAMMENFASSUNG.....	100
6	LITERATURVERZEICHNIS.....	102
7	ANHANG	113

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1:	Bisher beschriebene Resistenzen gegen <i>S. nodorum</i> einiger Weizensorten und verwandter Arten..	5
Tabelle 2:	Bisher auf Chromosomen lokalisierte Resistenzen gegen <i>S. nodorum</i>	6
Tabelle 3:	Beschreibung der Elternlinien und Kreuzungspopulation der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'	15
Tabelle 4:	Beschreibung der Elternlinien und Kreuzungspopulation der Kreuzung 'Piko' × 'Euris'	16
Tabelle 5:	Chemikalien und Verbrauchsmaterialien	18
Tabelle 6:	Enzyme	19
Tabelle 7:	Oligonukleotide	19
Tabelle 8:	DNA-Molekulargewichtstandards	20
Tabelle 9:	Eingesetzte Primer für die selektive Hauptamplifikation	32
Tabelle 10:	Einstellungen der Analysenparameter für Bestimmung von Fragmentgrößen mit der Software GeneScan	33
Tabelle 11:	Mittelwerte und Spannbreiten der bonitierten Merkmale Ährenbefall, Blattbefall, Halmlänge und Zeitpunkt des Ährenschiebens der Kreuzungseltern und der 190 F ₄ -Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' für die Jahre 1998 und 1999	36
Tabelle 12:	Korrelationen zwischen den phänotypischen Boniturdaten der 190 F ₄ -Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den Jahren 1998 und 1999	39
Tabelle 13:	Korrelationen zwischen dem prozentualen Ähren- und Blatt-befall der 190 F ₄ -Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den Jahren 1998 und 1999	39
Tabelle 14:	Korrelationen der phänotypischen Merkmale zwischen den Anbaujahren 1998 und 1999 der 190 F ₄ -Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris'	40
Tabelle 15:	Prozentuale Ertragswerte bei den infizierten Weizenpflanzen bezogen auf den Ertrag der Pflanzen von den Kontrollparzellen der 190 F ₄ -Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den Jahren 1998 und 1999	40
Tabelle 16:	Mittelwerte und Spannbreiten der Boniturdaten der 200 F ₃ -Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' in den Jahren 1998 und 1999 in Grünbach	43
Tabelle 17:	Mittelwerte der Boniturdaten der Elternlinien 'Apollo' und 'G18/90' in den Jahren 1998 und 1999 in Grünbach	43
Tabelle 18:	Korrelationen zwischen den phänotypischen Boniturdaten der 200 F ₃ -Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90' in den Jahren 1998 und 1999 in Grünbach	45
Tabelle 19:	Korrelationen zwischen dem prozentualen Ähren- und Blatt-befall der 200 F ₃ -Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90' in den Jahren 1998 und 1999 in Grünbach	45
Tabelle 20:	Korrelationen der phänotypischen Merkmale zwischen den Anbaujahren der 200 F ₃ -Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90' in den Jahren 1998 und 1999 in Grünbach	46
Tabelle 21:	Mittelwerte und Spannbreiten der Boniturdaten der 200 F ₃ -Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' im Jahr 1999 in Bergen (Lochow-Petkus GmbH)	48
Tabelle 22:	Korrelationen zwischen den phänotypischen Merkmalsbonituren der 200 F ₃ -Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90' im Jahr 1999 in Bergen (Lochow-Petkus GmbH)	48
Tabelle 23:	Mittelwerte und Spannbreiten der Befallsbonituren der 200 F ₃ -Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' im Jahr 1999 in Hadmersleben (Saatzucht Hadmersleben GmbH)	49
Tabelle 24:	Korrelationen zwischen den einzelnen Umwelten für das Merkmal des prozentualen Ährenbefalls der 200 F ₃ -Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90'	50
Tabelle 25:	Korrelationen zwischen den einzelnen Umwelten für das Merkmal des prozentualen Blattbefalls der 200 F ₃ -Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90'	51
Tabelle 26:	Korrelationen zwischen den einzelnen Umwelten für das Merkmal Halmlänge der 200 F ₃ -Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90'	51
Tabelle 27:	Überblick der RFLP- und SSR-Markeranalyse auf Polymorphie zwischen den Elternlinien 'Piko' und 'Euris'	52
Tabelle 28:	Halmlängendifferenzen der Sorten 'Piko' und 'Euris' in den Jahren 1998 und 1999 sowie amplifizierte Fragmentgrößen des für das <i>Rht8</i> -Gen diagnostischen SSR-Markers gwm261	53
Tabelle 29:	Allelverteilung und Chi-Quadrat-Test der untersuchten informativen Marker der Kreuzung 'Piko' × 'Euris'	56
Tabelle 30:	Überblick der RFLP-, SSR- und AFLP-Markeranalyse auf Polymorphie zwischen den Elternlinien 'Apollo' und 'G18/90'	57
Tabelle 31:	Von RFLP- und SSR-Markern detektierte Nullallele der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'	63
Tabelle 32:	Signifikante R ² -Werte einiger SSR-Marker für die Merkmale Ährenbefall, Blattbefall, Halmlänge und Ährenschieben der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den Jahren 1998 und 1999	65
Tabelle 33:	Lokalisierte QTL für eine Blattresistenz gegen <i>S. nodorum</i> der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den einzelnen Jahren 1998 und 1999 in Freising	67

Tabelle 34:	Lokalisierte QTL für Blattresistenz gegen <i>S. nodorum</i> der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' mit den gemittelten Boniturdaten über die Jahre 1998 und 1999 in Freising	67
Tabelle 35:	Lokalisierte QTL für Halmlänge der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den einzelnen Jahren 1998 und 1999 in Freising	68
Tabelle 36:	Lokalisierte QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den einzelnen Jahren 1998 und 1999 in Freising	69
Tabelle 37:	Lokalisierte QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' nach Berechnung des Mittelwertes der Boniturdaten über die Jahre 1998 und 1999 in Freising	69
Tabelle 38:	Lokalisierte QTL für eine Blattresistenz gegen <i>S. nodorum</i> über 190 F ₄ -Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den einzelnen Jahren 1998 und 1999 in Freising	71
Tabelle 39:	Lokalisierte QTL für Blattresistenz gegen <i>S. nodorum</i> anhand von 190 F ₄ -Linien Kreuzung 'Piko' × 'Euris' und der gemittelten Boniturdaten über die Jahre 1998 und 1999 in Freising	71
Tabelle 40:	Signifikante R ² -Werte einiger Marker für den prozentualen Ährenbefall mit <i>S. nodorum</i> der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' in den vier Umwelten Grünbach 1998 und 1999, Hadmersleben 1999 und Bergen 1999	73
Tabelle 41:	Signifikante R ² -Werte einiger Marker für den prozentualen Blattbefall mit <i>S. nodorum</i> der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' in den vier Umwelten Grünbach 1998 und 1999, Hadmersleben 1999 und Bergen 1999	76
Tabelle 42:	Signifikante R ² -Werte einiger Marker für das Merkmal Halmlänge der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' in den drei Umwelten Grünbach 1998, Grünbach 1999 und Bergen 1999	77
Tabelle 43:	Signifikante R ² -Werte einiger Marker für das Merkmal Ährenschieben der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' für Grünbach 1998 und Grünbach 1999	78
Tabelle 44:	Lokalisierte QTL für Blattresistenz gegen <i>S. nodorum</i> der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' für die Standorte Grünbach 1999 und Bergen 1999	79
Tabelle 45:	Lokalisierte QTL für Blattresistenz gegen <i>S. nodorum</i> der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' mit den gemittelten Boniturdaten über die Standorte Grünbach 1999, Hadmersleben 1999 und Bergen 1999	80
Tabelle 46:	Allelverteilung der untersuchten informativen Marker der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'	113

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1:	Befallssymptome durch <i>Septoria nodorum</i> an Weizen.....	2
Abbildung 2:	Überblick zur QTL-Analyse mit molekularen Markern.....	9
Abbildung 3:	Häufigkeitsverteilungen der prozentualen Befallsbonituren sowie Lage der Mittelwerte der Elternlinien, der F ₄ -Linien und des Elternmittels der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den Jahren 1998 und 1999.....	37
Abbildung 4:	Häufigkeitsverteilungen der Boniturwerte für die Halmlänge und den Zeitpunkt des Ährenschiebens in Tagen ab dem ersten Mai sowie Lage der Mittelwerte der Elternlinien, der F ₄ -Linien und des Elternmittels der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den Jahren 1998 und 1999.....	38
Abbildung 5:	Häufigkeitsverteilungen der Boniturwerte für den prozentualen Ähren- und Blattbefall mit <i>S. nodorum</i> sowie Lage der Mittelwerte der Elternlinien, F ₃ -Familien und des Elternmittels der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' in den Jahren 1998 und 1999 in Grünbach.....	42
Abbildung 6:	Häufigkeitsverteilungen der Boniturwerte für die Halmlänge und den Zeitpunkt des Ährenschiebens in Tagen nach der Saat sowie Lage der Mittelwerte der Elternlinien, F ₃ -Familien und des Elternmittels der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' in den Jahren 1998 und 1999 in Grünbach.....	44
Abbildung 7:	Häufigkeitsverteilungen der Boniturwerte für den prozentualen Ähren- und Blattbefall mit <i>S. nodorum</i> sowie Lage der Mittelwerte der 200 F ₃ -Familien im Jahr 1999 in Bergen (Lochow-Petkus GmbH).....	47
Abbildung 8:	Häufigkeitsverteilungen der Boniturwerte für den prozentualen Ähren- und Blattbefall mit <i>S. nodorum</i> sowie Lage der Mittelwerte der 200 F ₃ -Familien im Jahr 1999 in Hadmersleben (Saatzucht Hadmersleben GmbH).....	49
Abbildung 9:	Genetische Kopplungskarte der Kreuzung 'Piko' × 'Euris'.....	54
Abbildung 10:	Genetische Karte der chromosomenspezifischen Kopplungsgruppen der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'.....	59
Abbildung 11:	Genetische Karte der chromosomenspezifischen Kopplungsgruppen der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'.....	60
Abbildung 12:	Genetische Karte der chromosomenspezifischen Kopplungsgruppen der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'.....	61
Abbildung 13:	Genetische Karte der anonymen Kopplungsgruppen der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'.....	62
Abbildung 14:	Genetische Karten der Kopplungsgruppe von Chromosom 1BS berechnet anhand der Markerdaten von 96 bzw. 190 Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris'.....	70
Abbildung 15:	LOD-Plotkurven der CIM-Analyse der QTL für Blattresistenz gegen <i>S. nodorum</i> auf Chromosom 1BS der 190 F ₄ -Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris'.....	72
Abbildung 16:	Ausschnitt eines Gelbildes der Mikrosatelliten-Fragmentanalyse von sechs Mikrosatelliten.....	74
Abbildung 17:	LOD-Plotkurven der CIM-Analyse der QTL für Blattresistenz gegen <i>S. nodorum</i> auf Chromosom 1BS und 3DS an 138 F ₃ -Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'.....	81
Abbildung 18:	Zuchtstammbaum der Winterweizensorte 'Piko'.....	83
Abbildung 19:	Zuchtstammbaum der Winterweizensorte 'Euris'.....	83
Abbildung 20:	Zuchtstammbaum der Winterweizensorte 'Apollo'.....	84
Abbildung 21:	Zuchtstammbaum der Winterweizensortlinie 'G18/90'.....	84
Abbildung 22:	Skizzierte Lage des QTL für Blattresistenz auf Chromosom 5DL (<i>QSnb.whs-5DL</i>).....	93
Abbildung 23:	Skizzierte Lage der QTL für Blattresistenz auf Chromosom 1BS (<i>QSnb.whs-1BS</i>) im Vergleich mit kartierten Resistenzgenen bzw. Abwehrreaktionsgenen aus der Literatur.....	95

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A	Adenin
AFLP	amplified fragment length polymorphisms
ANOVA	analysis of variance (Varianzanalyse)
ATP	Adenin-5'-triphosphat
bp	Basenpaare
BSA	bovine serum albumin (Rinderserumalbumin); bulked segregant analysis
C	Cytosin
Chr.	Chromosom
cDNA	copy oder complementary DNA
cM	Centimorgan
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
dATP	2'-Desoxyadenosin-5'-triphosphat
dCTP	2'-Desoxycytidin-5'-triphosphat
dGTP	2'-Desoxyguanosin-5'-triphosphat
DH	Dihaploide Linie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNase	Desoxyribonuklease
dTTP	2'-Desoxythymidin-5'-triphosphat
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
F _n	n-te Filialgeneration
5-FAM; 6-FAM	5-Carboxy-fluorescein; 6-Carboxy-fluorescein
G	Guanin
HEX	4,7,2',4',5',7'-Hexachloro-6-Carboxyrhodamin
JOE	2',7'-Dimethoxy-4',5'-dichloro-6-carboxy-fluorescein
LOD	logarithm of odds
M	Molar
NIL	near isogenic line
PCR	polymerase chain reaction
PR	pathogenesis related
QTL	quantitative trait loci
RAPD	random amplified polymorphic DNAs
RFLP	restriction fragment length polymorphisms
RIL	recombinant inbred line
RNA	Ribonukleinsäure
RNase	Ribonuklease
ROX	6-Carboxy-X-rhodamin
RT	Raumtemperatur
SDS	Sodiumdodecylsulfat
SNP	single nukleotide polymorphism
STS	sequence tagged site
T	Thymin
TAMRA	N,N,N', N'-Tetramethyl-6-carboxyrhodamin
TEMED	N,N,N', N'-Tetramethylethyldiamin
TET	4,7,2',7'-Tetrachloro-6-Carboxyfluorescein
v/v	Volumen/ Volumen
w/v	Masse/ Volumen

1 Einleitung

Der Saat- oder Brotweizen (*Triticum aestivum* L.) zählt mit Mais und Reis zu den drei wichtigsten Nahrungspflanzen der Welt. In der Züchtung von neuen Weizensorten nimmt die Erhöhung der Krankheitsresistenz eine zentrale Rolle ein, da nur gesunde Pflanzen ihr ganzes Qualitäts- und Ertragspotential erreichen. Durch die stetige Zunahme der Weizenanbauflächen und den häufigeren Weizenanbau in der Fruchtfolge ist der Bedarf an neuen resistenteren, lokal adaptierten Weizensorten gross. Resistenterere Weizensorten dienen zum einen der Ertragssicherung und damit der Wettbewerbsfähigkeit der Landwirte als auch der Schonung der Umwelt durch Einsparung von Pflanzenschutzmitteln.

Die Blatt- und Spelzenbräune des Winterweizens ist neben dem Weizenmehltau, dem Braun- und Gelbrost sowie der Ährenfusariose eine der bedeutendsten Pilzkrankheiten des Weizens, welche weltweit verbreitet ist, insbesondere in den gemässigten Klimaten mit häufigen Regenfällen im Frühjahr. Verursacht wird die Blatt- und Spelzenbräune (engl.: *Septoria Nodorum* Blotch = SNB) bei Weizen durch den Schadpilz *Leptosphaeria nodorum* E. Müller (= *Phaeosphaeria nodorum* (E. Müller) Hedjaroude), anamorph = *Septoria nodorum* (Berk.) Berk. in Berkeley und Broome (= *Stagonospora nodorum* (Berk.) Castellani und Germano). Eine erste Beschreibung von *Septoria nodorum* erfolgte von BERKELEY und BROOME (1850), wobei man heute dazu übergeht, die Bezeichnung *Stagonospora nodorum* zu verwenden, aufgrund der grösseren Ähnlichkeit der Konidien zu diesem Genus im Vergleich zum Pilz *Septoria tritici* (Perfektstadium: *Mycosphaerella graminicola* (Fückel)), dem Erreger der Blattdürre bei Weizen (CUNFER 1997, EYAL 1999).

Für das Ausmass eines epidemischen Befalls von Weizen ist die Nebenfruchtform *Stagonospora nodorum* (Berk.) von grösserer Bedeutung (HOFFMANN und SCHMUTTERER 1983), während die vom sexuellen Vermehrungsstadium *Leptosphaeria nodorum* gebildeten Ascosporen mitverantwortlich sind für die Primärinfektion von jungen Weizenbeständen als auch für die Verbreitung über grössere Distanzen (VERREET und HABERMEYER 1995, KELLER et al. 1997). Erstmals wurden starke Ertragsverluste von 43 – 50%, verursacht durch *S. nodorum*, von TOWNSED (1898) in den USA beschrieben und in Deutschland von SORAUER (1908). Mittlerweile gibt es weltweite Berichte von *S. nodorum* Epidemien (Übersicht in: VERREET 1995), vornehmlich in Gebieten mit gemässigten Klimaten und regenreichen Sommern (KING et al. 1983, HOFFMANN und SCHMUTTERER 1983). Dabei können Ertragsverluste bis 50% sowie erhebliche Qualitätsverminderungen auftreten (EYAL 1981, KING 1983). Die Ertragsverluste entstehen hauptsächlich durch Verminderung des Tausendkorngewichtes, was sich auch in der verkümmerten Kornform zeigt (BRÖNNIMANN 1968a), teilweise aber auch durch die Reduktion der Kornzahl pro Ähre (JONES und ODEBUNMI 1971). Die Art und Stärke des Ertragverlustes sind stark vom Infektionszeitpunkt abhängig, wobei die Phasen des Ährenschiebens (EC 51) bis Blühende (EC 69) als besonders anfällige Entwicklungsstadien der Weizenpflanze anzusehen sind (BRÖNNIMANN 1968a, JONES und ODEBUNMI 1971, VERREET et al. 1987a). Bedeutende Verluste der Backeigenschaften des Mehls, wie z.B. nach Befall mit *Fusarium culmorum*, treten jedoch nicht auf, da *S. nodorum* den Mehlkörper nicht durchdringt (BOCKMANN 1964). Bisher sind keine human- oder tiertoxischen Mykotoxine von *S. nodorum* bekannt. Als von *S. nodorum* produzierte Phytotoxine sind zwei Substanzgruppen beschrieben, zu welchen verschiedene Derivate des Septorins (Ochracin) und des Melleins gehören, deren Wirkung und Funktion in der Pathogenese und Wirtsspezifität noch ungeklärt sind (BOUSQUET et al. 1974, BARBIER et al. 1994, DEVYS et al. 1994, EYAL 1999).

Als Hauptinokulumquelle werden die auf Stroh- und Stoppelresten verbleibenden Pyknidien und Pseudothecien angesehen (HARROWER 1974, OBST 1977, ARSENIUK et al.

1988), wodurch der Pilz in der Lage ist, zu überwintern. Befallenes Saatgut bildet ein zusätzliches Ausgangsinokulum und kann als Folge von verminderten Feldaufgang und geringeren Bestandesdichten zu Mindererträgen führen (KIETREIBER 1961, WILLIAMS und JONES 1973, KRÜGER und HOFFMANN 1978). Der Wirkkreis umfasst eine Reihe anderer Getreidearten sowie Gräser, deren Bedeutung als Nebenwirte und Inokulumquelle aber als gering eingestuft wird (HARROWER 1977, KRUPINSKY 1994).

Die Infektion beginnt mit der Penetration von Keimhyphen der Pykno­sporen durch die Cutikula des Blattes. Elektronenmikroskopische Untersuchungen haben gezeigt, dass eine direkte Penetration eher selten ist und meistens eine enzymatische Lysis der Cutikula vorangeht. *S. nodorum* scheint ein Perthophyt zu sein, d.h. ein Pilz, der seinen Wirt zunächst abtötet und dann besiedelt. Bei der Besiedelung werden grosse Myzelmatten direkt unter der Cutikula gebildet, ohne Epidermiszellen zu befallen, was vermuten lässt, dass *S. nodorum* seine Nährstoffe aus dem subcutikulären Raum zieht (ZINKERNAGEL et al. 1988).

Erste Symptome auf den Blättern zeigen sich in unregelmässig verteilten, kleinen, braunen Flecken, die später zu grösseren Nekrosen zusammenfliessen, welche meist von einem gelblich chlorotischen Hof umgeben sind. Von den Blattachseln kann sich der Befall auch auf die Blattscheiden ausdehnen und erreicht schliesslich die Hüll- und Deckspelzen der Ähre, wo es zu dem auffällig typischen Symptom der schokoladenbraunen Nekrosen kommt (Abbildung 1). Für die epidemische Verbreitung im Pflanzenbestand bildet das asexuelle Vermehrungsstadium *S. nodorum* kugelige, honigfarbene Sporenbehälter (Pyknidien), die in das Pflanzengewebe eingesenkt sind. Durch vorhandenes Wasser quellen die in den Pyknidien gebildeten Pykno­sporen in Form von Schleimrank­en aus den Pyknidien hervor und werden dann durch auftreffende Regentropfen auf die benachbarten höherliegenden Blatt­etagen sowie auf die Ähre geschleudert. Die Sporenkeimung verläuft in einem Temperaturbereich von 5 – 37°C mit einem Optimum von 20 – 25°C und 98 – 100% Luftfeuchtigkeit. Unter diesen Bedingungen und fortgesetzten Niederschlägen werden innerhalb von 8 bis 12 Tagen nach der Infektion neue Symptome mit erneuter Pyknidienbildung sichtbar (VEREET 1995).



Abbildung 1: Befallssymptome durch *Septoria nodorum* an Weizen

Der wichtigste Pflanzenschutz geschieht durch vorbeugende ackerbauliche Massnahmen wie die gute Einarbeitung von Ernterückständen, eine Langzeitfruchtfolge und in Befallslagen der Anbau gering anfälliger Sorten (EYAL 1981, OBST 1993, BAHLE und LEIST 1997). Als weiteres wird die Verwendung von gesundem, gebeiztem Saatgut, eine optimierte Bestandesführung zur Vermeidung von Lager sowie der angepasste Einsatz von Wachstumsreglern empfohlen. Die Wirksamkeit von Fungiziden ist bei samenbürtigen Pilzkrankheiten von

verschiedenen Parametern abhängig und zum Teil sehr eingeschränkt, weswegen besondere Strategien in der Anwendung von Fungiziden notwendig sind (MITTERMEIER und HOFFMANN 1985, VOLK und FRAHM 1991). Bei Erreichen von Bekämpfungsschwellenwerten von Blattnekrosen mit Pyknidien auf Indikationsblattetagen wird der Einsatz von systematischen *Septoria*-Fungiziden oder Kontaktfungiziden notwendig (OBST 1993). Die vorbeugenden Massnahmen und die Abstimmung des Fungizideinsatzes auf die jeweilige Befallssituation sind die Grundlage für den integrierten Pflanzenschutz (IPS), wie er im IPS-Weizenmodell Bayern dargestellt wird (VEREET und HOFFMANN 1993, VEREET und HABERMEYER 1995). Die sinnvollste Massnahme zum Pflanzenschutz aus ökologischer als auch aus ökonomischer Sicht, ist der Anbau von gering anfälligen Weizensorten, insbesondere bei der Produktion von Biosaatgut (RÜEGGER et al. 1998).

Die Resistenz gegen *S. nodorum* der Winterweizensorten im deutschen Weizensortenspektrum ist eher gering und reicht maximal bis zur Note drei für geringe Anfälligkeit bei einer Skala von eins, für sehr gering anfällig, bis neun, für sehr stark anfällig. Das Mittel der Weizensorten lag bei 4,4 für das Jahr 2000, wobei sechs Sorten von insgesamt 48 mit der Note drei am wenigsten anfällig waren (Beschreibende Sortenliste 2000). Bei acht im Jahr 2000 erstmals aufgeführten Sorten lag das Mittel der Anfälligkeit für Mehltau bei 2,4 mit einer Notenspannbreite von eins bis vier und das Mittel für die Anfälligkeit für Spelzenbräune bei 4,4 mit einer Notenspannbreite von drei bis fünf. Dies verdeutlicht den grossen Bedarf an der Einführung weiterer Resistenzen gegen *S. nodorum* in das deutsche Sortenspektrum. Diese eher geringe vorhandene Resistenz gegen *S. nodorum* liegt zum einen daran, dass bisher hauptsächlich auf Resistenz gegen Mehltau, Braun- und Gelbrost gezüchtet wurde und zum anderen, dass die Züchtung auf eine Resistenz gegen *S. nodorum* aufgrund der polygenen Natur schwierig und sehr zeitaufwendig ist. Die meisten Untersuchungen der Resistenz gegen *S. nodorum* haben gezeigt, dass es sich um eine quantitative Resistenz handelt (MULLANEY et al. 1982; NELSON und GATES 1982; WICKI et al. 1999a), welche durch das Zusammenwirken mehrerer Genorte, sogenannter QTL (engl.: Quantitative Trait Loci), ausgeprägt wird. Bei der Vererbung der Resistenz wurde häufiger eine additive Genwirkung beobachtet als eine Dominanz oder Heterosis (MULLANEY et al. 1982; FRIED und MEISTER 1987; WILKINSON 1990). Es hat sich auch gezeigt, dass für die Ähre und die Fahnenblätter unterschiedliche Resistenzkomplexe verantwortlich sind und diese unabhängig vererbt werden (FRIED und MEISTER 1987; WILKINSON 1990; BOSTWICK et al. 1993; WICKI et al. 1999a). Die Ausnahmen von der quantitativen Resistenz bilden die gefundenen monogenen Resistenzen im Keimlingsstadium von KLEIJER et al. (1977) auf Chromosom 1B der Weizensorte 'Atlas 66' und von MA und HUGHES (1995) auf Chromosom 3A in einer von *T. timopheevii* stammenden Durumweizenlinie.

Die bisher gefundenen Resistenzen gegen *S. nodorum* wurden durch Tests an Keimlingen (KRUPINSKY et al. 1977, SCHAREN und KRUPINSKY 1978, MULLANEY et al. 1982, MA und HUGHES 1993), an Blattsegmenten (ECKER et al. 1989) und an ausgewachsenen Pflanzen nach künstlicher Infektion bestimmt (ARSENIUK et al. 1991, BOSTWICK et al. 1993) (Tabelle 1). Zur genaueren Erfassung der quantitativen Resistenz wurden die Flächen unter Befallsverlaufkurven (engl.: Area Under Disease Progress Curves = AUDPC) berechnet wie z. B. in den Arbeiten von BOSTWICK (1993) oder das Fortschreiten von Resistenzparametern wie der Latenzzeit, der Infektionszeit und der Grösse von Läsionen (ECKER et al. 1989) gemessen. Die Erfassung der Resistenz an Keimlingen und an Blattsegmenten hat den Vorteil, dass Standortbedingungen, wie der Boden oder das Klima, nicht die Resistenzausprägung beeinflussen. Allerdings hat sich gezeigt, dass die auf diese Weise gefundenen Resistenzen nicht immer bei ausgewachsenen Pflanzen unter Feldbedingungen ausgebildet wurden (TROTTE und BENACEF 1989; ARSENIUK et al. 1991; NELSON und MARSHALL 1990). Zudem können mit diesen Methoden keine Resistenzen der Ähre erfasst werden. Auf der anderen

Seite ist die Bestimmung von quantitativen Resistenzen mittels visueller Bonitur an ausgewachsenen Pflanzen auf dem Feld schwierig aufgrund der kontinuierlichen Variation der Befallsstärke und erfordert somit viel Zeit und Erfahrung. Ausserdem können Umwelteinflüsse wie Standortbedingungen und Klima Resistenzen verdecken oder pflanzenmorphologische Eigenschaften wie die Halmlänge oder die Cutikulabeschaffenheit Resistenzen vortäuschen. Trotzdem scheinen Feldversuche mit künstlichen Infektionen verlässlicher zu sein als Versuche unter Gewächshausbedingungen (BRUNO und NELSON 1990).

Die Ausprägung der Resistenz gegen *S. nodorum* wird deutlich von morphologischen Eigenschaften wie der Pflanzenhöhe und dem Entwicklungsstadium der Pflanze beeinflusst. Weizensorten, die sich früher entwickeln als auch kurze Sorten, sind stärker anfällig als sich später entwickelnde und hohe Sorten (TAVELLA 1978, EYAL 1981, KING et al. 1983). Auch JONSSON (1991) beschrieb, dass die älteren unteren Blätter stärker anfällig sind als die jüngeren oberen Blätter, wodurch sich später entwickelnde Sorten eventuell fälschlich als weniger anfällig zeigen könnten. BRÖNNIMANN et al. (1973) beobachteten bei künstlich infizierten Halmlängen-Mutanten der Sorte 'Zenith', dass kürzere Linien schneller und stärker befallen wurden als höhere Linien. Als Hauptursache wird das unterschiedliche Mikroklima angesehen, da bei kürzeren bodennahen Sorten die Feuchtigkeit länger verbleibt und somit die für den Pilz notwendigen Wachstumbedingungen länger vorliegen (KING et al. 1983). In einer Studie über die Beziehungen zwischen Pflanzenhöhe, Zeitpunkt des Ährenschiebens und der Resistenz gegen *S. nodorum* stellten SCOTT et al. (1982) fest, dass die Pflanzenhöhe und der Zeitpunkt des Ährenschiebens mit der Segregation der Resistenz assoziiert waren und dies eher mit Pleiotropie als mit Kopplung der betreffenden Merkmale zu erklären sei. Bisher konnte keine vollständig resistente Weizensorte gefunden werden, weswegen man auch häufig von einer partiellen Resistenz spricht. Um eine grösstmögliche partielle Resistenz im Weizen aufzubauen werden hauptsächlich resistente Weizensorten, verwandte *Triticum*-Arten und verwandte Wildformen als Resistenzquellen genutzt. FRECHA (1977) fand eine monogene dominante Resistenz gegen *S. nodorum* in der Weizensorte 'Atlas 66', MA und HUGHES (1993) konnten häufig Resistenzen bei *Triticum monococcum*, *T. tauschii* und *T. timopheevii* feststellen und ECKER et al. (1990b) bei *Aegilops longissima*. Von verschiedenen Autoren wird *T. timopheevii* am häufigsten als Resistenzträger beschrieben (JEGER et al. 1983, WENDLAND und HOFFMANN 1988, MA und HUGHES 1993). Einen Überblick einer Auswahl von bisher beschriebenen Resistenzen in Weizensorten und Verwandten des Weizens gibt die Tabelle 1. Da viele Resistenzen durch die Prüfung von Keimlingen bestimmt wurden, ergibt sich das Problem, dass auf diese Weise gefundene Resistenzen nicht immer bei ausgewachsenen Pflanzen unter Feldbedingungen gefunden wurden (TROTTE und BENACEF 1989, NELSON und MARSHALL 1990, ARSENIUK et al. 1991). So wurden die Weizensorten 'Okapi' und 'Sappo' von WENDLAND und HOFFMANN (1988) mittels der Messung der postinfektionellen Ethylenbildung an Keimlingen als gering anfällig eingestuft, zeigten sich aber in einem zweijährigen Feldversuch als hoch anfällig auf den Blättern und mittel anfällig auf den Ähren (MIELKE 1980).

Tabelle 1: Bisher beschriebene Resistenzen gegen *S. nodorum* einiger Weizensorten und verwandter Arten

Resistenzträger	Nachweismethoden	Autoren
<i>Aegilops longissima</i>	Test an Keimlingen	ECKER et al (1990b)
<i>T. monococcum</i>	Test an Keimlingen	MA und HUGHES (1993)
<i>T. speltoides</i>	Test an Keimlingen	ECKER et al (1990a)
<i>T. tauschii</i>	Test an Keimlingen	MA und HUGHES (1993)
<i>T. timopheevii</i>		
<i>T. durum</i>	Test an Keimlingen	JEGER et al. (1983)
<i>T. dicoccum</i>	Test an Keimlingen	Krupinsky (1977)
Atlas 66	Test an Keimlingen	FRECHA (1973)
Blueboy II, Oasis	Test an ausgewachsenen Pflanzen im Gewächshaus	NELSON (1980)
Cotipora	Test an ausgewachsenen Pflanzen im Gewächshaus	BOSTWICK et al. (1993)
Fronodoso	Test an Keimlingen	MULLANEY et al. (1982)
Fronthatch		
Maris Huntsman, Kolibri,Chapelle-Desprez	Test an Keimlingen	JEGER et al. (1983)
Okapi, Sappo	Bestimmung der quantitativen post-infektionellen Ethylenbildung an Keimlingen	Wendland und Hoffmann (1988)

Die meisten bisher lokalisierten Resistenzen gegen *S. nodorum* wurden mittels einer Analyse von monosomen Linien oder Substitutionslinien bestimmt, wobei sich die Lokalisierung auf ganze Chromosomen oder Chromosomenarme beschränkt. Auffällig ist, dass die Chromosomen der homeologen Gruppen 3, 5 und 7 am häufigsten beschrieben wurden und die Chromosomen der Gruppen 1 und 6 am wenigsten. Die bisher auf Chromosomen lokalisierten Resistenzen gegen *S. nodorum* sind in Tabelle 2 aufgeführt. Für die von MA und HUGHES (1995) gefundene monogene Resistenz aus Chromosom 3A in Durumweizen konnten CAO et al. (2001) mittels 'Bulked Segregant Analysis' (BSA) zwei flankierende RAPD-Marker analysieren mit Abständen von 15 und 13 cM zum Resistenzgen. Anhand der Untersuchung von rekombinanten Einzelchromosomenlinien fanden ELLERBROOK et al. (1999) eine Resistenz auf Chromosom 5D, welche zwischen einem Isoenzym-Marker und einem RFLP-Marker mit Abständen von 15,6 und 12,0 cM lokalisiert ist. Die lediglich zwei beschriebenen Marker für eine Resistenz gegen *S. nodorum* verdeutlichen den Bedarf an weiteren Markeranalysen, um noch mehr Marker mit möglichst enger Kopplung zu Resistenzloci zu finden und sie in einer markergestützten Selektion zur Resistenzzüchtung einzusetzen. Als grösste Schwierigkeit bei der Suche nach geeigneten Markern erweist sich das riesige Genom des Weizens, welches in haploider Form ungefähr $1,7 \times 10^{10}$ bp umfasst mit ca. 810 Mb pro Chromosom (ARUMUGANTHAN und EARLE 1991). Drei Weizenchromosomen entsprechen dem haploiden Maisgenom und eineinhalb durchschnittliche Weizenchromosomen sind so gross wie das haploide Reisgenom (GILL und GILL 1994). Für eine einigermaßen gleichmässige Markerabdeckung von 10 bis 20 Loci pro

Weizenchromosom werden ungefähr 200 bis 400 kartierte Loci bzw. Marker benötigt (LANDRIGE und CHALMERS 1998).

Tabelle 2: Bisher auf Chromosomen lokalisierte Resistenzen gegen *S. nodorum*

Chromosomen mit lokalisierter Resistenz	Nachweismethoden	Autoren
1B	Test an Keimlingen Monosomenanalyse der Sorte 'Atlas 66'	KLEIJER et al. (1977)
7A, 3B, 7B	Monosomenanalyse der Sorte 'Sappo'	HELENA et al. (1985)
2B, 4D, 5A, 6A, 6B, 7A	Monosomenanalyse der Sorte 'Weibull 15440'	WALAG und DZIEGLO (1987)
2B, 2D, 3A, 4A, 5B, 7D	Monosomenanalyse der Linie 'L22'	AURIAU et al. (1988)
3A, 7A (grösste Effekte)	Monosomenanalyse der Linie 'L22'	RAPILLY et al. (1988)
2B, 5B, 4A, 5A, 7B, 5D (kleinere Effekte)	Test an Blattsegmenten und Feldversuche	
5D, 3D (grösste Effekte)	Test an Keimlingen	NICHOLSON et al. (1993)
7D, 2A, 3B, 5A (kleinere Effekte)	Substitutionslinien eines synthetischen Weizens	
2B, 2D negative Effekte		
3A, 4AL, 3BL für Blattresistenz	Monosomenanalyse der Sorte 'Cotipora'	HU et al. (1996)
3AS, 4AS, 7A, 3BL für Ährenresistenz	Gewächshausversuche an ausgewachsenen Pflanzen	
5A, 6B Anfälligkeit		
3D, plus vier bis sechs weitere vermutete Genorte	Feldversuche mit künstlicher Infektion der Kreuzung 'Forno' × 'Oberkulmer' (<i>T. spelta</i>) RFLP- und Mikrosatelliten-Marker	MESSMER et al. (1997)
3A	Test an Keimlingen einer Durumweizenkreuzung Substitutionslinien 'Bulked segregant analysis' (BSA) mit RAPD-Markern	MA und HUGHES (1995) CAO et al. (2001)
5D	Rekombinante Einzelchromosomen Linien von Substitutionslinien eines synthetischen Weizens Isoenzym-, RFLP- und Mikrosatelliten-Marker	ELLERBROOK et al. (1999)

Die meisten Merkmale von natürlichen Populationen zeigen eher eine kontinuierliche Variation als diskrete Klassen, d. h. die Variation ist quantitativ. Zu den typischen quantitativen Merkmalen gehören z. B. der Ertrag, der Proteingehalt des Korns oder die Pflanzenhöhe, aber auch die Ausprägung der Resistenz gegen die meisten Pilzkrankheiten. Bisher wurden die meisten Arbeiten zur Resistenz auf der Grundlage der Gen-für-Gen Hypothese durchgeführt, d. h. gegen ein spezifisches Pilzisolat wurde ein spezifisches Resistenzgen bestimmt und dieses in die vorhandenen Sorten eingekreuzt. Auf diese Weise wurden über 10 verschiedene spezifische Mehltau-Resistenzen und mehr als 15 spezifische Braunrost-Resistenzen beim Weizen bestimmt (<http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/DEM/ggtabledefs.html>, MCINTOSH et al. 1998). Die qualitativen Resistenzen sind häufig nicht sehr dauerhaft, da eine einzige Mutation beim pathogenen Pilz ausreichen kann, um die Resistenz zu durchbrechen. Deswegen wurde auch versucht, mehrere qualitative Resistenzen in einer

Weizensorte zu akkumulieren und somit eine Pyramidisierung von Resistenzen zu erhalten, welche schwerer vom Pilz zu überwinden ist. Eine Pyramidisierung von mehreren Mehltau-Resistenzen in einer Weizensorte konnte aber auch keine dauerhafte Resistenz erzeugen (BROWN et al. 1997). Dauerhafter zeigten sich quantitativ ausgeprägte Resistenzen, die vorwiegend durch einen verzögerten Befallsverlauf gekennzeichnet sind. Für die anfangs erwähnten klassischen qualitativen Resistenzen wurden auch Arbeiten zur Bestimmung von quantitativen Resistenzen durchgeführt. Die genetischen Untersuchungen der Mehltau-Resistenz anhand zweier monosomer Kreuzungen der Weizensorte 'Diplomat' von CHAE und FISCHBECK (1979) lassen erkennen, dass 14 Chromosomen an der Differenzierung der Mehltau-Resistenz beteiligt sind und unterstützen die Interpretation einer quantitativen Vererbung. KELLER et al. (1999a) fanden 18 QTL für Mehltau-Resistenz in einer Kreuzung eines Winterweizens mit einem Spelzweizen, wobei ein QTL auf Chromosom 7B höchstwahrscheinlich das Hauptresistenzgen *Pm5* des Winterweizens repräsentiert. In derselben Kreuzung konnten acht QTL für eine Braunrost-Resistenz von MESSMER et al. (2000) analysiert werden. Bei der Gerste wurden ebenfalls Resistenz-QTL gegen Mehltau (Heun 1992, Backes et al. 1995, 1996) und gegen Braunrost (KICHERER et al. 2000) gefunden.

Bei einer QTL-Analyse wird durch die Zerlegung der quantitativen Merkmale in Komponenten der Mendel'schen Vererbung versucht, möglichst viele beteiligte Gene, welche für die Ausprägung des quantitativen Merkmals verantwortlich sind, zu erfassen. Die Vererbung der quantitativen Merkmale folgt prinzipiell den Mendel'schen Regeln (FALCONER 1984), worauf auch das von JOHANNSEN (1913) entwickelte Modell beruht, welches unter der Annahme gleicher Effekte aller Einflüsse einer Normalverteilung der Merkmalshäufigkeiten entsprach. Da auch die Umwelt bzw. die Wechselwirkungen zwischen Umwelt und Genotyp für die Merkmalsausprägung ausschlaggebend sind, muss auch die Varianz eines Merkmals in entsprechende Faktoren zerlegt werden (FALCONER 1984). Die meisten Arbeiten über die Lokalisierung von QTL zeigen, dass grosse Unterschiede in der Ausprägung eines Merkmals in verschiedenen Umwelten bestehen, wodurch sich häufig QTL in nur einer Umwelt detektieren lassen. Dieser Effekt wird als Genotyp-Umwelt-Interaktion bezeichnet (FALCONER 1984, LYNCH und WALSH 1998, BRANCOURT-HULMEL 1999). Die Abschätzung von QTL erfolgt über statistische Methoden, bei welchen Assoziationen zwischen einem Marker und einem phänotypischen Merkmal bestimmt werden. Anhand von Markerbonituren wird eine für das betreffende Merkmal spaltende Nachkommenschaft einer Kreuzung in verschiedene Genotypklassen eingeteilt. Mittels korrelativer statistischer Verfahren wird berechnet, ob sich die jeweiligen Genotypklassen im Vergleich der Mittelwerte der phänotypischen Merkmale signifikant unterscheiden. Ist dies der Fall, so besteht eine Kopplung zwischen den merkmalsrelevanten Genen und den betreffenden Markerloci, mit denen die Nachkommenschaft unterteilt wurde (TANKSLEY 1993, KEARSEY und HYNE 1994, Kearsley 1997). Einen Überblick zur QTL-Analyse mit molekularen Markern zeigt die Abbildung 2.

Der einfachste Ansatz, um eine Assoziation zwischen einem Merkmal und einem Marker zu bestimmen, ist die lineare Berechnung mit einem t-Test oder eine Varianzanalyse. Der t-Test ist allerdings nur für zwei mögliche Markergenotypen durchführbar, wohingegen mit einer ANOVA ('**A**nalysis of **V**ariance') auch Analysen an Nachkommenschaften mit heterozygoten Individuen bzw. Linien möglich sind. Zudem erlaubt die Methode der Varianzanalyse mit einem statistisch sicheren Ansatz die Analyse von Genotypen in verschiedenen Umwelten (LYNCH und WALSH 1998). Der Nachteil dieser beiden Methoden ist, dass keine exakten Abschätzungen von QTL-Positionen gemacht werden können. Ein erweiterter Ansatz ist die Regressionsanalyse von Markerintervallen, welche sowohl die Untersuchung von Epistasie und QTL-Umwelt-Interaktionen (HALEY und KNOTT 1992) als auch die Lokalisierung eines QTL in einem Intervall zwischen zwei Markern ermöglicht

(WELLER et al. 1988). Durch die Verrechnung mehrerer Markerintervalle sowie deren Wechselwirkungen steigt die statistische Güte der Analyse und die Wahrscheinlichkeit, zwei verschiedene QTL zu detektieren, die durch ein Intervall getrennt sind, erhöht sich. Auch der Ansatz der 'Maximum Likelihood'-Methode hat die Kartierung von Markerintervallen zum Ziel, welche auf dem Vergleich von beobachteten Merkmalsdaten mit einer theoretischen Verteilung beruht. Über eine iterative Veränderung der Verteilungsparameter wird eine theoretische Verteilung mit einer maximalen Wahrscheinlichkeit der Übereinstimmung mit der beobachteten Verteilung berechnet (LANDER und BOTSTEIN 1989). Die statistische Sicherheit der Lokalisierung wird durch die Berechnung des 'Logarithm of Odds' (LOD) überprüft. Dieser Wert ist der dekadische Logarithmus aus dem Verhältnis zwischen maximalem Likelihood und der Likelihood unter der Annahme der Abwesenheit eines QTL an der entsprechenden Position. Die Möglichkeit, dass ein falsch positiver QTL detektiert wird, nimmt allerdings mit der Anzahl der untersuchten Markerintervalle zu. Um diesen Effekt zu begrenzen, wurde der LOD-Schwellenwert für die Annahme einer Kopplung eines Markers zum QTL von LANDER und BOTSTEIN (1989) adaptiert. Als Nachteile dieser Methode sind zu sehen, dass die Merkmale normalverteilt sein müssen und dass für die komplexen Iterationsschritte viel Rechnerkapazität benötigt wird (LYNCH und WALSH 1998). Eine Verbesserung der Intervallkartierung wird durch das Einbeziehen von Markern als Kofaktoren erreicht (JANSSEN und STAM 1994). Dieser Ansatz wird als 'Composite Interval Mapping' (CIM) bezeichnet und erhöht die Effizienz der QTL-Detektion (JANSSEN und STAM 1994, UTZ und MELCHINGER 1994). CIM erzielt eine bessere Auflösung, wodurch auch die Detektion von gekoppelten QTL möglich ist. Durch die Kombination der multiplen Regression (HALEY und KNOTT 1992) mit den Vorteilen der CIM-Analyse entwickelten UTZ und MELCHINGER (1994) das Computerprogramm PLABQTL für die QTL Kartierung. In einem Vergleich der Methode des 'Simple Interval Mapping' (SIM) und dem 'Simple Composite Interval Mapping' (sCIM) konnten TINKER und MATHER (1995) die Überlegenheit der Kartierung mit Kofaktoren zeigen. Nachteile ergaben sich für die Anwendung von sCIM in Untersuchungen mit mehreren Umwelten sowie bei Anwesenheit zweier QTL in Repulsion. Die Autoren empfahlen daher, zuerst QTL mit SIM zu detektieren und danach die genauere Kartierung über die Anwendung von CIM durchzuführen.

Das übergeordnete Ziel einer QTL-Analyse ist die Entwicklung von Methoden, die für eine markergestützte Selektion in der praktischen Pflanzenzüchtung zur Verbesserung von quantitativen agronomischen Merkmalen, wie z. B. der dauerhaften Resistenz gegen *S. nodorum*, einsetzbar sind (YOUNG 1996). Um Eingang in die züchterische Praxis zu finden, sollten die molekular kartierten QTL einen hohen Anteil an phänotypischer Varianz erklären, eine enge Kopplung zu einem Marker aufweisen und in verschiedenen genetischen Hintergründen als auch in verschiedenen Umwelten stabil bleiben (TANKSLEY 1993).

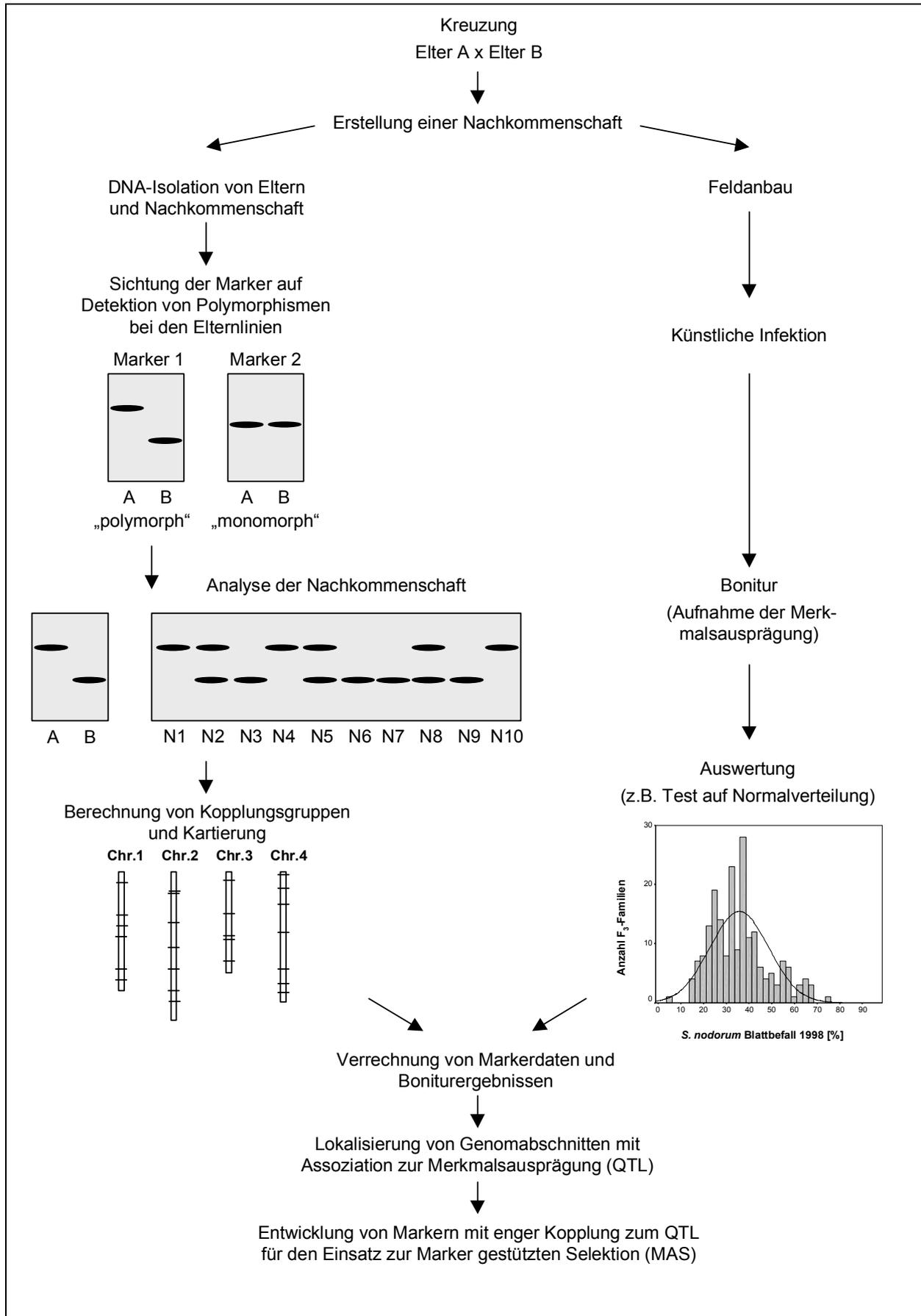


Abbildung 2: Überblick zur QTL-Analyse mit molekularen Markern.

LANDE und THOMPSON (1990) haben gezeigt, dass eine 'Marker Assisted Selection' (MAS) nützlich ist, um quantitative Merkmale zu verbessern. Bei der Selektion von Tomatenlinien aus einer Kreuzung mit einer Wildtomate zur Steigerung der quantitativ ausgeprägten Salztoleranz fanden MONTFORTE et al. (1996) eine MAS, insbesondere im Selektionsschritt von F₃ nach F₄, sehr effektiv. Allerdings zeigte MAS in einem Maiszüchtungsprogramm keinen grösseren Effekt als die konventionelle Selektion (STROMBERG et al. 1994). Mittels eines Simulationsprogramms zeigten CHARMET et al. (1999), dass die Genauigkeit der QTL-Lokalisierung stark die Selektionseffizienz beeinflusst und ein rekurrentes Kreuzungsprogramm zu bevorzugen ist, um viele QTL zu akkumulieren. Das Vertrauensintervall der QTL-Lokalisierung beeinflusst sehr die Grösse der zur Selektion notwendigen Population. Bei einem nicht ungewöhnlichen Vertrauensintervall von 30 cM eines QTLs mit moderater Heritabilität, welcher in einer praxisüblichen Populationsgrösse von 200 Linien detektiert worden ist, lassen sich nur schwer mehr als drei oder vier segregierende QTL in einem Generationsschritt in einer Linie vereinigen. Die Durchführung von zwei Selektionszyklen mit Populationsgrössen von 200 Linien scheinen dabei genauso effektiv zu sein wie ein Zyklus mit 4000 Linien.

Für eine Lokalisierung von QTL als auch eine allgemeine Genomanalyse ist eine grosse Zahl von Markern notwendig, um eine möglichst gute Genomabdeckung zu erzielen und um eng gekoppelte Marker zu finden, die eine genaue Detektion von QTL ermöglichen. In klassischen genetischen Analyse wurden hauptsächlich morphologische Marker, wie die Samenfarbe oder die Wuchsform, und biochemische Marker, wie die Isoenzyme oder Speicherproteine, eingesetzt. SAX (1923) konnte das Merkmal der Samengrösse mit dem morphologischen Marker Samenfarbe in Zusammenhang bringen, welches der Beginn für die markergestützte Identifizierung von quantitativ vererbten Merkmalen war. Beim Weizen wurden die genetischen Studien mit morphologischen Markern aufgrund seines allohexaploiden Charakters stark behindert, weil die phänotypische Expression rezessiver Gene manchmal durch Allele auf den Homoeoloci der beiden anderen Genome maskiert wird. Zudem treten wegen der geringen Anzahl an morphologischen Markern und der hohen Anzahl von Kopplungsgruppen (21 Chromosomen) Kopplungen zwischen diesen Markern nur selten auf (GALE et al. 1990). Auch die Zahl an verfügbaren Isoenzymen und Speicherproteinen als biochemische Marker ist relativ gering, weswegen sie in der Pflanzenzüchtung nur in geringem Umfang zur Selektion eingesetzt werden (TANKSLEY 1983).

Mit der Entwicklung der molekularen Marker zu Beginn der achtziger Jahre war es nun möglich auf der DNA-Ebene eine fast unbegrenzte Anzahl von Markern zu generieren. Darüber hinaus zeichnen sich molekulare Marker durch einige weitere Vorteile aus:

- Nachweisbarkeit in allen Entwicklungsstadien und in allen Pflanzengeweben
- geringe oder fehlende Umweltabhängigkeit
- teilweise kodominante Vererbung mit häufiger multipler Allelie (RFLP, SSR)

Nach der Entdeckung der Restriktionsendonukleasen (ARBER und LINN 1969) entwickelte SOUTHERN (1975) eine analytische Methode, bei der genomische DNA mit Restriktionsenzymen geschnitten und die erhaltenen Fragmente nach gelelektrophoretischer Auftrennung auf einer Nylonmembran fixiert wurden. Mit radioaktiv markierten DNA-Sonden (DNA-Fragmente) konnten durch Hybridisierung mit den entsprechenden komplementären DNA-Fragmenten auf der Nylonmembran einzelne Fragmente detektiert werden. Unterscheiden sich die detektierten Positionen zweier Genotypen aufgrund der unterschiedlichen Laufweite, bedingt durch die unterschiedliche Grösse der DNA-Fragmente,

spricht man von einem **Restriktions-Fragmentlängen-Polymorphismus** (RFLP). Die einem RFLP zugrundeliegenden unterschiedlichen DNA-Fragmentlängen entstehen durch Insertionen, Deletionen, Inversionen, Duplikationen oder Translokationen der DNA-Sequenzen zwischen Schnittstellen der Restriktionsenzyme oder durch Punktmutationen innerhalb einer Schnittstelle. MILLER und TANKSLEY (1990) fanden eine positive Korrelation zwischen der Anzahl von RFLPs und der durchschnittlichen Grösse der Restriktionsfragmente und werteten dies als Indiz, dass Insertionen und Deletionen die Hauptursache für Polymorphismen sind. Mittlerweile sind Untersuchungen mit RFLPs an den meisten Kulturpflanzen für die unterschiedlichsten Merkmale durchgeführt worden. Für die Züchtungsforschung bildete die Entwicklung von RFLP-Genomkarten ein Hauptziel, um Züchtungsprogramme effektiver zu gestalten oder um sie für eine kartengestützte Genisolierung und damit für eine Aufklärung von Genfunktionen zu nutzen (BECKMANN und SOLLER 1986). Die ersten RFLP-Karten für pflanzliche Genome wurden für Tomate (BERNATZKY und TANKSLEY 1986, BONIERBALE et al. 1988) und Mais (HELENTJARIS et al. 1986a) publiziert. Bei den Getreiden wurden die meisten Arbeiten für Gerste (GRANER et al. 1994, KLEINHOFs et al. 1994) und Weizen (ANDERSON et al. 1992, DEVOS et al. 1993b, GALE et al. 1995), als den beiden wichtigsten Arten, durchgeführt. Für die Genomanalyse von Weizen mittels RFLP ergeben sich zwei Hauptprobleme, welche die Kartierung erschweren. Zum einen besitzt der Saat- oder Brotweizen mit $1,6 \times 10^9$ Basenpaaren eines der grössten Genome der Kulturpflanzen überhaupt und zum anderen sind Polymorphismen mittels RFLP im Durchschnitt von nur 10% nachzuweisen, was wahrscheinlich an der vergleichsweise jungen Evolution des Weizens liegt (RÖDER et al. 1998). Deswegen wird dazu übergegangen, Mikrosatelliten-Marker (SSRs) einzusetzen, die einen höheren Grad an Polymorphie beim Weizen aufdecken (RÖDER et al. 1995) und zudem informativer sind (WU und TANKSLEY 1993). Einen weiteren Einsatz fanden die RFLP-Marker auch in der vergleichenden Kartierung, bei der orthologe Loci in verschiedenen Genomen mit denselben Markern untersucht wurden. Damit konnten Verwandtschaftsbeziehungen zwischen verschiedenen Arten oder Syntäniebeziehungen zwischen Genomen innerhalb der Pflanzenfamilien der *Solanaceae* und *Poaceae* auf molekularer Ebene analysiert werden. Dabei zeigte sich eine weitgehend konservierte Anordnung der Gene zwischen den Genomen von Tomate und Kartoffel (BONIERBALE et al. 1988). Die vergleichende Kartierung von Weizen und Roggen (DEVOS et al. 1993a) zeigte, dass bis auf das Chromosom 1R alle Chromosomen des Roggens Translokationen aufweisen, wobei jedoch die Kollinearität der Marker innerhalb eines translozierten Segments zwischen den beiden Genomen konserviert ist. Eine deutlich ausgeprägte Kollinearität konnte auch zwischen den Genomen von Gerste und Weizen festgestellt werden (DEVOS und GALE 1993a; MARINO et al. 1996). Der mosaikartige Aufbau der Genome der *Poaceae* bzw. *Gramineae* aus syntänen Segmenten (MOORE et al. 1995) ermöglicht der kartengestützten Genisolierung neue Wege, indem zur Klonierung von Genen, welche ursprünglich in grossen Genomen wie z.B. von Weizen, Gerste oder Mais identifiziert wurden, auf kleinere Genome wie z.B. Reis ausgewichen werden kann. Als weiteres können auch 'Single-Copy-Sequenzen' eines Genoms 'Single-Copy-Sequenzen' eines anderen Genoms detektieren, was SAGHAI MAROOF et al. (1996) bei Gerste und Reis festgestellt haben und somit für die Kartierung Marker aus anderen Genomen genutzt werden können.

Mit der Amplifizierung von spezifischen DNA-Fragmenten durch die von MULLIS und FALOONA (1987) entwickelte PCR-Reaktion ('Polymerase Chain Reaction') in Verbindung mit genotypabhängigen PCR-Fragmentlängen war es möglich, neue Markermethoden auf molekularer Ebene zu entwickeln. Die wesentlichen Vorteile von PCR basierten Markern bestehen darin, dass die vergleichsweise einfach durchzuführenden Analysen nur geringe DNA-Mengen benötigen, wodurch auch Einzelpflanzen in einem frühen Entwicklungsstadium untersucht werden können. Da auch grosse Probenzahlen in kurzer Zeit analysiert werden können, eignen sich PCR basierte Marker ideal für eine markergestützte Selektion in

einem Zuchtprogramm. Dem entgegen stehen die sehr hohen Entwicklungskosten der Marker als auch die hohen Analysekosten der einzelnen Untersuchungsproben, weswegen der Einsatz von PCR-Markern für kleinere und mittlere Züchter noch nicht rentabel ist.

Bei den Mikrosatelliten handelt es sich um einfache, sich tandemartig wiederholende DNA-Sequenzen von Mono-, Di-, Tri-, Tetra- oder Pentanukleotiden, weswegen sie auch 'Simple Sequence Repeats' (SSR) heissen. Der Begriff Mikrosatelliten wurde von den von JEFFREYS et al. (1985) erstmals beschriebenen Minisatelliten abgeleitet. Beide Markerarten repräsentieren hochvariable Genombereiche, wobei die 'Repeats' von Mikrosatelliten mit zwei bis acht Basenpaaren kleiner sind als die der Minisatelliten mit 16 bis 24 Basenpaaren. Die Variabilität kommt durch die unterschiedliche Anzahl der 'Repeats' in den verschiedenen Genotypen zustande, weswegen die beiden Markerklassen auch unter dem Oberbegriff VNTR ('Variable Number of Tandem Repeats') zusammengefasst werden. Die vorrangige Methode Mikrosatelliten zu analysieren besteht darin, die flankierende Bereiche, welche meist hoch konserviert sind, als Primerbindungsstellen in einer PCR-Reaktion einzusetzen. Die amplifizierte Mikrosatellitensequenzen werden dann mittels Gelelektrophorese ihrer Grösse nach aufgetrennt und können dann auf vorhandene Längenpolymorphismen, aufgrund der unterschiedlichen Anzahl von 'Repeats', überprüft werden (WEBER und MAY 1989). Für die Entwicklung von Mikrosatellitenprimern werden mit synthetischen Oligonukleotiden, die aus entsprechenden 'Repeats' bestehen, Genbanken gesichtet, daraus positive Klone isoliert, diese sequenziert und schliesslich aus den flankierenden Bereichen PCR-Primer synthetisiert. Die Charakterisierung von Mikrosatelliten in Pflanzengenomen wurde zuerst an tropischen Baumarten und Mais (CONDIT und HUBBELL 1991) durchgeführt. In dieser Studie wurden AC- und AG-Repeats mit einer Häufigkeit von 5×10^3 bis 3×10^5 pro Genom detektiert, wobei AG-Sequenzmotive häufiger als AC-Wiederholungen auftraten. Die Verwendbarkeit von Mikrosatelliten als Marker beruht im wesentlichen auf ihrer gleichmässigen Verteilung im pflanzlichen Genom (ZHAO und KOCHERT 1993, JARNE und LAGODA 1996) als auch auf ihrem Potential im Auffüllen von Lücken bestehender RFLP-Karten (WU und TANKSLEY 1993). Die besondere Attraktivität von Mikrosatelliten besteht in ihrem hohen Informationsgehalt, welcher sich zum einen aus der Anzahl und Häufigkeit der detektierten Allele und zum anderen aus der in der Regel kodominanten Vererbung zusammensetzt. In Gerste wurden zwei Mikrosatellitenloci beschrieben (SAGHAI MAROOF et al. 1994), die eine Ausprägung von 37 bzw. 28 Allelen zeigten. PLASCHKE et al. (1995) befanden einen Satz von 23 Mikrosatelliten für ausreichend, um in einem Sortiment von genetisch relativ eng verwandten Weizensorten eine Differenzierung der Sorten sowie eine Stammbaumanalyse durchzuführen. Zudem lässt sich mit Mikrosatelliten im Vergleich zu RFLP-Markern ein bis zu zehnmal höherer Anteil von Polymorphie nachweisen (WU und TANKSLEY 1993), was insbesondere bei der Analyse von hexaploidem Weizen mit seinem geringen Polymorphiegrad wichtig ist (RÖDER et al. 1995). Ein wesentlicher Punkt für die Entwicklung von Mikrosatelliten-Markern ist deren direkte Verwendbarkeit für eine markergestützte Selektion in der Züchtung. Die Kopplung eines Mikrosatelliten mit einem Resistenzgen konnte erstmals von YU et al. (1994) gezeigt werden. Ein '(AT)₁₅-Repeat', das innerhalb eines Hitzeschockgens lokalisiert ist, liegt 0,5 cM von dem Gen *Rsv* entfernt, welches Resistenz gegenüber dem Sojabohnenmosaikvirus vermittelt. KORZUN et al. (1998) fanden einen Mikrosatelliten für bisher drei charakterisierte Allele des Verzweigungsgens *Rht8* im Weizen. Der Mikrosatelliten-Marker ist diagnostisch über ein grosses Sortiment von Weizensorten verschiedener Herkünfte aus aller Welt und wurde zur Stammbaumanalyse des *Rht8*-Gens in den Weizensorten der Zuchtstammbäume von Mittel- und Nordamerika sowie Mittel- und Osteuropa eingesetzt. Mikrosatelliten-Marker wurden bereits bei Gerste (BECKER und HEUN 1995, LIU et al. 1996), Reis (PANAUD et al. 1996), Mais (TARAMINO und TINGEY 1996) und Weizen (RÖDER et al. 1998) in bestehende Kopplungskarten integriert. Bei diesen Untersuchungen wurde jeweils von einer gleichmässigen Abdeckung des Genoms berichtet,

obwohl auch Anzeichen von Clusterbildungen beobachtet werden konnten (LIU et al. 1996). Da die Entwicklung von Mikrosatelliten-Primern insbesondere beim hexaploiden Weizen sehr arbeitsintensiv ist (RÖDER et al. 1998), werden Mikrosatelliten meist ergänzend als sogenannte "Ankermarker" zu den RFLP-Markern und zunehmend auch AFLP-Marker zur Genomabdeckung für eine Kartierung eingesetzt.

Die von VOS et al.(1995) publizierte AFLP-Technik ('Amplified Fragment Length Polymorphism') besteht aus zwei selektiven Amplifikationen von Restriktionsfragmenten genomischer DNA und stellt somit eine Verknüpfung der RFLP-Methode mit der PCR-Amplifikation dar. Oligoadaptoren, die mit der restringierten DNA ligiert werden, fungieren als Primerbindungsstellen in der nachfolgenden präselektiven Amplifikation mittels PCR. Durch die eingesetzten Primer, welche in der letzten Nukleotidposition am 3'-Ende variieren, erfolgt in der präselektiven Amplifikation eine erste Auswahl der zu amplifizierenden DNA-Fragmente. In der anschliessenden selektiven Hauptamplifikation werden Primer mit zwei sogenannten "überhängenden" variablen Nukleotiden am 3'-Ende, welche in die Restriktionsfragmente hineinreichen, eingesetzt, wodurch die zweite Selektion erfolgt. In Abhängigkeit der gewählten Restriktionsenzyme, der selektiven Nukleotide der Primer und der Genomgrösse können pro Reaktion 50 bis 200 Fragmente erzeugt werden. Die Option, die Sequenz der selektiven Nukleotide zu permutieren und die Primer frei zu kombinieren, eröffnet theoretisch die Möglichkeit alle Restriktionsfragmente einer Enzymkombination, sofern sie in der PCR amplifizierbar sind, sukzessiv zu erfassen. Jedes amplifizierte Fragment stellt einen potentiellen Marker dar, welcher allerdings anonym ist, d.h. seine Position im Genom ist vollkommen unbekannt. Deswegen ist für eine spezifische Kartierung immer eine Kopplung mit Markern mit bekannter Position, wie z. B. SSR- oder RFLP-Markern, notwendig. Die AFLP-Marker werden bisher meistens als dominante Marker ausgewertet, weswegen sie weniger informativ als die SSR-Marker sind. Es gibt auch Ansätze die AFLP-Marker als kodominante Marker zu analysieren, bei welchen die Fragmentbanden des Elektrophoresegels quantitativ ausgewertet werden unter Abgleich mit den Intensitäten des internen Standards. Die kodominante Auswertung hat sich bisher nicht durchgesetzt, da sie zeitaufwendiger ist und viel Erfahrung braucht. Somit liegt der wesentliche Vorteil der AFLP-Marker in der relativ einfachen Generierung einer grossen Zahl von Markern. THOMAS et al. (1995) haben bei der Tomate durch die Verwendung von 728 Primerkombinationen ungefähr 42 000 AFLP-Loci auf eine Kopplung mit dem Resistenzgen *Cf-9*, welches eine rassen-spezifische Resistenz gegen *Cladosporium fulvum* verleiht, überprüft. Durch die Analyse von Cosmidklonen, welche die *Cf-9*-Region umspannen, konnte gezeigt werden, dass zwei von drei kosegregierenden AFLP-Markern das *Cf-9*-Gen mit einer Intervalllänge von 15,5 kb flankieren, womit sich die Eignung von AFLP-Markern zur Selektion von eng gekoppelten DNA-Regionen belegen liess. Bei der Kartierung eines von einem AFLP-Marker konvertierten STS-Markers fand SCHWARZ (2000) keine Abweichung zum ursprünglichen AFLP-Marker, was die Eignung für eine exakte Kartierung von AFLP-Markern zeigte. Bei der Gerste konnten SCHWARZ et al. (1999a) AFLP-Marker in Kombination mit *Mla*-spezifischen NILs erfolgreich einsetzen, um für ein 'chromosome landing' des *Mla*-Locus eng gekoppelte Marker zu finden. GOODWIN et al. (1998) fanden bei Weizen einen AFLP-Marker, der mit einem Resistenzgen gegen *Septoria tritici* gekoppelt ist. Durch die Verwendung von Primern, die mit den Fluoreszenzfarbstoffen 5-FAM (Blau), JOE (Grün) und TAMRA (Gelb) an ihrem 5'-Ende markiert sind, kann die Effizienz der AFLP-Markeranalyse erheblich gesteigert werden, da simultan drei unterschiedlich markierte AFLP-Proben in einer Gelbahn mittels eines Lasers detektiert werden können. Zudem ergab ein Vergleich mit einer konventionellen, radioaktiven Methode ein höheres Auflösungsvermögen, wodurch sich die Anzahl unterscheidbarer Banden deutlich erhöhte (SCHWARZ et al. 1999b). Fluoreszenz-markierte AFLP-Marker kamen bei der Kartierung von Weizen (SCHWARZ et al. 2000) und Gerste (HERZ 2000) zum Einsatz. HARTL et al. (1998, 1999) konnten diagnostische Marker

für die Mehlauresistenzgene *Pm1c*, *Pm4a* und *Pm4b* identifizieren, welche auf fluoreszenzmarkierten AFLPs basierten.

Neben den schon vorgestellten PCR basierten Microsatelliten- und AFLP-Markern findet die PCR-Technik auch Anwendung in der Konvertierung von RFLP-Markern in STS-Marker ('Sequence Tagged Site'). Um die notwendigen Primer für die STS-PCR zu entwickeln, werden die mittels Sequenzierung der RFLP-Marker erhaltenen Sequenzinformationen genutzt, welches D'OVIDIO et al. (1990) für Weizen gezeigt haben. STS-Primer können in gleicher Weise auch aus kartierten cDNAs, RAPD- oder AFLP-Fragmenten abgeleitet werden. Einen diagnostischen STS-Marker konnten TALBERT et al. (1996) aus einem RAPD-Marker für ein Resistenzgen gegen das Streifenmosaikvirus entwickeln. MOHLER und JAHOOOR (1996) gelang dies aus einem RFLP-Marker für das Resistenzgen *Pm2* gegen Mehltau (*Erysiphe graminis f. sp. tritici*) und wiesen unterschiedliche Allele mit allelspezifischen STS-Primern nach. Der Nachweis unterschiedlicher STS-Allele kann auch durch Insertionen bzw. Deletionen (GRANER et al. 1996) oder durch die Restriktion von PCR-Produkten ('Cleaved Amplified Polymorphic Sequence' (CAPS), TALBERT et al. (1996)) erfolgen.

Zur Erzeugung von RAPD-Markern ('Random Amplified Polymorphic DNA') werden einzelne Oligonukleotidprimer mit zufälliger Sequenz in einer gering-stringenten PCR-Reaktion eingesetzt. Diese von WILLIAMS et al. (1990) und WELSH und MCCLELLAND (1990) erstmals beschriebene Methode bietet den Vorteil der schnellen Erzeugung von Universalprimern, mit denen in kurzen Zeiträumen genetische Analysen durchgeführt werden können (DEVOS und GALE 1992, Übersicht: WILLIAMS et al. 1993). Als wesentliche Nachteile sind die instabilen Reaktionen (ELLSWORTH et al. 1993) als auch eine nur durch strikte Standardisierung aller Reaktionsparameter erreichbare Reproduzierbarkeit zu nennen (PAMMI et al. 1994). Zudem werden RAPD-Marker dominant vererbt, weswegen sie bei der Kartierung von F₂-Nachkommenschaften nur einen geringen Informationswert besitzen bei gleichzeitiger schlechter Übertragbarkeit auf andere Kartierungspopulationen. Eine Erhöhung der Stabilität und Übertragbarkeit erzielt man durch die Konvertierung eines RAPD-Markers in einen STS-Marker, welcher dann meistens als SCAR-Marker ('Sequence Characterised Amplified Region') bezeichnet wird. CHAO et al. (2001) entwickelte einen SCAR-Marker aus einem RAPD-Marker, welcher mit einem Resistenzgen gegen *Septoria nodorum* bei Durumweizen gekoppelt war.

Ziel dieser Arbeit war es, mittels molekularer Marker QTL für Resistenz gegen Blatt- und Spelzenbräune zu lokalisieren und eventuell eng gekoppelte Marker für eine markergestützte Selektion zu finden. Die wesentlichen Schritte dazu waren:

- Untersuchung von RFLP-, SSR- und AFLP-Markern auf Polymorphie zwischen den Eltern der Kreuzungen 'Apollo' × 'G18/ 90' und 'Piko' × 'Euris'
- Analyse der Kreuzungspopulationen mit den informativen Markern
- Berechnung von Kopplungsgruppen
- Regressionsanalyse einzelner Marker und Abschätzung von QTL-Positionen innerhalb der Kopplungsgruppen

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Material

2.1.1 Pflanzenmaterial

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei Kreuzungsnachkommenschaften sowie deren Elternlinien untersucht (Tabelle 3 und 4). Die Nachkommenschaft der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' umfasst 200 sogenannte F₃-Familien und wurde von dem INSTITUT FÜR RESISTENZGENETIK der BUNDES-FORSCHUNGSANSTALT FÜR ZÜCHTUNGS-FORSCHUNG in Grünbach erstellt. Der Kreuzungselter 'Apollo' ist ein C-Winterweizen (Sonstiger Weizen) und war bis 1999 in der Bundessortenliste zugelassen. Er war als mittel anfällig für Spelzenbräune eingestuft und mit einem mittleren Tausendkorngewicht (TKG) sowie einer mittleren bis hohen Kornzahl pro Ähre, woraus ein mittlerer bis hoher Kornertrag resultiert, charakterisiert. Bei dem Kreuzungselter 'G18/90' handelt es sich um einen resistenten Weizenzuchtstamm des INSTITUTS FÜR RESISTENZGENETIK und ist aus der Kreuzung der Weihenstephaner Linie 'Whst. 1021/74' mit der Weizensorte 'Arina' hervorgegangen.

Tabelle 3: Beschreibung der Elternlinien und Kreuzungspopulation der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'

<p><i>Elternlinien</i></p> <p style="text-align: center;">Apollo</p> <ul style="list-style-type: none"> - C-Qualität (Sonstiger Weizen) - bis 1999 zugelassene Sorte der Bundessortenliste - mittlerer bis guter Kornertrag - niedrige bis mittlere Bestandesdichte - mittel anfällig für Spelzenbräune 	<p style="text-align: center;">G18/90</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>S. nodorum</i> resistenter Zuchtstamm - hervorgegangen aus der Kreuzung 'Whst. 1021/74' × 'Arina' - sehr gering anfällig für Spelzenbräune
<p><i>Kreuzungspopulation</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - 200 F₃-Familien - angebaut 1998 und 1999 in Grünbach - 1999 zusätzlich an zwei Züchterstandorten angebaut - zweimalige künstliche Infektion 	

Die Nachkommenschaft der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' besteht aus 190 rekombinanten Inzuchtlinien (RIL) der F₄-Generation und wurde von der BAYERISCHEN LANDESANSTALT FÜR BODENKULTUR UND PFLANZENBAU erstellt. Der Elter

'Piko' ist eine aktuell zugelassene B-Winterweizensorte (Brotweizen) der Bundessortenliste. Er ist generell wenig anfällig für die üblichsten Weizenkrankheiten und mit einer geringen Anfälligkeit für Spelzenbräune als der „resistente“ Elter in der genannten Kreuzung zu sehen. Darüber hinaus ist er mit einer mittleren bis hohen Bestandesdichte, allerdings mit einem niedrigen Tausendkorngewicht, was zu einem mittleren Kornertrag führt, charakterisiert. Der Elter 'Euris' war bis 1997 als A-Winterweizen (Qualitätsweizen) in der Bundessortenliste zugelassen. Mit einer mittleren Anfälligkeit für Spelzenbräune ist er als der „anfällige“ Elter in der Kreuzung zu sehen. Er ist weiterhin mit einer mittleren Bestandesdichte und einem mittleren Tausendkorngewicht, woraus ein mittlerer Kornertrag resultiert, charakterisiert.

Tabelle 4: Beschreibung der Elternlinien und Kreuzungspopulation der Kreuzung 'Piko' × 'Euris'

<p><i>Elternlinien</i></p> <p style="text-align: center;">Piko</p> <ul style="list-style-type: none"> - B-Qualität (Brotweizen) - zugelassene Sorte der Bundessortenliste - mittlerer bis guter Kornertrag - hohe Bestandesdichte - gering anfällig für Spelzenbräune 	<p style="text-align: center;">Euris</p> <ul style="list-style-type: none"> - A-Qualität (Qualitätsweizen) - bis 1997 zugelassene Sorte der Bundessortenliste - mittlerer Kornertrag - mittlere Bestandesdichte - mittel anfällig für Spelzenbräune
<p><i>Kreuzungspopulation</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - 190 Individuen - Rekombinante Inzuchtlinien (RIL) der F₄-Generation - angebaut 1998 und 1999 in Freising/ Pettenbrunn <li style="padding-left: 40px;">in zwei Wiederholungen - zweimalige künstliche Infektion 	

2.1.2 Feldanbau, künstliche Infektion und Bonitur

2.1.2.1 Kreuzung 'Apollo' x 'G18/ 90'

Eltern und Nachkommenschaft der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90' wurden in den Jahren 1998 und 1999 in Grünbach sowie 1999 an den zwei Züchterstandorten der SAATZUCHT HADMERSLEBEN GmbH in Hadmersleben und der LOCHOW-PETKUS GmbH in Bergen auf dem Feld angebaut. Die künstliche Infektion erfolgte an zwei Terminen vor und nach dem Ährenschieben mit einem aktuellen Isolatgemisch, welches jeweils im vorherigen Jahr auf dem Feld entnommen worden war. Die gewonnenen Sporen aus den isolierten *Septoria nodorum* Kulturen wurden vor dem Ausbringen auf Keimfähigkeit geprüft, um das Infektionspotential der Sporen zu gewährleisten. Die Sporenlösungen wurden von oben auf die Weizenpflanzen gesprüht, um eine gute und gleichmässige Inokulation der Ähre und der Fahnenblätter zu bekommen. Der prozentuale Befall der Ähre, des Fahnenblattes und des Fahnenblattes minus eins wurde an drei Terminen noch möglichst vor dem Einsetzen der natürlichen Abreife bonitiert. Als Gesamtboniturwert für die Fahnenblätter wurden die Werte von Fahnenblatt und Fahnenblatt minus eins addiert mit doppelter Gewichtung des Fahnenblattes, aufgrund der grösseren Bedeutung des Fahnenblattes für die Kornfüllung (WALTHER und BÖHMER 1992). Als weiteres wurde am Standort in Grünbach der Zeitpunkt des Ährenschiebens aufgenommen und die Pflanzenhöhe (Halmlänge) gemessen.

2.1.2.2 Kreuzung 'Piko' x 'Euris'

Eltern und Kreuzungspopulation der Kreuzung 'Piko' x 'Euris' wurden in zwei Wiederholungen auf dem Versuchsfeld der BAYERISCHEN LANDESANSTALT FÜR BODEN-KULTUR UND PFLANZENBAU in Freising/ Pettenbrunn in den Jahren 1998 und 1999 angebaut. Der Anbau erfolgte in einer Blockanlage mit einer Teilrandomisierung, indem bei der zweiten Wiederholung zuerst die Linien mit den ungeraden Feldnummern und dann die mit den geraden Feldnummern angebaut wurden. Die Weizenpflanzen wurden einige Tage vor, sowie einige Tage nach dem Ährenschieben mit einem Isolatgemisch durch Besprühen von oben infiziert. Beginnend nach ca. drei Wochen erfolgte 1998 an vier Terminen und 1999 an drei Terminen die Bonitur des prozentualen Befalls der Ähre, des Fahnenblattes sowie des Fahnenblattes minus eins. Der vierte Termin von 1998 wurde in der Auswertung nicht berücksichtigt, da zu diesem Zeitpunkt die natürliche Abreife die Bonitur, zumindest der Fahnenblätter, zu stark beeinflusst hatte. Als Gesamtboniturwert für die Fahnenblätter wurden die Werte von Fahnenblatt und Fahnenblatt minus eins addiert mit doppelter Gewichtung des Fahnenblattes, aufgrund der grösseren Bedeutung des Fahnenblattes für die Kornfüllung (WALTHER und BÖHMER 1992). Als weitere Merkmale wurden die Halmlänge und der Zeitpunkt des Ährenschiebens, in Tagen ab dem ersten Mai, bonitiert. Für die Ertragsauswertung wurden ca. 50 Ähren pro Parzelle der Nachkommenschaft geerntet und im Gewächshaus getrocknet. Die Anzahl geernteter Ähren pro Parzelle wurde notiert und nach dem Dreschen das Gesamtkorngewicht dieser Ähren gewogen. Anschliessend wurden mittels eines Zählautomates 200 Körner abgezählt und diese gewogen, womit dann das Tausendkorngewicht berechnet wurde. Das Einzelährengewicht wurde aus dem Gesamtkorngewicht geteilt durch die notierte Anzahl an Ähren pro Parzelle berechnet.

2.2 Chemikalien und Verbrauchsmaterial

Die für die molekularbiologische Markeranalyse verwendeten Chemikalien und Verbrauchsmaterialien sind in der folgenden Tabelle aufgelistet:

Tabelle 5: Chemikalien und Verbrauchsmaterialien

Chemikalie/ Material	Spezifikation	Hersteller
[α - ³² P]dCTP	3000 Ci/mmol	Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala
β -Mercaptoethanol	14,3 M	Roth, Karlsruhe
Acrylamid-Lsg. (50%)	Long Ranger Gel Solution	FMC, Rockland
Agarose MetaPhor	high resolution agarose	FMC, Rockland
Agarose SeaKem		FMC, Rockland
APS		Amresco, Ohio
ATP		Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala
Blockingreagenz		Boehringer, Mannheim
Borsäure	p.a.	Amresco, Ohio
Bromphenolblau		Riedel de Haën, Seelze
BSA	98%	Roth, Karlsruhe
Chloroform	p.a.	Riedel de Haën, Seelze
CTAB	p.a.	Sigma, St. Louis
dATP		Boehringer, Mannheim
dCTP		Boehringer, Mannheim
Dextran-Blau		Fluka, Neu-Ulm
dGTP		Boehringer, Mannheim
DTT	p.a.	Roth, Karlsruhe
dTTP		Boehringer, Mannheim
EDTA	p.a.	Serva, Heidelberg
Essigsäure	konz., p.a.	Riedel de Haën, Seelze
Ethidiumbromid (EtBr)	reinst	Serva, Heidelberg
Ethanol	p.a.	Riedel de Haën, Seelze
Formamid		Amresco, Ohio
Glycerin	99,5%	Roth, Karlsruhe
Harnstoff		Amresco, Ohio
HCl	konz., p.a.	Baker, Phillipsburg
Isoamylalkohol	p.a.	Roth, Karlsruhe
Isopropanol	p.a.	Roth, Karlsruhe
MgCl ₂ ·6H ₂ O	p.a.	Merck, Darmstadt
NaCl	p.a.	Merck, Darmstadt
NaOH	p.a.	Merck, Darmstadt
Natriumcitrat	p.a.	Sigma, St. Louis
Natriumlaurylsarcosin		Sigma, St. Louis
NH ₄ Ac	p.a.	Riedel de Haën, Seelze
SDS	krist., 2x krist.	Serva, Heidelberg
Sephadex-G50	fine	Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala
TEMED		Amresco, Ohio
Tris	krist.	Riedel de Haën, Seelze

2.2.1 Enzyme

Tabelle 6: Enzyme

Enzym	Hersteller
<i>Bam</i> HI	Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala
<i>Eco</i> RI	Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala
<i>Eco</i> RV	Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala
<i>Hind</i> III	Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala
Klenow-Enzym	Boehringer, Mannheim
<i>Mse</i> I	New England Biolabs, Beverly
RNase A	Roth, Karlsruhe
T4-DNA-Ligase	Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala
<i>Taq</i> -DNA-Polymerase	Qiagen, Hilden
<i>Xba</i> I	Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala

2.2.2 Oligonukleotide

Tabelle 7: Oligonukleotide

Bezeichnung	Sequenz (5'-3')
<i>Eco</i> RI-Adaptor a	CTCGTAGACTGCTGACC
<i>Eco</i> RI-Adaptor b	AATTGGTACGCAGTC
<i>Mse</i> I-Adaptor a	GACGATGAGTCCTGAG
<i>Mse</i> I-Adaptor b	TACTCAGGACTCAT
<i>Eco</i> RI+1 Primer	CTGCGTTACCAATTCA ¹
<i>Mse</i> I+1 Primer	GATGAGTCCTGAGTAAC ¹
<i>Eco</i> RI+3 Primer	CTGCGTTACCAATTCANN ²
<i>Mse</i> I+3 Primer	GATGAGTCCTGAGTAACNN ²

¹AFLP-Primer für die präselektive Amplifikation; das selektive Nukleotid ist unterstrichen

²AFLP-Primer für die Hauptamplifikation; die selektiven Nukleotide sind unterstrichen

2.2.3 DNA-Molekulargewichtstandards

Tabelle 8: DNA-Molekulargewichtstandards

λ DNA <i>Hind</i> III [bp]	pBR322 <i>Alw</i> 44I/ <i>Mva</i> I [bp]	GeneScan 500 TAMRA [bp]
23 130	2 617	500
9 416	1 857	490
6 557	1 246	450
4 361	1 058	400
2 322	929	350
2 027	498	340
564	383	300
125	121	250
	13	200
		160
		150
		139
		100
		75
		50
		35
MBI Fermentas	MBI Fermentas	Applied Biosystems

Die externen Standards λ DNA *Hind*III und *pBR*322 *Alw*44I/*Mva*I wurden zur Konzentrationsschätzung von genomischer DNA und zur Kontrolle von PCR-Produkten auf Agarosegelen benutzt. Die internen Längenstandards GeneScan 500 ROX bzw. TAMRA bestanden aus DNA-Fragmenten, welche mit dem Fluoreszenzfarbstoff ROX bzw. TAMRA markiert waren, und wurden für die multifluorophore AFLP- bzw. SSR-Analyse in Polyacrylamidgelen eingesetzt.

2.2.4 Basislösungen

Chloroform/ Isoamylalkohol (24:1)

Chloroform und Isoamylalkohol wurden in den entsprechenden Mengen gemischt und bei RT gelagert.

DNase-freie RNase A (10 mg/ml)

Die entsprechende Menge RNase A wurde in sterilem 10 mM Tris-HCl (pH 7,5) und 15 mM NaCl gelöst, 15 min auf 100°C erhitzt, langsam auf RT abgekühlt, aliquotiert und bei -20°C gelagert.

1 M DTT

Die entsprechende Menge 1,4-Dithiothreitol (DTT) wurde in 10 mM NaAc (pH 5,2) gelöst, sterilfiltriert, aliquotiert und bei -20°C gelagert. 0,5 EDTA (pH 8,0)

Die entsprechende Menge EDTA wurde in 80% des Endvolumens demin. Wasser gelöst, mit NaOH auf einen pH-Wert von 8,0 eingestellt, auf das Endvolumen aufgefüllt und autoklaviert.

EtBr-Lösung (10 mg/ml)

Die entsprechende Menge Ethidiumbromid (EtBr) wurde eingewogen, mit demin. Wasser auf das Endvolumen aufgefüllt, für mehrere Stunden gerührt und im Dunkeln bei +4°C gelagert.

1 M MgCl₂

Die entsprechende Menge MgCl₂·6H₂O wurde in demin. Wasser gelöst und autoklaviert.

3 M NaAc (pH 5,2)

Die entsprechende Menge NaAc wurde in demin. Wasser gelöst, mit konz. Essigsäure auf einen pH-Wert von 5,2 eingestellt und autoklaviert.

5 M NaCl

Die entsprechende Menge NaCl wurde in demin. Wasser gelöst und autoklaviert.

10 N NaOH

Die entsprechende Menge NaOH wurde unter Kühlung in 80% des Endvolumens demin. Wasser gelöst und auf das Endvolumen eingestellt.

1 M Tris·Cl

Die entsprechende Menge 2-Amino-2-(hydroxymethyl)-propan-1,3-diol (Tris) wurde in demin. Wasser gelöst, mit konz. HCl auf den gewünschten pH-Wert eingestellt und autoklaviert.

2.3 Methoden

2.3.1 DNA-Isolierung

1,5x CTAB-Puffer		TE Puffer	
CTAB	1,5 % (w/v)	Tris·Cl pH 8.0	10 mM
Tris·Cl pH 8.0	100 mM	EDTA pH 8.0	1 mM
EDTA pH 8.0	20 mM		
NaCl	1,05 M		
β-Mercaptoethanol	0,21 M		

Die Isolierung der genomischen Weizen-DNA erfolgte in Anlehnung an die CTAB-Methode nach SAGHAI-MAROOF et al. (1984). Vier oder fünf tiefgefrorene Blätter von jungem Weizen wurden in tiefgefrorenen Mörsern mit flüssigem Stickstoff übergossen und fein zermahlen. Die gemahlene Probe wurde mit einem Wägebepapier in mit 10 ml 1,5x CTAB-Lsg. befüllte 50 ml Falcon-Röhrchen überführt, mittels einem Vortex-Schüttler suspendiert und anschliessend für 1,5 h in ein Schüttelwasserbad bei 60 °C gestellt. Nach kurzem Abkühlen auf Eis, wurden 15 ml Chloroform/ Isoamylalkohol zur Probe dazugegeben und für 20 min im Überkopf-Schüttler geschüttelt, um denaturierte Proteine und Zellbestandteile abzutrennen. Zur Phasentrennung wurde bei RT für 35 min bei 3200 U/ min zentrifugiert und anschliessend der wässrige Überstand mit einer Pipette in ein zweites Falcon-Röhrchen überführt. Zu den Probelösungen wurden 20 µl RNase-Lsg. (10 mg/ml) pipettiert und für ca. 20 min bei RT stengelassen, um störende RNA zu beseitigen. Durch Zugabe von 15 ml bei -18 °C vorgekühltem Isopropanol wurde die DNA gefällt und nach kurzem Schütteln zur vollständigen Fällung für 15 min im Kühlschrank stengelassen. Die DNA wurde mit einem Glashaken in 1,5 ml Reaktionsgefässe überführt und nach zweimaligem Waschen mit 75%igem Ethanol (v/v) im Vakuumtrockner leicht angetrocknet. Anschliessend wurde die DNA in 300-500 µl TE-Puffer gelöst und bei -20 °C im Gefrierschrank gelagert.

2.3.2 RFLP-Analyse

2.3.2.1 Restriktion genomischer DNA

Enzym	Schnittstelle	Pufferkonz.	10x Puffer
<i>Bam</i> HI	G*CTAGC	2x	Tris-Acetat (pH 7,5) 100 mM
<i>Eco</i> RI	G*AATTC	2x	Magnesiumacetat 100 mM
<i>Eco</i> RV	GAT*ATC	2x	Kaliumacetat 500 mM
<i>Hind</i> III	A*AGCTT	1x	
<i>Xba</i> I	T*CTAGA	1x	

Die genomische Weizen-DNA wurde mit Restriktionsendonukleasen unter den vom Hersteller empfohlenen Bedingungen in Fragmente unterschiedlicher Grösse gespalten. Für die Restriktion wurden für einen vierfachen Ansatz 10 µg genomische DNA, 3 Units Enzym pro µg DNA, das für das jeweilige Enzym optimale Volumen 10x Puffer und das jeweilige Volumen demin. Wasser für 35 µl Gesamtvolumen in einem 1,5 ml Reaktionsgefäss zusammenpipettiert. Nach dem Durchmischen und Zentrifugieren des Reaktionsansatzes wurde dieser bei 37 °C im Wasserbad für drei Stunden inkubiert. Zur Kontrolle der erfolgreichen Restriktion wurde ein Aliquot des Ansatzes in einem 0,8%igem Agarosegel elektrophoretisch bei 35 Volt über Nacht aufgetrennt.

2.3.2.2 Gelelektrophorese der genomischen Weizen-DNA-Fragmente

TAE-Puffer		10x Beladungspuffer	
Tris-Cl pH 8.0	40 mM	EDTA	250 mM
EDTA	1 mM	Glycerin	40 % (w/v)
		Bromphenolblau	0,03 % (w/v)

An die Restriktion anschliessend wurde die Weizen-DNA in horizontalen 0,8 %igen Agarose-Gelen der Grösse nach aufgetrennt. Die Agarose wurde dazu in TAE-Puffer unter Erhitzen gelöst, nach dem Abkühlen auf ca. 50 °C mit 1 µl pro 20 ml Gellösung 0,02 %iger Ethidiumbromid-Lsg. versetzt und auf vorbereitete Kunststoffträger mit eingesetzten Kämmen gegossen. Nach dem Erstarren des Gels wurden die Gele in mit TAE-Puffer gefüllten Elektrophoresekammern gesetzt und langsam die Kämmen entfernt, wodurch Taschen (engl.: slots) im Gel entstanden. Die 35 µl des Restriktionsansatzes wurden mit 5 µl Beladungspuffer versetzt, gemischt und jeweils in die 'slots' pipettiert. Die Elektrophorese wurde für ca. 15 Stunden über Nacht bei 22 V durchgeführt. Anschliessend wurden die Gele in einer Kammer unter UV-Licht (302 nm) zur Dokumentation fotografiert.

2.3.2.3 Southern-Transfer der elektrophoretisch aufgetrennten Weizen-DNA

Transferpuffer		20x SSC	
NaOH	400 mM	NaCl	3 M
NaCl	600 mM	Natriumcitrat	0,3 M

Die elektrophoretisch aufgetrennten Fragmente der Weizen-DNA wurden nach der Methode von SOUTHERN (1975) aus den Agarose-Gelen auf positiv geladene Nylonmembranen (Pall Biodyne B) transferiert und immobilisiert. Der alkalische Transferpuffer denaturiert die DNA-Fragmente, wodurch die Einzelstränge mittels Kapillarsog vertikal auf die Nylonmembran transferiert wurden. Der DNA-Transfer wurde für ca. 15 Stunden über Nacht durchgeführt. Danach wurden die Membranen mit 2x Natriumsulfonatcitrat (SSC) gewaschen, kurz zwischen Whatman-Papier getrocknet und zur Fixierung der DNA für 2 h bei 80°C in einen Ofen gelegt.

2.3.2.4 Radioaktives Markieren der DNA-Sonden

AGT-Mix		10x Reaktionspuffer	
dATP	1,7 mM	Tris·Cl (pH 7,2)	500 mM
dGTP	1,7 mM	MgCl ₂	100 mM
dTTP	1,7 mM	Dithioerythrit	1 mM
		BSA	0,32 mg/ml
		Hexanucleotide	62,5 A ₂₆₀ /ml

In einem 15 ml 'Save-lock'-Reaktionsgefäß wurden 50 ng Sonden-DNA in einem Thermomixer bei 94°C für 10 min denaturiert. Nach dem Abkühlen auf Eis wurden 3 µl AGT-Mix, 2 µl Reaktionspuffer, 2 U Klenow-Fragment und 1,4 Mbq [α -³²P]dCTP gemischt, mit demin. H₂O auf ein Endvolumen von 20 µl gebracht und 2 h bei 37°C inkubiert. Für das Screening auf nachweisbare Polymorphismen wurde nur der halbe Ansatz eingesetzt. Mittels dem 'Random primed labeling' wird zu den denaturierten Strängen der DNA ein komplementärer Strang durch das Klenow-Fragment der DNA-Polymerase I synthetisiert, bei dem das dCTP radioaktiv markiert ist. Die Hexanukleotide mit zufälliger Sequenz ('Random primer') werden dabei von dem Klenow-Fragment als Startpunkt der Polymerisation benutzt. Die nichteingebauten Nukleotide wurden über Sephadex-G50-Säulen (Pharmacia, Uppsala) abgetrennt. 10 µl markierte Sonden-DNA wurden in die Säule pipettiert und zweimal 400 µl TE-Puffer dazugegeben, wobei der zweite Ablauf aufgefangen wurde zur Messung der spezifischen Aktivität im Szintillationszähler.

2.3.2.5 Hybridisierung der markierten Sonden auf Southern-Blots

Hybridisierungslsg.		Blockierungslsg.	
SSC	5 x	Blockierungsreagenz	10 % (w/v)
Blockierungslsg.	1 x	Maleinsäure	100 ml
Na-Lauroylsarcosin	0,1 % (w/v)	NaCl	150 ml
SDS	0,02 % (w/v)	pH 7,5	
Waschlsg. 1		Waschlsg. 2	
SSC	0,5 x	SSC	0,2 x
SDS	0,1 % (w/v)	SDS	0,1 % (w/v)
Striplsg.		Neutralisationslsg.	
NaOH	0,2 M	Tris-Cl pH 7,5	30 mM
SDS	0,1 % (w/v)		

Der eigentlichen Hybridisierung (16 h, 65°C) ging eine Prähybridisierung (4 h, 65°C) mit 0,025 ml Hybridisierungslsg. pro cm² Membranfläche im Rollinkubator voraus, um unspezifische Bindungsstellen auf der Nylonmembran abzudecken. Im Thermomixer bei 94°C denaturierte DNA-Sonden wurden mit einer spezifischen Aktivität von 1×10⁶ cpm pro ml Hybridisierungslsg. hybridisiert. Unspezifisch gebundene DNA-Sonden wurden mit den Waschlösungen 1 und 2 gewaschen, bis die mit dem β/γ-Monitor gemessene Aktivität ca. 50 cps erreichte. Danach wurden die Membranen kurz zwischen Whatman-Papier getrocknet, in Klarsichthüllen gelegt und in lichtundurchlässige Kassetten mit Verstärkerfolie (Quanta III, DuPont) zusammen mit einem Röntgenfilm (Hyperfilm MP, Amersham) je nach Strahlungsintensität für 4 – 10 Tage bei -70°C exponiert. Nach der Exposition wurden die Membranen zur Rehybridisierung 5 min bei RT erst in Striplsg. und dann in Neutralisationslsg. gewaschen, kurz getrocknet und zur weiteren Verwendung zwischen Whatman-Papier aufbewahrt.

2.3.3 SSR-Analyse

Die Analyse der SSRs erfolgte in Anlehnung an die Protokolle von RÖDER et al. (1995, 1998) mit einer Auswahl von in der Literatur beschriebenen SSR-Primern. Die Primer wurden von der Firma EUROGENIC synthetisiert, wobei ein Primer mit einem der vier Fluoreszenzfarbstoffe HEX (Gelb), TET (Grün), 6-FAM oder Fluorescein (beide Blau) markiert wurde.

2.3.3.1 Reaktionsbedingungen für die PCR von SSR-Markern

10x PCR-Puffer		Nukleotidmix	
KCl	500 mM	dATP	2 mM
MgCl ₂	15 mM	dCTP	2 mM
Tris·Cl pH 8,3	100 mM	dGTP	2 mM
		dTTP	2 mM

Zur Amplifizierung von SSR-Markern wurde die DNA-Polymerase aus *Thermus aquaticus* (Taq-Polymerase, Qiagen) und 50 ng genomische DNA eingesetzt. Die PCR-Primer 'forward' waren mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert. Für das Screening der SSR-Marker auf Polymorphie der Elternlinien wurde folgender Reaktionsansatz benutzt:

PCR-Ansatz		Temperaturprofil		
Genomische DNA	50 ng	Prädenaturierung	94°C	2 min
Nukleotidmix	100 µM			
PCR-Puffer	1 ×	Denaturierung	94°C	10 sec
Primer forward	0,2/ 0,3 µM	Primeranlagerung	50, 55	30 sec
Primer reverse	0,2/ 0,3 µM		o. 60°C	
Taq-Polymerase	1 U	Primerverlängerung	72°C	50 sec
Reaktionsvolumen	20 µl			
		Nachlauf	72°C	15 min

Bei der späteren Analyse der SSR-Marker über die Linien der Nachkommenschaft wurde der Ansatz halbiert, um Biochemiekalorien zu sparen. Für mehrere parallele PCR-Reaktionen wurden alle Komponenten des PCR-Ansatzes, mit Ausnahme der genomischen DNA, zu einem 'Master-Mix' pipettiert und zur Reaktion in einen Thermocycler (PTC 200, MJ-Research) mit beheizten Deckeln gestellt. Die Reaktionen wurden mit der jeweils spezifischen Anlagerungstemperatur der Primer nach obigem Temperaturprofil durchgeführt. Beim Screening der SSR-Marker wurden Blindproben ohne DNA mitgeführt, um die Reaktionskomponenten auf eventuelle Kontaminationen zu kontrollieren. Zur Überprüfung der Amplifizierung wurde von einigen Proben ein Aliquot von 10 µl abgenommen und auf einem 2%igem Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt.

2.3.3.2 Gelelektrophorese mit multifluorophorer Detektion

Polyacrylamidgel (5%ig)

Acrylamid-Lsg.	5 % (v/v)
Harnstoff	6 M
TEMED	0,7 ‰ (v/v)
APS	0,5 ‰ (v/v)
TBE-Puffer	1 x
Gesamtvolumen	25 ml

10x TBE-Puffer

Tris-Cl	0,9 M
Borsäure	0,9 M
EDTA (pH 8,0)	20 mM

Beladungspuffer

Formamid (deionisiert)	83 % (v/v)
Dextran-Blau	0,02 % (w/v)
GeneScan-500 TAMRA	17 % (v/v)

Analyseparameter

Spannung	750 Volt
Stromstärke	60 mA
Leistung	200 Watt
Laserleistung	40 mWatt
Temperatur	51 °C
Laufzeit	1 h

Die Analyse der SSR-Amplifikate nach der PCR erfolgte mittels vertikaler Gelelektrophorese in 5%igen Polyacrylamidgelen (26 cm × 12 cm × 0,2 mm) mit 48 Probenspuren und multifluorophorer Detektion auf einem ABI PRISM™ 377 DNA Sequenzer (PERKIN ELMER). Für die Herstellung der Gellösung wurde entsprechend dem obigen Ansatz Harnstoff in der Acrylamidlg. und demin. Wasser gelöst und mit einem Vacuummembranfilter (0,2 µm, Nalgene) filtriert. Zum Entgasen wurde die Lösung für mindestens 5 min unter Vacuum stehengelassen, um eine spätere Blasenbildung im Gel sowie eine Radikalbildung durch Luftsauerstoff zu vermindern. Zu der entgasten Lösung wurde zuerst das TEMED und dann die 10%ige Ammoniumpersulfat (APS)-Lsg. pipettiert und durch leichtes Umschwenken vermischt. Die mit einer Spritze aufgezogene Lösung wurde mit Hilfe einer Einspritzvorrichtung entsprechend den Herstellerangaben zwischen die Glasplatten gespritzt. Das Gel wurde anschliessend für ca. 1,5 Stunden zur Polymerisation stehengelassen. Vor der Beladung des Geles wurden bis zu sechs verschieden markierte SSR-Amplifikate (je zwei mit HEX, TET oder 6-FAM/ Fluorescein) gemischt und verdünnt, bei ausreichender Differenz der Fragmentgrößen von Amplifikaten mit gleicher Farbstoffmarkierung. Die Anteilsverhältnisse der einzelnen Amplifikate in der Mischung als auch deren Verdünnung erfolgte in Abhängigkeit der einzelnen Amplifikationsqualitäten und der Fluoreszenzintensitäten der Farbstoffe. Es wurden 1,8 µl des verdünnten Probengemisches mit 1,0 µl Beladungspuffer gemischt, bei 94°C für 2 min denaturiert und mittels einer Pipette mit flacher Spitze aufgetragen. Der interne Standard GeneScan-500 TAMRA im Beladungspuffer besteht aus DNA-Fragmenten mit bekannter Grösse, welche mit dem Fluoreszenzfarbstoff ROX (Rot) am 5'-Ende markiert waren. Das Auftragen der Proben erfolgte nach einem Vorlauf ('Prerun') des Geles und Erreichen der Analysentemperatur von 51°C. Die Gelanalyse wurde mit TBE-Puffer über eine Laufzeit von 1 h bei den oben angegebenen Parametern durchgeführt. Die Analyseparameter für den Vor- und Hauptlauf waren in Betriebsprogrammen ('modules') voreingestellt ebenso wie Angaben zu Filterset, Empfindlichkeit (CCD-Gain), Lesegenauigkeit (CCD-Offset) und Leseweite. Die Detektion

der fluoreszenzmarkierten DNA-Fragmente erfolgte mittels eines Argon-Laser/Spektrograph/CCD-Kamera-Systems während des Gellaufes. Unter Verwendung der ABI PRISM™ GENESCAN® Software Version 2.0 (PERKIN ELMER) wurden die Fragmentgrößen semi-automatisch berechnet sowie die Elektropherogramme der einzelnen Gelspuren ausgewertet.

2.3.4. AFLP-Analyse

Die AFLP-Analyse umfasst vier Arbeitsschritte: Restriktion der genomischen DNA bei gleichzeitiger Ligation spezifischer Adaptoren, präselektive Amplifikation der DNA-Fragmente, selektive Hauptamplifikation sowie Analyse der PCR-Produkte mittels Polyacrylamidgelelektrophorese. Die Durchführung erfolgte in Anlehnung an VOS et al. (1995) und nach Angaben des 'AFLP™ Plant Mapping' Protokolls der Firma APPLIED BIOSYSTEMS unter Verwendung von Primern, die mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert waren.

2.3.4.1 Restriktion und Ligation

Ansatz Restriktion/ Ligation (RL)		10x RL-Reaktionspuffer	
Genomische DNA	500 ng	Tris-CL pH 7,5	500 mM
<i>EcoRI</i> -Adaptor	5 pmol	MgCl ₂	100 mM
<i>MseI</i> -Adaptor	50 pmol	DTT	100 mM
<i>EcoRI</i> -Enzym	5 U	ATP	10 mM
<i>MseI</i> -Enzym	1 U	NaCl	500 mM
T4-DNA-Ligase	1 U	BSA	750 µg/ml
RL-Reaktionspuffer	1 x		
Gesamtvolumen	11 µl		

In einem Reaktionsansatz wurden mit den Restriktionsendonukleasen *EcoRI* und *MseI* 500 ng genomische DNA enzymatisch gespalten, bei gleichzeitiger Ligation von doppelsträngigen Adaptoren, welche zu den Enden der entstehenden DNA-Fragmente komplementär waren. Dies war möglich, da durch die Ligation der Adaptoren an die spezifischen Schnittstellen die Erkennungssequenzen für die Restriktionsenzyme nicht wiederhergestellt wurden. Der Restriktions-Ligations-Ansatz wurde bei 37°C für 2 h inkubiert. Die Reaktionsansätze wurden danach mit 189 µl TE_{0,1}-Puffer verdünnt und bei -20°C gelagert.

2.3.4.2 Präselektive Amplifikation

Ansatz für die Präselektive Amplifikation (PA)		Temperaturprofil für PA	
RL-Verdünnung	4 μ l	Prädenaturierung	72°C 2 min
<i>Eco</i> RI+1-Primer	50 ng	Denaturierung	94°C 15 sec 20 Zyklen
<i>Mse</i> I+1-Primer	50 ng		
Nukleotid-Mix	200 μ M		
<i>Taq</i> -DNA-Polymerase	0,4 U	Primeranlagerung	56°C 30 sec
PCR-Puffer	1 x	Primerverlängerung	72°C 2 min
Gesamtvolumen	20 μ l	Nachlauf	60°C 30 min

Für die präselektive Amplifikation wurden die Primer *Eco*RI+A und *Mse*I+C benutzt, welche durch ihre zu den Adaptoren komplementären Sequenzen sowie durch ein zusätzliches selektives Nukleotid an ihrem 5'-Ende charakterisiert waren. Es wurden 4 μ l der RL-Verdünnung für die präselektive Amplifikation eingesetzt, die in einem Thermocycler (PTC 200, MJ Research) mit Deckelheizung nach oben genanntem Ansatz und Temperaturprofil durchgeführt wurde. Ein Aliquot von 10 μ l der Proben wurde zur Kontrolle auf einem 1,5%igen Agarosegel analysiert. Die restlichen 10 μ l der Amplifikation wurden 1:15 mit TE_{0,1}-Puffer verdünnt und bei -20°C gelagert.

2.3.4.3 Selektive Hauptamplifikation

Ansatz für die selektive Hauptamplifikation		Temperaturprofil für die selektive Hauptamplifikation			
PA-Verdünnung	4 μ l	Prädenaturierung	94°C	2 min	
<i>Eco</i> RI+3-Primer	5 ng	Denaturierung	94°C	2 min	
<i>Mse</i> I+3-Primer	30 ng				1
Nukleotid-Mix	200 μ M				
<i>Taq</i> -DNA-Polymerase	0,4 U	Primeranlagerung	65°C	30 sec	
PCR-Puffer	1 x	Primerverlängerung	72°C	2 min	
Gesamtvolumen	20 μ l	Denaturierung	94°C	15 sec	
		Primeranlagerung*	64°C	30 sec	
		Primerverlängerung	72°C	2 min	
				8	
				Zyklen	
		*Reduzierung der Anlagerungstemperatur um 1°C pro Zyklus			
		Denaturierung	94°C	15 sec	
		Primeranlagerung	56°C	30 sec	
		Primerverlängerung	72°C	2 min	
				23	
				Zyklen	
		Nachlauf	60°C	30 min	

Die selektive Hauptamplifikation wurde mit den Primern *Eco*RI+ANN und *Mse*I+CNN durchgeführt, welche drei zusätzliche Nukleotide an ihrem 5'-Ende aufwiesen, wobei das erste Nukleotid durch die Wahl der präselektiven Primer bereits vorgegeben war. Die Primer *Eco*RI+ANN waren mit einem der drei Fluoreszenzfarbstoffe 5-FAM (Blau), JOE (Grün) oder TAMRA (Gelb) markiert für die anschließende Analyse mit multifluorophorer Detektion. Zur Erhöhung der Selektivität bei der Hauptamplifikation wurde die Anlagerungstemperatur in den ersten neun Zyklen schrittweise reduziert ('Touchdown-PCR'). Für eine Nivellierung der Menge RxN-Produkte wurden die Primer in nicht-äquimolaren Mengen eingesetzt. Es wurden 4 μ l der PA-Verdünnung für die selektive Hauptamplifikation verwendet, die in einem Thermocycler (PTC 200, MJ Research) mit Deckelheizung nach oben genanntem Ansatz und Temperaturprofil durchgeführt wurde. Bis zur gelelektrophoretischen Analyse erfolgte die Lagerung der Reaktionen bei -20°C.

2.3.4.4 Gelelektrophorese mit multifluorophorer Detektion

Polyacrylamidgel (5%ig)

Acrylamid-Lsg.	5 % (v/v)
Harnstoff	6 M
TEMED	0,7 ‰ (v/v)
APS	0,5 ‰ (v/v)
TBE-Puffer	1 x
Gesamtvolumen	50 ml

10x TBE-Puffer

Tris·Cl	0,9 M
Borsäure	0,9 M
EDTA (pH 8,0)	20 mM

Beladungspuffer

Formamid (deionisiert)	83 % (v/v)
Dextran-Blau	0,02 % (w/v)
GeneScan-500 ROX	17 % (v/v)

Analyseparameter

Spannung	2500 Volt
Stromstärke	50 mA
Leistung	150 Watt
Laserleistung	40 mWatt
Temperatur	51 °C
Laufzeit	4 h

Die Analyse der PCR-Fragmente der selektiven Hauptamplifikation erfolgte mittels vertikaler Gelelektrophorese in 5%igen Polyacrylamidgelen (26 cm × 36 cm × 0,2 mm) und multifluorophorer Detektion auf einem ABI PRISM™ 377 DNA Sequenzer (APPLIED BIOSYSTEMS). Es konnten bis zu drei unterschiedlich farbstoffmarkierte Reaktionen gleichzeitig in einer Gelspur analysiert werden, wenn die mit 5-FAM-, JOE- und TAMRA-markierten Proben in der Weise gemischt wurden, dass sich die unterschiedlichen Fluoreszenzintensitäten der Farbstoffe ausglich. Allerdings zeigte sich für die TAMRA-markierten als auch für manche JOE-markierten Proben, dass sehr viele Fragmentbanden aufgrund zu schwacher Fluoreszenzintensität durch die geringe Probenkonzentration im Probengemisch nicht für die weitere Auswertung herangezogen werden konnten. Da eine nötige Validierung der multifluorophoren Analyse zu zeitintensiv war, wurde darauf verzichtet und hauptsächlich 5-FAM- und JOE-markierte Proben eingesetzt. Die 5-FAM- und JOE-markierten Proben wurden abwechselnd auf die 48 Spuren eines Gels aufgetragen, um dadurch eventuelle Fehler aufgrund von Überstrahlung einzelner Fragmentbanden der gleichen Farbe auf die benachbarte Spur oder durch Überlauf von Proben beim Auftragen zu umgehen. Die Herstellung des Geles erfolgte analog der Beschreibung für das SSR-Gel unter 2.3.3.2 nur mit doppeltem Ansatz. Für die Beladung des Geles wurden 1,8 µl des PCR-Produktes aus der Hauptamplifikation mit 1,0 µl Beladungspuffer gemischt, bei 94°C für 2 min denaturiert und mittels einer Pipette mit flacher Spitze aufgetragen. Der interne Standard GeneScan-500 ROX im Beladungspuffer besteht aus DNA-Fragmenten mit bekannter Grösse, welche mit dem Fluoreszenzfarbstoff ROX (Rot) am 5'-Ende markiert waren. Das Auftragen der Proben erfolgte nach einem Vorlauf ('Prerun') des Geles und Erreichen der Analysentemperatur von 51°C. Die Gelanalyse wurde mit TBE-Puffer über eine Laufzeit von 4 h bei den oben angegebenen Parametern durchgeführt. Die Analyseparameter für den Vor- und Hauptlauf waren in Betriebsprogrammen ('modules') voreingestellt ebenso wie Angaben zu Filterset, Empfindlichkeit (CCD-Gain), Lesegenauigkeit (CCD-Offset) und Leseweite. Die

Detektion der fluoreszenzmarkierten DNA-Fragmente erfolgte mittels eines Argon-Laser/Spektrograph/CCD-Kamera-Systems während des Gellaufes. Unter Verwendung der ABI PRISM™ GENESCAN® Software Version 2.0 (PERKIN ELMER) wurden die Fragmentgrößen semi-automatisch berechnet sowie die Elektropherogramme der einzelnen Gelspuren ausgewertet.

Tabelle 9: Eingesetzte Primer für die selektive Hauptamplifikation

Primer	Markierung	Code*
<i>EcoRI</i> -Primer		
E+AAG	JOE	E33
E+ACA	5-FAM	E35
E+ACC	TAMRA	E36
E+ACG	JOE	E37
E+ACT	5-FAM	E38
E+AGG	JOE	E41
E+AGT	5-FAM	E42
<i>MseI</i> -Primer		
M+CAA	-	M47
M+CAG	-	M49
M+CCC	-	M52
M+CCG	-	M53
M+CCT	-	M54
M+CGA	-	M55
M+CGG	-	M57
M+CGT	-	M58
M+CTT	-	M62
*Standard List for AFLP Nomenclature: http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/keygeneAFLPs.html		

2.3.5 Fragmentanalyse

Die Bestimmung der Fragmentgrößen der amplifizierten SSR- und AFLP-Fragmente nach der Gelelektrophorese erfolgte mit der Software ABI PRISM™ GENESCAN® Version 2.0 (APPLIED BIOSYSTEMS). Die Auswertungsspuren ('tracking lanes') wurden dazu manuell gelegt, da die automatische Spurenlegung häufig ungenau war. Anhand der Auswertungsspuren berechnete die Software die Daten zur Erstellung von Elektropherogrammen, welche die Grundlage bildeten für die weitere Auswertung. Die Berechnung der Daten erfolgte mit den in Tabelle X angegebenen Analyseparametern. Zum Teil wurden konkrete Analysebereiche ('analysis range') eingegeben, um Rechenzeiten zu verkürzen.

Tabelle 10: Einstellungen der Analysenparameter für Bestimmung von Fragmentgrößen mit der Software GeneScan

Analysis Parameters			
Analysis Range:	Full Range	Size Call Range:	All Sizes
Data Processing:	Baseline Multicomponent	Size Calling Method:	Local Southern
Smooth Option:	None		
Peak Amplitude Thresholds		Split Peak Correction:	None
Blue:	50		
Yellow:	40		
Green:	40		
Red:	50		
Min.Peak Half Width:	3 Pts	Correction Limit:	1 Data Pts

Die Einstellung für die Grenzen der Peakerfassung ('Peak Amplitude Thresholds') hing von der Qualität der PCR-Reaktionen bzw. von den Signalintensitäten der Fragmentbanden eines Gellaufes ab. Als interner Standard wurde für die SSR-Analyse der Standard GeneScan 500 TAMRA und für die AFLP-Analyse der Standard GeneScan 500 ROX eingesetzt, welche im Bereich von 50 bis 500 bp 16 Fragmente mit bekannter Größe aufweisen. Die Fragmentgrößen der beiden Standards sind unter 2.2.3 aufgeführt. Da der interne Standard in jeder Probe mitanalysiert wurde, konnten die Fragmentgrößen zwischen verschiedenen Spuren eines Geles als auch zwischen verschiedenen Gelen direkt miteinander verglichen werden. Die Daten der einzelnen Probenspuren wurden in 'samplefiles' gespeichert, welche nach der Fragmentgrößenberechnung in einem 'project' abgelegt wurden.

2.3.5.1 Zuordnung der SSR-Banden

Aus einem mit GENESCAN erstellten 'project' wurden die 'samplefiles' in die Software GENOTYPER importiert. In sogenannten 'categories' erfolgte Eingabe der elterlichen Fragmentgrößen sowie der Größenbereich und Intensitäten von Peaks, anhand derer die Software die Peaks der Elektropherogramme der Nachkommenschaft identifizieren sollte. Dabei wurden Markerallele der Elternlinien 'Apollo' bzw. 'Piko' mit 'A' und diejenigen von

'G18/ 90' bzw. 'Euris' mit 'B' gekennzeichnet. Da die Software keine heterozygoten Linien erkennt, mussten diese als auch falsch gekennzeichnete Peaks manuell korrigiert bzw. in die Ergebnistabelle eingetragen werden. Die genaue Beschreibung zur Erstellung von 'catagories' und den Ergebnistabellen sind dem Handbuch zu entnehmen.

2.3.5.2 Zuordnung der AFLP-Banden

Die AFLP-Banden, welche einen Polymorphismus detektierten wurden als dominante Marker ausgewertet, da im Rahmen einer kodominante Auswertung die Detektion von Heterozygoten über eine quantitative Auswertung zu zeitaufwendig und unsicher ist. Aufgrund der hohen Anzahl an zu vergleichenden Peaks in den Elektropherogrammen der AFLP-Analyse, erfordert die Zuordnung der Genotypen eine aufwendigere Vorgehensweise. Dies erfolgte mit Auswertungsvorlagen, welche aus mehreren Programmschritten ('makros') bestanden. Die entscheidenden 'makros' umfassen folgende Analyseschritte:

- Detektion "polymorpher Peaks" und deren Kennzeichnung
- Erstellung von 'catagories' entsprechend der gekennzeichneten Polymorphismen
- Kennzeichnung der Peaks der Nachkommenschaft entsprechend den 'catagories'
- Erstellung der Ergebnistabelle

Aus einem mit GENESCAN erstellten 'project' wurden die 'samplefiles' in die Software GENOTYPER importiert, wobei nur Proben einer Farbstoffmarkierung ausgewählt wurden, um eine Überlastung von Software und Rechner zu vermeiden.

2.3.6 Semiautomatische Zuordnung der Genotypen

Für die Zuordnung der Genotypen der Nachkommenschaft entsprechend den Fragmentgrößen der Elternlinien wurde die Software ABI PRISM™ GENOTYPER® Version 2.0 (PERKIN ELMER) verwendet. Nach Eingabe der Fragmentgrößen der Elternlinien konnten automatisch die Peaks der Elektropherogramme der Nachkommenschaft den entsprechenden elterlichen Genotypen zugeordnet werden. Da die Zuordnung nicht in jedem Fall exakt war und auch keine heterozygoten Linien erkannt wurden, war eine visuelle Überprüfung der Zuordnung notwendig. Das Ergebnis wurde in Tabellenform ausgegeben, was eine Übernahme in andere Programme ermöglichte und damit einen wesentlichen Vorteil dieser Software ausmacht.

2.3.7 Datenauswertung

2.3.7.1 Statistik

Mittels der Software SPSS 10.0 wurden die Mittelwerte, Standardabweichungen und Spannbreiten der Merkmalsbonituren berechnet als auch die Häufigkeitsverteilungen nach der Methode von KOLMOGOROV-SMIRNOV auf Normalverteilung geprüft. Ebenfalls wurden mit der Software die Korrelationen nach PEARSON berechnet und auf ihre Signifikanz getestet.

2.3.7.2 χ^2 -Test der Markerverteilung

Für die bei der QTL-Analyse eingesetzten Marker wurde mit dem Programm PLABQTL (UTZ und MELCHINGER, 1996) ein χ^2 -Test in Bezug auf die Nullhypothese einer 1:2:1 Spaltung für kodominante Marker und einer 3:1 Spaltung für dominante Marker in einer F₂-Nachkommenschaft durchgeführt.

2.3.7.3 Kopplungsanalyse

Die Berechnung der Kopplungsgruppen erfolgte nach der Maximum-Likelihood-Methode mit dem Computerprogramm MAPMAKER/ EXP 3.0b (LANDER et al. 1987; LINCOLN und LANDER 1992). Die wahrscheinlichste Reihenfolge der Marker wurde mittels der Befehle 'group', 'compare' und 'order' berechnet, wobei ein Mindestabstand von 37 cM und ein LOD (Logarithm of Odds) von 3,0 gewählt wurde. Marker, welche nicht nach dem 'order' Befehl eindeutig eingeordnet werden konnten, wurden mit Hilfe des 'try' Befehls eingeordnet und anschliessend die vollständige Reihenfolge aller Marker der Kopplungsgruppe mit dem Befehl 'ripple' überprüft. Die Markerabstände in centiMorgan (cM) wurden nach der Funktion von KOSAMBI (1944) aus den Rekombinationshäufigkeiten über den Befehl 'map' berechnet. Für die Analyse der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' wurde 'Recombinant inbred' und für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90' 'f2 intercross' in der ersten Zeile des Datensatzes eingegeben. Zur Verkürzung der Rechenzeit wurde zu Beginn eine Zweipunkt-Analyse mittels des Befehls 'two point' mit dem gesamten Markerdatensatz durchgeführt.

2.3.7.4 Regressionsanalyse

Die Regressionsanalyse der einzelnen Marker sowie die Varianzanalyse (ANOVA) wurde mit Hilfe der Software SPSS 10.0 durchgeführt. Berechnet wurde der Wert für R² bzw. R² × 100, als Mass für den Anteil der phänotypischen Varianz des Genombereiches, welchen der Marker detektiert. Dabei wurde ein F-Wert von grösser 3,0 als Ausschlusskriterium herangezogen.

2.3.7.5 QTL-Analyse

Die Abschätzung möglicher QTL für die bonitierten Merkmale erfolgte mit Hilfe der Software PLABQTL (UTZ und MELCHINGER, 1996). Durchgeführt wurde die Abschätzung nach der 'Composite Interval Mapping'-Methode mit ausgewählten Kofaktoren mittels der Funktion 'cov select'. Gemäss dem Hinweis im Handbuch wurden die Elterlinien 'Euris' bzw. 'Apollo' als Elter A und die Elterlinien 'Piko' bzw. 'G18/ 90' als Elter B eingegeben, unter der Annahme, dass der Elter B mehr oder grössere Resistenz-QTL trägt. Daraus folgt, dass bei einem negativen Vorzeichen des additiven Effektes das Allel vom Elter B und bei positivem Vorzeichen vom Elter A stammt. Der quadrierte partielle Regressionskoeffizient (part. R²) und der additive Effekt wurden durch multiple Regression ohne Kofaktoren unter 'Final simultaneous fit' erhalten. Der Wert des part. R² gibt den prozentualen Anteil eines QTLs ohne Einfluss anderer QTL an. Bei der QTL-Analyse für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' wurde auf die Berechnung von möglichen Dominanzeffekten verzichtet aufgrund des niedrigen Anteils an heterozygoten Linien in der F₄-Nachkommenschaft, wozu die Befehlszeile 'model D' in der Steuerungsdatei gelöscht wurde. Die LOD plot-Kurven der Kopplungsgruppen wurden mit Hilfe der Software EXCEL 5.0 gezeichnet.

3 ERGEBNISSE

3.1 Feldbonituren der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' und Elternlinien

Ausgehend von den Boniturwerten des dritten Boniturtermins war der mittlere prozentuale Befall der Ähre bei den F₄-Linien mit 48,6% im Jahr 1999 höher als im Jahr 1998 mit 35,0% (Tabelle 11). Die stärkere Infektion zeigte sich auch bei beiden Elternlinien, wobei der Befall der Ähre im Jahr 1999 bei 'Piko' um fast 20% und bei 'Euris' um fast 35% höher war. Mit 26,0% Befall der Ähre bei 'Piko' und 27,0% bei 'Euris' war der Befall der Ähre bei den Elternlinien 1998 gleich. Dagegen war die Sorte 'Piko' mit 45,6% im Jahr 1999 etwa 16% weniger anfällig auf der Ähre als die Sorte 'Euris' mit 61,9% Befall. Bedingt durch den geringen Ährenbefall des Elters 'Euris' 1998 lag das Mittel der Eltern mit 26,5% niedriger als das Mittel der Nachkommenschaft mit 35,0%, wogegen es 1999 mit 53,8% um 5% über dem Mittel der Nachkommenschaft lag. Im Jahr 1999 lag das Mittel des Ährenbefalls der Nachkommenschaft von 48,8% deutlich näher am Mittel des weniger anfälligen Elters 'Piko' von 45,6% im Vergleich zum Elter 'Euris' mit 61,9%.

Für beide Jahre war ein transgressiver Effekt für die F₄-Linien in beide Richtungen zu beobachten, d.h. es gab Linien, die weniger befallen waren als der geringste Befall bei den Elternlinien als auch Linien, die stärker befallen waren als der stärkste Befall bei den Eltern. Die Verteilungen der Befallshäufigkeiten der Ähre der Nachkommenschaft zeigen für beide Jahre eine Normalverteilung (Abb. 3).

Tabelle 11: Mittelwerte und Spannweiten der bonitierten Merkmale Ährenbefall, Blattbefall, Halmlänge und Zeitpunkt des Ährenschiebens der Kreuzungseltern und der 190 F₄-Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' für die Jahre 1998 und 1999

Phänotypisches Merkmal	Piko		Euris		Piko × Euris		Elternmittel	
	1998	1999	1998	1999	1998	1999	1998	1999
Ährenbefall [%]								
Mittelwert	26,0	45,6	27,0	61,9	35,0	48,6	26,5	53,8
Spannbreite	20 - 30	35 - 55	20 - 30	45 - 70	13 - 70	28 - 80	-	-
Blattbefall [%]								
Mittelwert	20,5	35,2	40,0	56,3	21,7	33,6	30,3	45,8
Spannbreite	13,3 - 26,7	25,0 - 43,3	36,7 - 43,3	36,7 - 70,0	7 - 69	14 - 70	-	-
Halmlänge [cm]								
Mittelwert	90,2	92,3	93,8	94,8	89,9	93,7	92,0	93,6
Spannbreite	87 - 93	85 - 99	90 - 98	93 - 100	61 - 107	65 - 110	-	-
Ährenschieb. [d]*								
Mittelwert	35,0	37,3	33,0	35,1	35,5	39,0	34,0	36,2
Spannbreite	35 - 36	36 - 40	33	35 - 36	33 - 39	35 - 45	-	-

* Tage ab 1. Mai

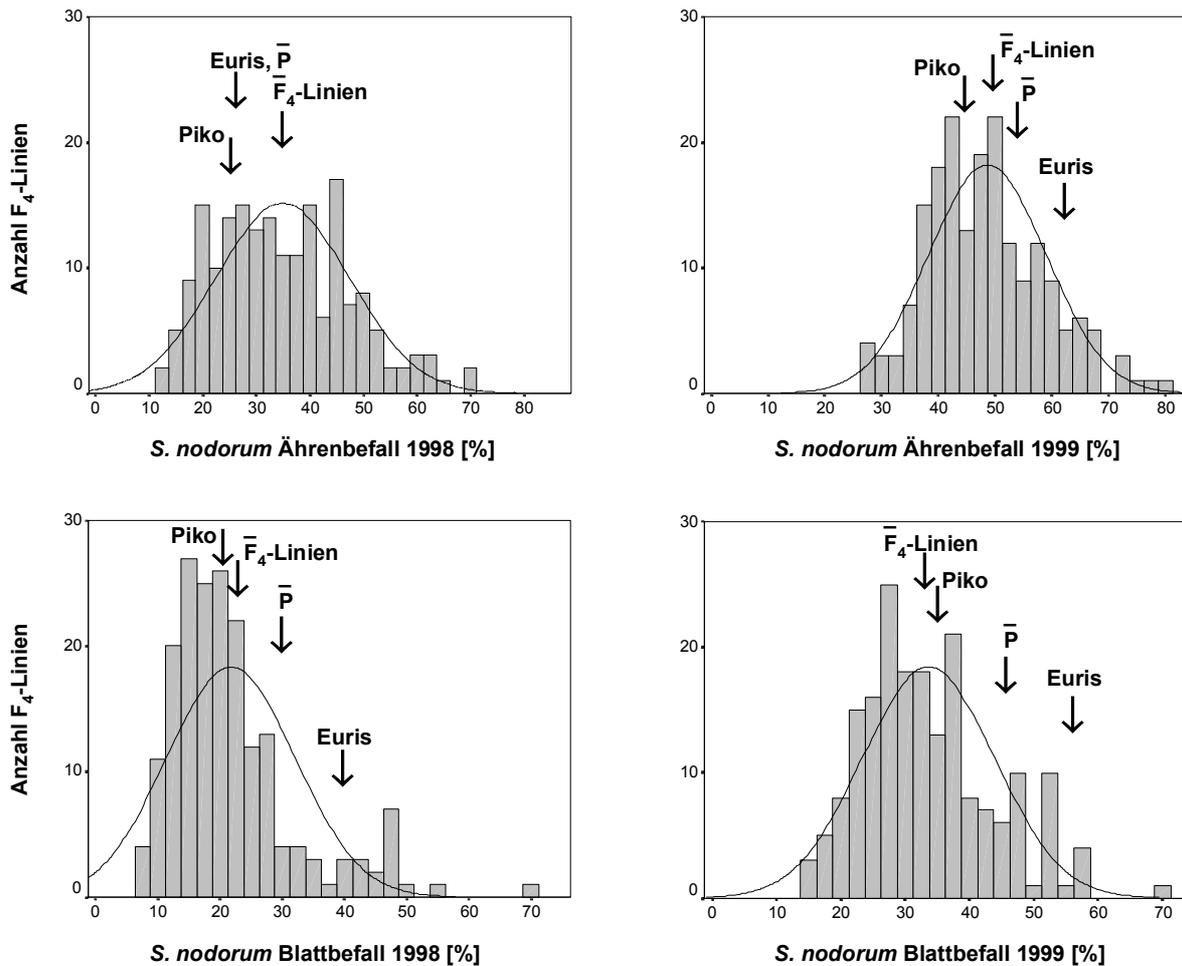


Abbildung 3: Häufigkeitsverteilungen der prozentualen Befallsbonituren sowie Lage der Mittelwerte der Elternlinien, der F₄-Linien und des Elternmittels der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den Jahren 1998 und 1999

Der mittlere prozentuale Befall der Fahnenblätter der F₄-Linien, ausgehend von den Werten des dritten Boniturtermins und einer doppelten Gewichtung des obersten Fahnenblattes gegenüber dem Fahnenblatt minus eins (WALTHER und BÖHMER 1992), war 1999 mit 33,6% ebenfalls stärker als 1998 mit 21,7% (Tabelle 11). Auch bei den Elternlinien war der Befall 1999 um 15 bis 16% höher als 1998, wobei die Sorte 'Piko' in beiden Jahren um ca. 20% weniger anfällig als die Sorte 'Euris' war. Das Mittel des Blattbefalls der Nachkommenschaft lag in beiden Jahren mehr als 10% unter dem Elternmittel und jeweils sehr dicht am Mittel des weniger anfälligen Elters 'Piko'. Auch für den Blattbefall ist eine Transgression für das Jahr 1998 in beide Richtungen sowie für das Jahr 1999 in Richtung des geringeren Befalls festzustellen. Die Befallshäufigkeiten der Blätter der Nachkommenschaft waren ebenfalls in beiden Jahren normal verteilt (Abb. 3).

Der Mittelwert für die Halmlänge der Nachkommenschaft war mit 93,7 cm im Jahr 1999 höher als im Jahr 1998 mit 89,9 cm. Das Mittel der Elternlinien lag 1999 mit 93,6 cm ebenfalls höher als 1998 mit 92,0 cm (Tabelle 11). Die Sorte 'Euris' war in beiden Jahren die längere Sorte, wobei die Differenz im Mittel über beide Jahre 3 cm betrug. 1998 lag das Elternmittel mit 92,0 cm über dem Mittel der F₄-Linien mit 89,9 cm, wogegen 1999 beide Mittelwerte gleich gross waren. Für das Merkmal Halmlänge konnte ebenfalls ein transgressiver Effekt in beide Richtungen in beiden Jahren beobachtet werden. Die Häufigkeitsverteilungen für die Halmlänge in der Nachkommenschaft entsprach ebenfalls in

beiden Jahren einer Normalverteilung, wobei jeweils eine leichte Schiefe der Verteilung in Richtung zu grösseren Halmlängen festzustellen war (Abb. 4).

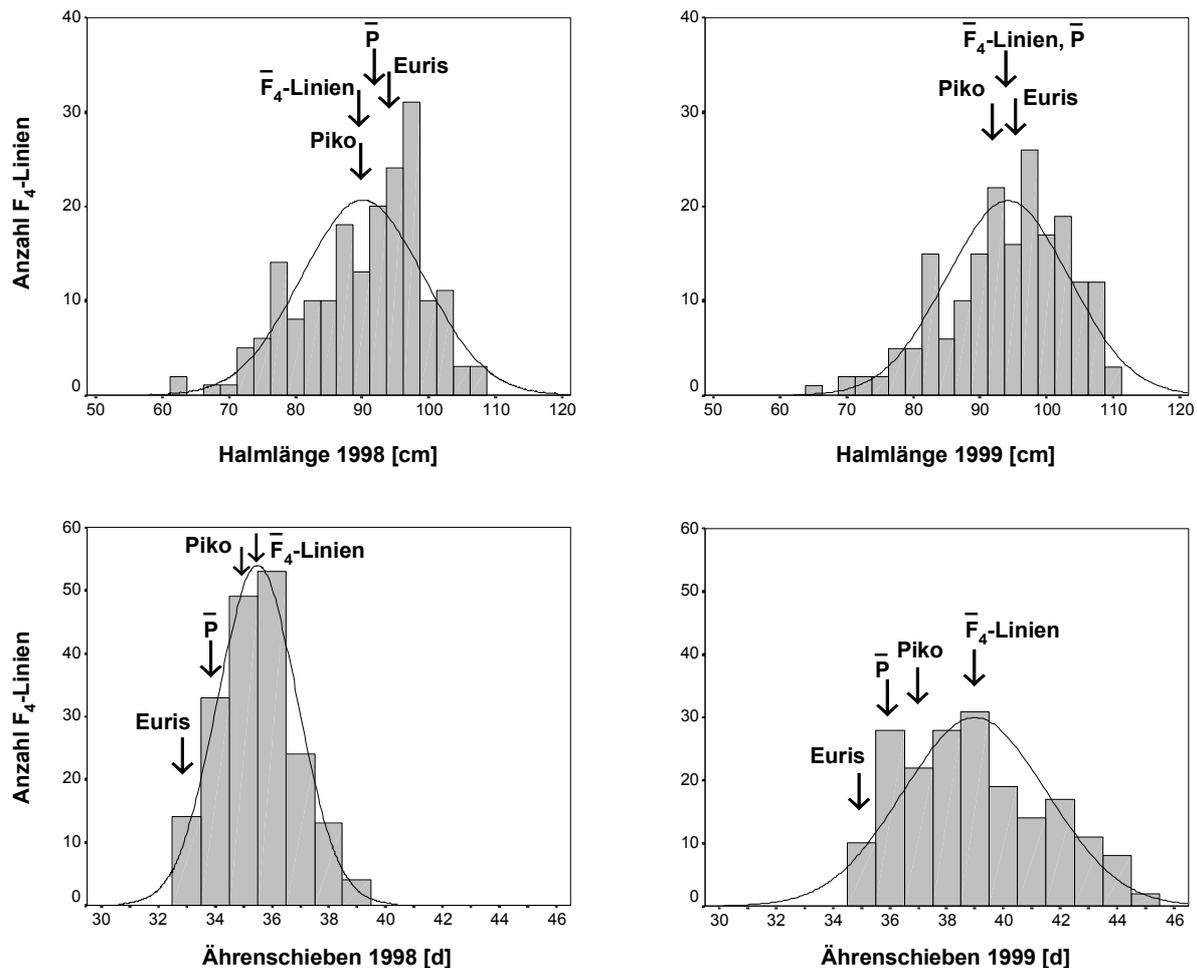


Abbildung 4: Häufigkeitsverteilungen der Boniturwerte für die Halmlänge und den Zeitpunkt des Ährenschiebens in Tagen ab dem ersten Mai sowie Lage der Mittelwerte der Elternlinien, der F₄-Linien und des Elternmittels der Kreuzung 'Piko' x 'Euris' in den Jahren 1998 und 1999

Für den Zeitpunkt des Ährenschiebens in Tagen nach dem ersten Mai lag das Mittel der Nachkommenschaft 1999 mit 39,0 Tagen etwa 3,5 Tage später als das Mittel 1998 mit 35,5 Tagen (Tabelle 11). Dagegen lag das Elternmittel 1999 mit 36,2 Tagen etwa zwei Tag später als das Mittel 1998 mit 34,0 Tagen. Die Sorte 'Piko' war in beiden Jahren die spätere Sorte, wobei der Unterschied jeweils zwei Tage betrug. Das Mittel der Nachkommenschaft 1998 von 35,3 Tagen entsprach dem Elternmittel, wogegen das Mittel von 1999 mit 39,0 Tagen etwa drei Tage über dem Elternmittel lag. Die Verteilung der Häufigkeiten für den Zeitpunkt des Ährenschiebens der F₄-Linien entsprach in beiden Jahren einer Normalverteilung, wobei die Spannweite der Verteilung 1999 mit 11 Tagen deutlich grösser war als 1998 mit 7 Tagen (Abbildung 4). Für den Zeitpunkt des Ährenschiebens konnte eine Transgression in Richtung zum späteren Zeitpunkt in beiden Jahren festgestellt werden.

3.1.1 Korrelationen zwischen den bonitierten Merkmalen der Kreuzung 'Piko' x 'Euris'

Es wurden die Korrelationen nach PEARSON zwischen den bonitierten Merkmalen des prozentualen Ährenbefalls, des prozentualen gewichteten Blattbefalls, der Halmlänge und des

Zeitpunktes des Ährenschiebens berechnet und auf Signifikanz geprüft. In Tabelle 12 sind die berechneten Korrelationen zwischen dem prozentualen Befall mit *S. nodorum* und den morphologischen Merkmalen der Halmlänge und des Zeitpunktes des Ährenschiebens dargestellt.

Tabelle 12: Korrelationen zwischen den phänotypischen Boniturdaten der 190 F₄-Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den Jahren 1998 und 1999

	Ährenbefall		Blattbefall		Halmlänge	
	1998	1999	1998	1999	1998	1999
Halmlänge	- 0,56**	- 0,34**	0,09	0,09	--	--
Zeitpunkt des Ährenschiebens	0,25**	- 0,27**	- 0,31**	- 0,36**	- 0,38**	- 0,31**

** Wert ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant

Im Jahr 1998 bestand eine mittlere signifikante negative Korrelation von $r = -0,56$ zwischen dem prozentualen Ährenbefall und der Halmlänge, welche 1999 eher gering, aber auch signifikant und negativ war. Zwischen dem prozentualen gewichteten Blattbefall und der Halmlänge konnte für beide Jahre keine Korrelation berechnet werden. Die Korrelation zwischen dem prozentualen Ährenbefall und dem Zeitpunkt des Ährenschiebens war in beiden Jahren sehr schwach und hatte 1998 ein positives und 1999 ein negatives Vorzeichen. Zwischen dem prozentualen gewichteten Blattbefall und dem Zeitpunkt des Ährenschiebens bestand eine geringe aber signifikante negative Korrelation in beiden Jahren und in ähnlicher Weise zwischen der Halmlänge und dem Ährenschieben. Die Boniturwerte des prozentualen Ähren- und Blattbefalls zeigten im Jahr 1998 keine und im Jahr 1999 eine sehr schwache positive Korrelation (Tabelle 13).

Tabelle 13: Korrelationen zwischen dem prozentualen Ähren- und Blattbefall der 190 F₄-Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den Jahren 1998 und 1999

	Blattbefall	
	1998	1999
Ährenbefall	- 0,04	0,28**

** Wert ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant

Die Korrelationen für die vier Merkmale zwischen den Anbaujahren 1998 und 1999 sind in Tabelle 14 angegeben. Die stärkste Korrelation zwischen den Anbaujahren bestand für das Merkmal Halmlänge mit 0,82 und die Geringste für den prozentualen Ährenbefall mit 0,39. Für die Merkmale des prozentualen Blattbefalls und den Zeitpunkt des Ährenschiebens lagen die Korrelationen mit 0,65 bzw. 0,79 relativ hoch.

Tabelle 14: Korrelationen der phänotypischen Merkmale zwischen den Anbaujahren 1998 und 1999 der 190 F₄-Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris'

	Ährenbefall 1999	Blattbefall 1999	Halmlänge 1999	Ährenschieben 1999
Ährenbefall 1998	0,39**			
Blattbefall 1998		0,65**		
Halmlänge 1998			0,82**	
Ährenschieben 1998				0,79**

** Wert ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant

3.1.2 Ergebnisse der berechneten Ertragsverluste durch *S. nodorum*

Anhand der bestimmten Ertragsparameter des Tausendkorngewichtes, der Kornzahl pro Ähre sowie des Ähreneinzelgewichtes der infizierten Parzellen als auch der nichtinfizierten Kontrollparzellen wurden die prozentualen Ertragsverluste berechnet. Die berechneten Mittelwerte, Standardabweichungen und Spannbreiten für die einzelnen Ertragsparameter sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 15: Prozentuale Ertragswerte bei den infizierten Weizenpflanzen bezogen auf den Ertrag der Pflanzen von den Kontrollparzellen der 190 F₄-Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den Jahren 1998 und 1999

	Tausendkorngewicht		Kornzahl pro Ähre		Ähreneinzelgewicht	
	1998	1999	1998	1999	1998	1999
Mittelwert	- 7,1	- 17,3	+ 1,6	- 0,2	- 6,1	- 17,4
Standard- abweichung	6,3	7,1	10,1	8,2	10,4	8,9
Spannbreite	- 24 – 9	- 37 – 6	- 25 – 30	- 20 – 22	- 36 – 21	- 42 – 14

Bei allen drei Ertragsparametern war die Höhe des Verlustes bei den infizierten Parzellen im Jahr 1999 grösser als im Jahr 1998. Die prozentualen Verluste waren am deutlichsten beim Tausendkorngewicht und dem Ähreneinzelgewicht ausgeprägt. Im Mittel lag der Verlust beim Tausendkorngewicht im Jahr 1998 bei 7,1% mit einem grössten Wert von 24% und im Jahr 1999 bei 17,3% mit einem Höchstwert von 37%. In beiden Jahren gab es infizierte Parzellen mit einem leicht höheren Tausendkorngewicht als bei den Kontrollparzellen. Bei der Kornzahl pro Ähre gab es 1998 im Mittel eine Zunahme von 1,6% mit einer Spannbreite der

Einzelwerte von -25 bis +30%. Im Jahr 1999 lag das Mittel für die Kornzahl pro Ähre bei -0,2% mit einer Spannweite der Einzelwerte von -20 bis +22%. Der Verlust beim Ährengewicht lag im Mittel im Jahr 1998 bei 6,1% mit einem grössten Wert von 36% und Jahr 1999 bei 17,4% mit einem Höchstwert von 42%. In beiden Jahren gab es infizierte Parzellen, die ein höheres Ährengewicht aufwiesen als die nichtinfizierten Parzellen, wobei die grösste Zunahme im Jahr 1998 bei 21% lag und im Jahr 1999 bei 14%.

3.2 Feldbonituren der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90'

3.2.1 Standort Grünbach

Die Elternlinien und die 200 F₃-Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90' wurden 1998 und 1999 in Grünbach auf dem Feld angebaut und der prozentuale Befall der Ähre und der Fahnenblätter nach zweifacher künstlicher Infektion bonitiert. Zusätzlich wurden die morphologischen Merkmale der Halmlänge und des Zeitpunktes des Ährenschiebens in Tagen nach der Aussaat aufgenommen.

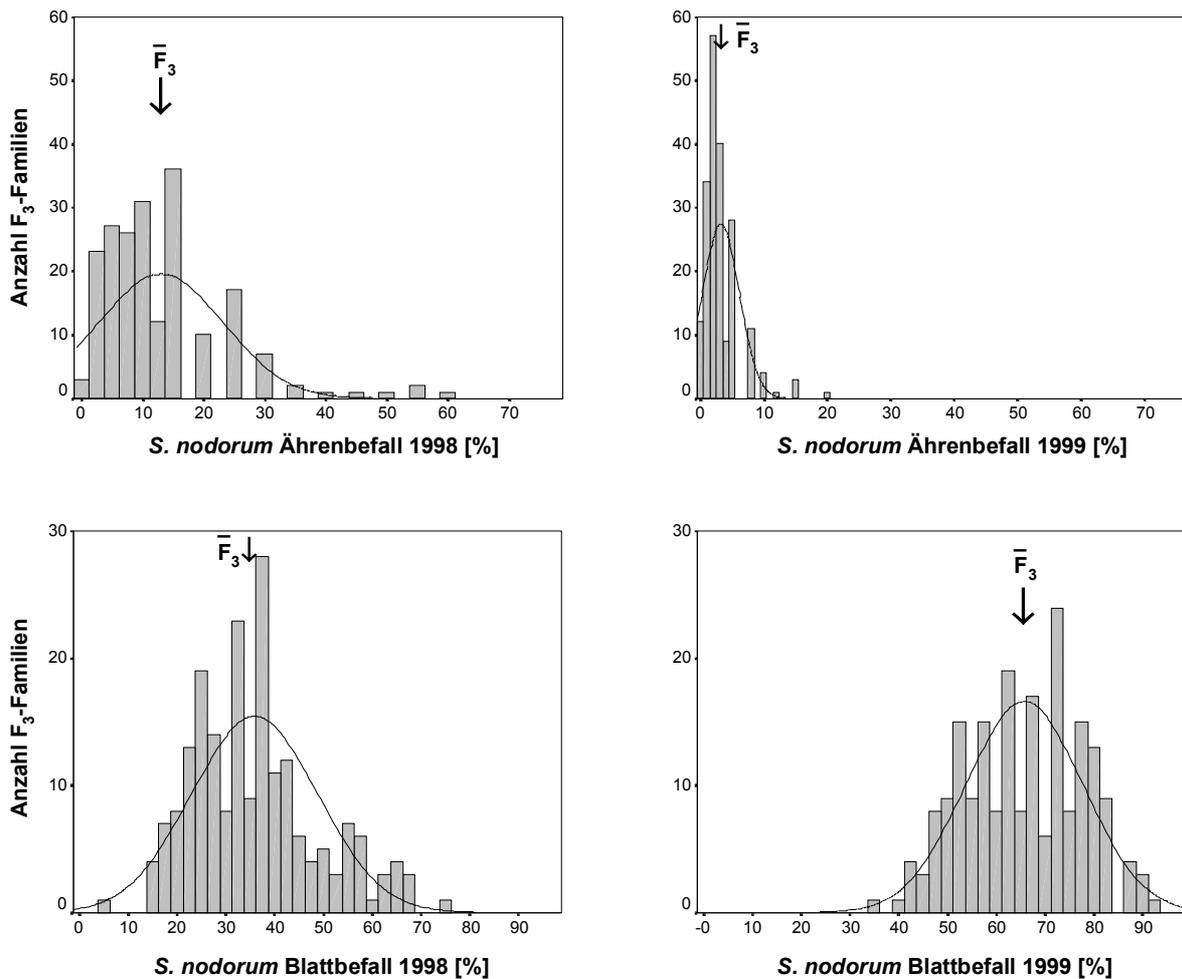


Abbildung 5: Häufigkeitsverteilungen der Boniturwerte für den prozentualen Ähren- und Blattbefall mit *S. nodorum* sowie Lage der Mittelwerte der Elternlinien, F₃-Familien und des Elternmittels der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' in den Jahren 1998 und 1999 in Grünbach

Ausgehend von den Boniturwerten des dritten Boniturtermins lag der mittlere prozentuale Befall der Ähre der Nachkommenschaft 1998 mit 13,0% höher als 1999 mit 3,2%. Zudem war die Spannweite der einzelnen Befallswerte 1998 mit ein bis 60% deutlich grösser als 1999 mit Werten von null bis 20% (Tabelle 16). Ausgehend von den Boniturwerten des zweiten Boniturtermins lag der mittlere prozentuale Blattbefall der F₃-Familien 1998 mit 35,9% niedriger als 1999 mit 65,5%, wobei die Spannweite der einzelnen Befallswerte ähnlich war. Die Häufigkeitsverteilungen für der Boniturwerte für den prozentualen Ähren- sowie den Blattbefall bei den F₃-Familien entsprachen in beiden Jahren einer Normalverteilung (Abb. 5).

Tabelle 16: Mittelwerte und Spannweiten der Boniturdaten der 200 F₃-Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' in den Jahren 1998 und 1999 in Grünbach

Grünbach	Ährenbefall [%]		Blattbefall [%]		Halmlänge [cm]		Ährenschieben [d]*	
	1998	1999	1998	1999	1998	1999	1998	1999
Mittelwert	13,0	3,2	35,9	65,5	104,1	99,1	230,6	226,3
Spannbreite	1 - 60	0 - 20	5 - 75	35 - 93	82 - 121	78 - 115	228 - 234	224 - 233

*: Tage nach der Saat

Für die Elternlinien 'Apollo' und 'G18/90' lagen nur Gesamtbonituren für den Ähren- und Blattbefall vor, welche zusammen mit den Bonituren von Halmlänge und dem Zeitpunkt des Ährenschiebens in der folgenden Tabelle aufgeführt sind:

Tabelle 17: Mittelwerte der Boniturdaten der Elternlinien 'Apollo' und 'G18/90' in den Jahren 1998 und 1999 in Grünbach

	'Apollo'		'G18/90'		Elternmittel	
	1998	1999	1998	1999	1998	1999
Ähren- und Blattbefall [%]	41,5	47,6	19,1	18,4	30,3	33,0
Halmlänge [cm]	92,0	85,0	98,5	101,0	95,3	93,0
Ährenschieben [d]*	230	227	221	226	225,5	226,5

*: Tage nach der Saat

Der Elter 'Apollo' war in beiden Jahren deutlich stärker befallen als der Elter 'G18/90', wobei der Befall 1999 mit 47,6% höher war als 1998 mit 41,5%, was tendenziell vergleichbar war mit dem höheren Blattbefall der F₃-Familien ebenfalls im Jahr 1999. Der Befall des Elters 'G18/90' war mit 19,1% im Jahr 1998 und mit 18,2% im Jahr 1999 sehr ähnlich.

Die mittlere Halmlänge der F₃-Familien im Jahr 1998 betrug 104,1 cm und war damit 5 cm höher als das Mittel im Jahr 1999 mit 99,1 cm (Tabelle 16). Ebenfalls lag das Mittel der Elternlinien im Jahr 1998 mit 95,3 cm um 2,3 cm höher als das Mittel von 1999 mit 93,0 cm. Der Zuchtstamm 'G18/90' war in beiden Jahren der längere Elter, wobei die Differenz zum Elter 'Apollo' im Jahr 1998 6,5 cm und 1999 16,0 cm betrug. In beiden Jahren lag der Mittelwert der Nachkommenschaft höher als das jeweilige Mittel der Elternlinien. Ein transgressiver Effekt war nur eindeutig in Richtung grösserer Halmlängen zu beobachten, welcher relativ stark in beiden Jahren war. Die Häufigkeitsverteilungen für die Halmlänge bei den F₃-Familien entsprachen in beiden Jahren einer Normalverteilung (Abb. 6).

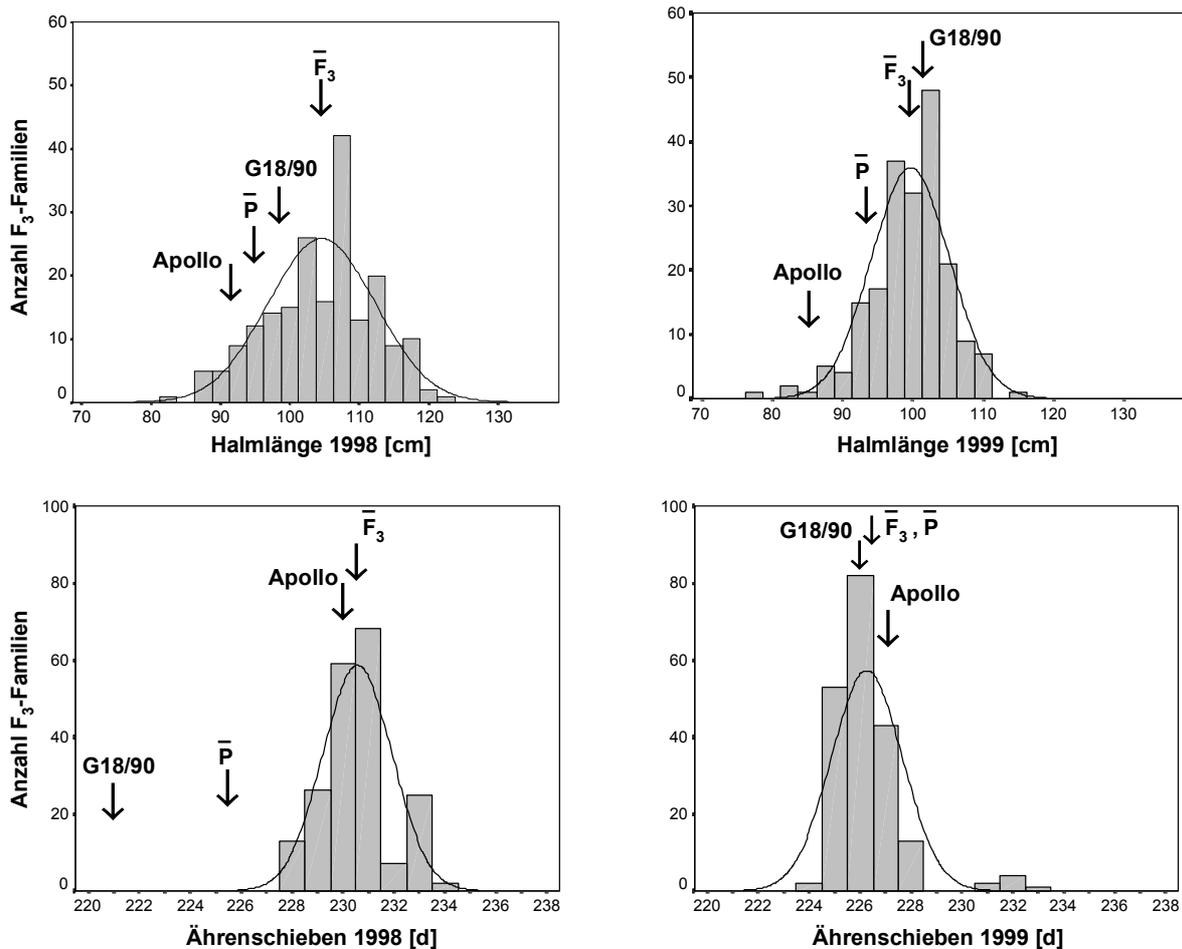


Abbildung 6: Häufigkeitsverteilungen der Boniturwerte für die Halmlänge und den Zeitpunkt des Ährenschiebens in Tagen nach der Saat sowie Lage der Mittelwerte der Elternlinien, F_3 -Familien und des Elternmittels der Kreuzung 'Apollo' \times 'G18/90' in den Jahren 1998 und 1999 in Grünbach

Für den Zeitpunkt des Ährenschiebens in Tagen nach der Aussaat lag das Mittel der F_3 -Familien im Jahr 1998 mit 230,6 Tagen etwa vier Tage später als das Mittel von 1999 mit 226,3 Tagen (Tabelle 16). Das Mittel der Elternlinien lag dagegen 1998 mit 225,5 Tagen um einen Tag früher als das Mittel von 1999 mit 226,5 Tagen. Die Sorte 'Apollo' war in beiden Jahren die spätere Sorte, wobei die Differenz zum Zuchtstamm 'G18/90' im Jahr 1998 neun Tage und 1999 einen Tag betrug. Der Mittelwert der Nachkommenschaft lag im Jahr 1998 deutlich über dem Mittel der Elternlinien, wogegen 1999 beide Werte gleich waren. Für beide Jahre war ein transgressiver Effekt nur eindeutig in Richtung eines späteren Zeitpunktes festzustellen. Weiterhin auffällig war das vergleichsweise sehr frühe Ährenschieben des früheren Elters 'G18/90' im Jahr 1998, welches nicht in der Nachkommenschaft auftrat. Die Verteilungen der Häufigkeiten für den Zeitpunkt des Ährenschiebens der F_3 -Familien entsprach in beiden Jahren einer Normalverteilung, wobei die Spannweite der Verteilung 1999 mit zehn Tagen grösser war als 1998 mit sieben Tagen (Abb. 6). Der Verlauf der Verteilungen ist für beide Jahre tendenziell als schwach bimodal zu deuten.

Bezüglich der Boniturwerte für die Halmlänge und den Zeitpunkt des Ährenschiebens zeigten die Elternlinien im Vergleich der beiden Jahre ein gegensätzliches Verhalten. Im Vergleich zum Jahr 1998 war der Elter 'Apollo' im Jahr 1999 kürzer bei der Halmlänge und früher beim Ährenschieben, wohingegen der Elter 'G18/90' im Jahr 1999 länger und später war gegenüber 1998.

3.2.1.1 Korrelationen Grünbach

Die Korrelationen nach PEARSON wurden zwischen den bonitierten Merkmalen des prozentualen Ährenbefalls, des prozentualen gewichteten Blattbefalls, der Halmlänge und des Zeitpunktes des Ährenschiebens berechnet und auf Signifikanz geprüft. In Tabelle 18 sind die berechneten Korrelationen zwischen dem prozentualen Befall mit *S. nodorum* und den morphologischen Merkmalen der Halmlänge und des Zeitpunktes des Ährenschiebens dargestellt.

Tabelle 18: Korrelationen zwischen den phänotypischen Boniturdaten der 200 F₃-Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90' in den Jahren 1998 und 1999 in Grünbach

	Ährenbefall		Blattbefall		Halmlänge	
	1998	1999	1998	1999	1998	1999
Halmlänge	- 0,53**	- 0,51**	- 0,26**	- 0,04	--	--
Zeitpunkt des Ährenschiebens	0,27**	0,04**	- 0,04	- 0,29**	- 0,18*	- 0,06

*/** Wert ist auf dem Niveau von 0,05 bzw. 0,01 signifikant

Die Boniturwerte des prozentualen Ähren- und Blattbefalls zeigten im Jahr 1998 eine geringe positive und im Jahr 1999 keine Korrelation (Tabelle 19).

Tabelle 19: Korrelationen zwischen dem prozentualen Ähren- und Blattbefall der 200 F₃-Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90' in den Jahren 1998 und 1999 in Grünbach

	Blattbefall	
	1998	1999
Ährenbefall	0,39**	0,06

** Wert ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant

Die Korrelationen für die vier Merkmale zwischen den Anbaujahren 1998 und 1999 sind in Tabelle 20 angegeben. Die stärkste Korrelation zwischen den Anbaujahren bestand für das Merkmal Halmlänge mit 0,62 und die geringste für den prozentualen Ährenbefall mit 0,39. Für die Merkmale des prozentualen Blattbefalls und den Zeitpunkt des Ährenschiebens lagen die Korrelationen mit 0,54 bzw. 0,45 im mittleren Bereich.

Tabelle 20: Korrelationen der phänotypischen Merkmale zwischen den Anbaujahren der 200 F₃-Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90' in den Jahren 1998 und 1999 in Grünbach

	Ährenbefall 1999	Blattbefall 1999	Halmlänge 1999	Ährenschieben 1999
Ährenbefall 1998	0,39**			
Blattbefall 1998		0,54**		
Halmlänge 1998			0,62**	
Ährenschieben 1998				0,45**

** Wert ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant

3.2.2 Standort Bergen

Die F_3 -Familien der Kreuzung 'Apollo' \times 'G18/90' wurden 1999 in Bergen von der Lochow-Petkus GmbH angebaut. Der prozentuale Befall der Ähre und der Blätter mit *S. nodorum* wurde an drei Terminen bonitiert und die Halmlänge gemessen. Die Befallsstärke wurde in Abstufungen von 10% bonitiert. Da die Boniturwerte der letzten beiden Termine, welche relativ spät lagen, sehr viele Werte von 100% aufwiesen und wenig differenzierten, wurden zur Auswertung die Werte des ersten Boniturtermins eingesetzt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 21 aufgeführt.

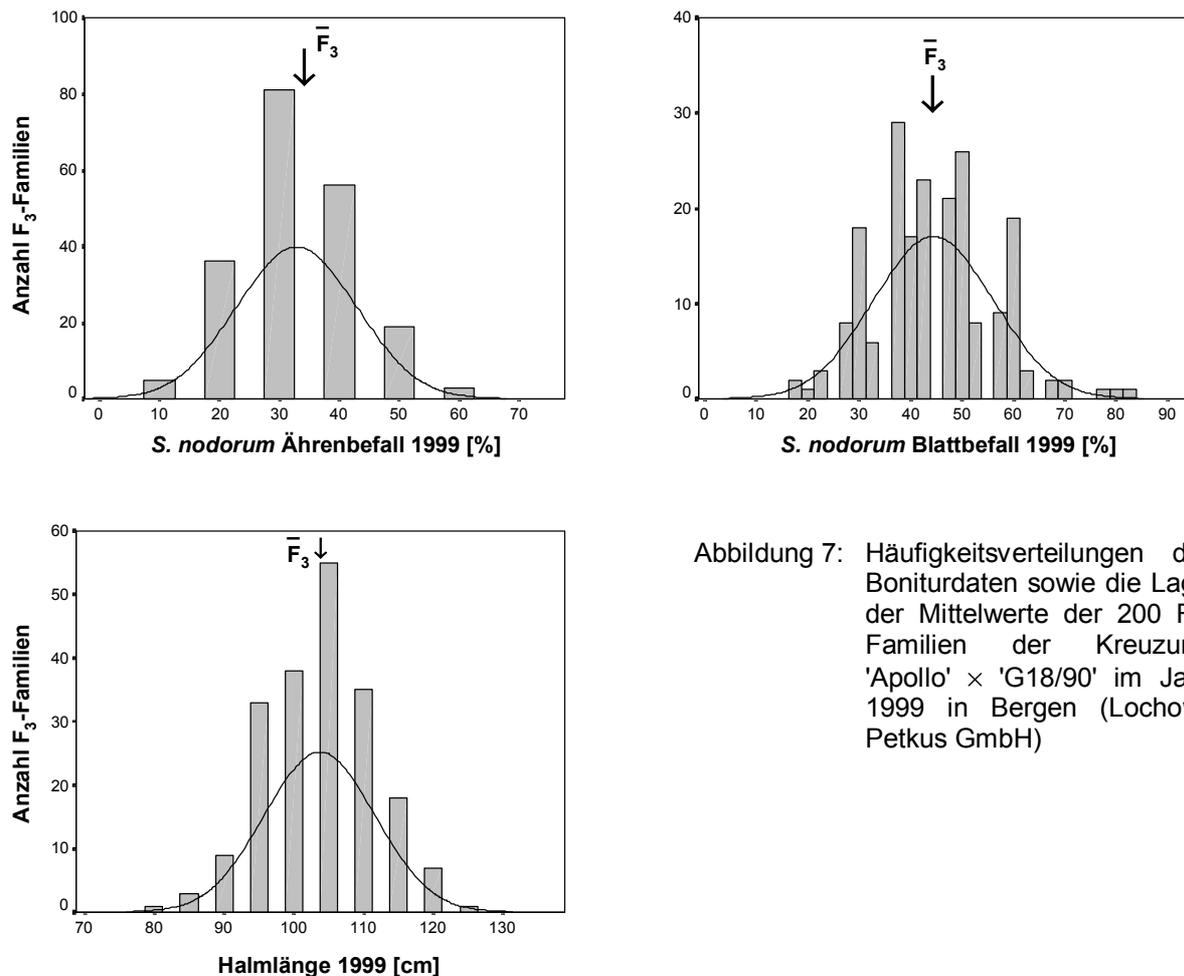


Abbildung 7: Häufigkeitsverteilungen der Boniturdaten sowie die Lage der Mittelwerte der 200 F_3 -Familien der Kreuzung 'Apollo' \times 'G18/90' im Jahr 1999 in Bergen (Lochow-Petkus GmbH)

In Bergen lag der Mittelwert des prozentualen Ährenbefalls bei 32,9% und war damit deutlich höher als der Mittelwert von Grünbach mit 3,2% im gleichen Jahr. Der Mittelwert des prozentualen gewichteten Blattbefalls betrug 44,4% und war vergleichbar mit dem von Grünbach 1999 mit 65,5%, da der zugrundeliegende Boniturtermin von Grünbach etwas später lag.

Der Mittelwert der Halmlänge lag in Bergen bei 103,7 cm und war damit sehr ähnlich dem von Grünbach 1998 mit 104,7 cm und etwas höher als der von Grünbach 1999 mit 99,1 cm.

Tabelle 21: Mittelwerte und Spannweiten der Boniturdaten der 200 F₃-Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' im Jahr 1999 in Bergen (Lochow-Petkus GmbH)

Bergen 1999	Ährenbefall [%]	Blattbefall [%]	Halmlänge [cm]
Mittelwert	32,9	44,4	103,7
Spannbreite	10 - 60	17 - 83	80 - 125

Die Häufigkeitsverteilungen der bonitierten Merkmale sowie die Lage der Mittelwerte der F₃-Familien sind in Abbildung 7 dargestellt. Alle Häufigkeitsverteilungen zeigen eine gute Normalverteilung der Bonitурwerte.

3.2.2.1 Korrelationen Bergen

Die Korrelationen zwischen den bonitierten Merkmalen sind in der folgenden Tabelle aufgeführt:

Tabelle 22: Korrelationen zwischen den phänotypischen Merkmalsbonituren der 200 F₃-Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90' im Jahr 1999 in Bergen (Lochow-Petkus GmbH)

Bergen 1999	Ährenbefall	Blattbefall
Ährenbefall	--	0,51**
Halmlänge	- 0,19**	- 0,12

** Wert ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant

Zwischen dem prozentualen Ährenbefall und dem prozentualen gewichteten Blattbefall bestand eine signifikante mittlere positive Korrelation von 0,51, welche deutlich höher war, als die vergleichbaren Korrelationen von Grünbach 1998 mit 0,39 und Grünbach 1999 mit 0,06. Die Halmlänge war sowohl mit dem Ährenbefall als auch mit dem Blattbefall sehr schwach negativ korreliert, wobei die Korrelation mit dem Blattbefall auf einem Niveau < 0,05 nicht signifikant war.

3.2.3. Standort Hadmersleben

Der Anbau der F₃-Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' erfolgte in Hadmersleben im Jahr 1999 durch die Saatzucht Hadmersleben GmbH. Die Bonitur des prozentualen Ähren- und Blattbefalls wurde an drei Terminen durchgeführt, wobei die direkte Bonitur mit Noten von null bis neun erfolgte, welche danach in prozentualen Befall umgerechnet wurden (% Befall = Note × 12,5). Da die Werte des letzten Boniturtermins wenig differenzierten, wurden für beide Merkmale die Werte des zweiten Boniturtermins herangezogen.

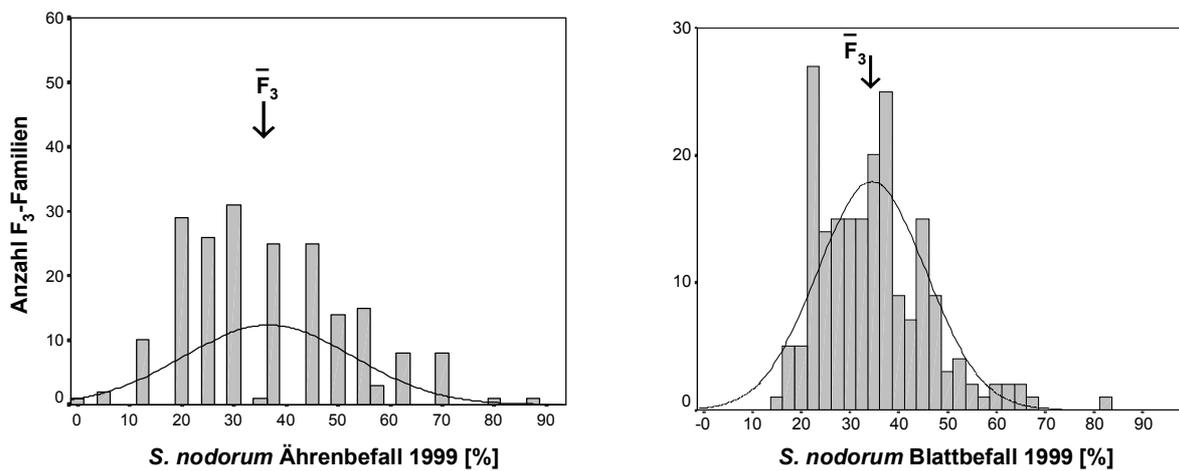


Abbildung 8: Häufigkeitsverteilungen der Boniturwerte für den prozentualen Ähren- und Blattbefall mit *S. nodorum* sowie Lage der Mittelwerte der 200 F₃-Familien im Jahr 1999 in Hadmersleben (Saatzucht Hadmersleben GmbH)

Der Mittelwert des prozentualen Ährenbefalls der F₃-Familien lag in Hadmersleben 1999 bei 36,6% und war damit höher als der von Grünbach 1999 mit 3,2% und vergleichbar mit dem von Bergen 1999 mit 32,9%. Mit einer Spannweite der Befallswerte von null bis 88% war diese weiter als die von Grünbach und Bergen (Tabelle 23).

Tabelle 23: Mittelwerte und Spannweiten der Befallsbonituren der 200 F₃-Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' im Jahr 1999 in Hadmersleben (Saatzucht Hadmersleben GmbH)

Hadmersleben 1999	Ährenbefall [%]	Blattbefall [%]
Mittelwert	32,9	44,4
Spannbreite	10 - 60	17 - 83

Der mittlere gewichtete Befall der Fahnenblätter lag bei 34,3% und war geringer als der von Grünbach 1999 bzw. Bergen und war vergleichbar mit dem von Grünbach 1998 von 35,9%. Die Verteilungen der Häufigkeiten für den prozentualen Ähren- und Blattbefall waren normal verteilt (Abbildung 8). Die Häufigkeitsverteilung des prozentualen gewichteten Blattbefalls zeigte dabei einen auffällig hohen Gipfel für relativ geringe Befallsstärken von 21,25% bis 23,75% Befall, was ein Hinweis auf ein oder zwei dominante Resistenzgene sein könnte. Einen vergleichbaren Gipfel zeigte auch die Häufigkeitsverteilung des Blattbefalls von Grünbach 1998.

3.2.3.1 Korrelationen Hadmersleben

Die Korrelation zwischen dem Ähren- und Blattbefall betrug 0,53 und war auf dem Niveau von 0,01% signifikant. Damit war die Korrelation ähnlich derjenigen in Bergen mit 0,51 und höher als die Korrelationen von Grünbach 1998 mit 0,39 und Grünbach 1999 mit 0,06.

3.2.4 Korrelationen zwischen den Umwelten

In Tabelle 24 sind die Korrelationen zwischen den zwischen den vier Umwelten Grünbach 1998, Grünbach 1999, Hadmersleben 1999 und Bergen 1999 für das Merkmal des prozentualen Ährenbefalls angegeben. Die stärkste signifikante Korrelation bestand mit 0,47 zwischen Grünbach 1998 und Hadmersleben 1999 und die schwächste zwischen Grünbach 1998 und Bergen 1999 mit 0,17. Die überwiegend schwachen Korrelationen, insbesondere zwischen den beiden Anbaujahren am Standort Grünbach, lassen vermuten, dass entweder die Ausprägung der Ährenresistenz stark von Umweltinteraktionen beeinflusst wird oder auf die schwierige Bonitierung zurückzuführen ist.

Tabelle 24: Korrelationen zwischen den einzelnen Umwelten für das Merkmal des prozentualen Ährenbefalls der 200 F₃-Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90'

Ährenbefall	Grünbach 1999	Hadmersleben 1999	Bergen 1999
Grünbach 1998	0,39**	0,47**	0,17*
Grünbach 1999	--	0,33**	0,20**
Hadmersleben 1999		--	0,40**

*/ **: Wert ist auf dem Niveau von 0,05 bzw. 0,01 signifikant

Die Korrelationen zwischen den Umwelten bezüglich des prozentualen Blattbefalls sind in Tabelle 25 dargestellt. Die stärkste signifikante Korrelation bestand zwischen Grünbach 1998 und Grünbach 1999 mit 0,54 und die schwächste zwischen Grünbach 1998 und Bergen 1999 mit 0,26. Die Korrelationen zwischen den Umwelten für den Blattbefall sind etwas stärker als für den Ährenbefall, aber nur als mittel bis schwach anzusehen. Dies deutet auf mittlere bis starke Umweltinteraktionen auch für die Ausprägung der Blattresistenz hin.

Tabelle 25: Korrelationen zwischen den einzelnen Umwelten für das Merkmal des prozentualen Blattbefalls der 200 F₃-Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90'

Blattbefall	Grünbach 1999	Hadmersleben 1999	Bergen 1999
Grünbach 1998	0,54**	0,51**	0,26**
Grünbach 1999	--	0,44**	0,31**
Hadmersleben 1999		--	0,49**

*/ **: Wert ist auf dem Niveau von 0,05 bzw. 0,01 signifikant

In Tabelle 25 sind die Korrelationen zwischen den Umwelten Grünbach 1998, Grünbach 1999 und Bergen 1999 bezüglich der Halmlänge wiedergegeben. Die stärkste signifikante Korrelation bestand zwischen Grünbach 1998 und Bergen 1999 mit 0,73 und die schwächste zwischen Grünbach 1998 und Grünbach 1999 mit 0,62. Im Vergleich zu den Korrelationen für den Ähren- bzw. Blattbefall waren die Korrelationen zwischen den Umwelten für das Merkmal Halmlänge recht stark, welches wahrscheinlich auf die einfachere und präzisere Bonitierung zurückzuführen ist (Tabelle 26).

Tabelle 26: Korrelationen zwischen den einzelnen Umwelten für das Merkmal Halmlänge der 200 F₃-Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/ 90'

Halmlänge	Grünbach 1999	Bergen 1999
Grünbach 1998	0,62**	0,73**
Grünbach 1999	--	0,70**
Bergen 1999		--

*/ **: Wert ist auf dem Niveau von 0,05 bzw. 0,01 signifikant

3.3 Markeranalyse bei den Elternlinien und der Kreuzungsnachkommen schaft der Kreuzung 'Piko' × 'Euris'

3.3.1 Analyse mit RFLP-Markern

Es wurden in einem ersten Schritt 16 RFLP-Sonden mit jeweils fünf Restriktionsenzymen (= 80 Enzym-Sonden-Kombinationen) auf Polymorphie zwischen den Elternlinien 'Piko' und 'Euris' untersucht. Von den 80 Enzym-Sonden-Kombinationen zeigten acht einen Polymorphismus zwischen den Eltern, welches einem Polymorphiegrad von 10,0% entsprach.

Aufgrund des niedrigen mit RFLP-Markern nachzuweisenden Polymorphiegrades, welcher für Weizen nicht ungewöhnlich ist, wurde auf eine weitere Untersuchung von RFLP-Markern verzichtet. Der Schwerpunkt wurde auf die Analyse von Mikrosatelliten-Markern gelegt, welche aufgrund einer nicht-radioaktiven Detektionsmethode anwendungsfreundlicher sind, meistens eine Chromosomenspezifität aufweisen und zudem einen höheren Grad an Polymorphismen aufdecken. Ein vergleichender Überblick ist in Tabelle 27 dargestellt.

3.3.2 Analyse mit Mikrosatelliten-Markern

Insgesamt wurden 101 SSR-Marker auf Polymorphie zwischen den Elternlinien 'Piko' und 'Euris' getestet, von denen 45 einen Polymorphismus detektierten. Dies entsprach einem Polymorphiegrad von 44,6% (Tabelle 27).

Tabelle 27: Überblick der RFLP- und SSR-Markeranalyse auf Polymorphie zwischen den Elternlinien 'Piko' und 'Euris'

	Anzahl getesteter Marker	Anzahl detektierter Polymorphismen	entsprechender Polymorphiegrad
RFLP*	80*	8	10,0 %
SSR	101	45	44,6 %

* Enzym-Sonden-Kombinationen

3.3.2.1 Ergebnis des diagnostischen Markers gwm261 für das Verzweigungsgen *Rht8*

Der SSR-Marker gwm261 ist diagnostisch für drei charakterisierte Allele des Verzweigungsgens *Rht8* (KORZUN et al. 1998), welche mit den amplifizierten Fragmentgrößen von 165, 174 und 192 bp assoziiert sind. Dieser Marker detektierte einen Polymorphismus zwischen den Elternlinien 'Piko' und 'Euris', mit amplifizierten Fragmentgrößen von 175 bp für 'Piko' und 165 bp für 'Euris'. Damit ist bei der Sorte 'Euris' ein Allel des *Rht8*-Gens detektiert, welches für eine Steigerung der Pflanzenhöhe um ca. drei Zentimeter verantwortlich ist. Dies haben die Feldversuche bestätigt, in welchen die Sorte 'Euris' im Mittel über die beiden Anbaujahre 3,1 cm höher als die Sorte 'Piko' war (Tabelle 28).

Tabelle 28: Halmlängendifferenzen der Sorten 'Piko' und 'Euris' in den Jahren 1998 und 1999 sowie amplifizierte Fragmentgrößen des für das *Rht8*-Gen diagnostischen SSR-Markers gwm261

	Piko	Euris	Differenz
Halmlänge 1998 [cm]	90,2	93,8	3,6
Halmlänge 1999 [cm]	92,3	94,8	2,5
Mittelwert	91,3	94,3	3,1
Amplifizierte Fragmentgrößen [bp]	175	165	

3.3.3 Kopplungsanalyse

Von den 45 SSR-Markern, die einen Polymorphismus zwischen den Elternlinien zeigten, wurden 34, welche insgesamt 38 Loci detektierten, über eine Teilpopulation von 96 Linien analysiert. In der Kopplungsanalyse mittels der Software MAPMAKER/EXP 3.0b (LANDER et al. 1987, LINCOLN und LANDER 1992) konnten für 16 SSR-Markerloci sechs Kopplungsgruppen mit einem LOD >2.5 berechnet werden. Zur Berechnung der Markerabstände wurde die Funktion nach Kosambi (KOSAMBI 1944) eingesetzt. Da die analysierten SSR-Marker für spezifische Chromosomen detektieren, konnten die Kopplungsgruppen bestimmten Chromosomen oder Chromosomenabschnitten zugeordnet werden. Die berechneten Kopplungsgruppen konnten den Chromosomenabschnitten von 1BS, 2DL, 5B, 5BL, 7A und 7B zugeordnet werden. Die Gesamtgröße der sieben Kopplungsgruppen umfasst 249 cM. In Abbildung 9 sind die Kopplungsgruppen, sowie die Marker und deren Abstände zueinander, schematisch dargestellt.

3.3.4 Untersuchung der Allelverteilung auf gestörte Spaltung

Die 38 Loci, welche durch 34 SSR-Marker detektiert werden konnten, der Kreuzung 'Piko' \times 'Euris' wurden mittels eines Chi-Quadrat-Tests auf das theoretisch zu erwartende Spaltungsverhältnis von 7:2:7 für kodominante Marker und von 9:7 für domonante Marker für eine F_4 -Nachkommenschaft überprüft. Dabei zeigten 25 Loci (65,8%) eine signifikant gestörte Segregation, welche ausserhalb des Vertrauensintervalls auf einem Niveau von 95% lagen. Die Allelverteilung der 38 Loci sowie die entsprechende Werte des Chi-Quadrat-Tests sind in der Tabelle 29 geordnet nach Chromosomenpositionen aufgelistet. Auffällig waren die Chromosomen 1B und 2D bei welchen jeweils alle vier untersuchten Loci eine gestörte Allelverteilung aufwiesen. Dabei zeigten diese Loci alle die gleiche Selektionsrichtung hin zur Elternlinie 'Piko'. Mehrere Loci mit gestörter Segregation mit Selektionsrichtung zum Elter 'Euris' konnten für das Chromosom 5B und 7B gefunden werden.

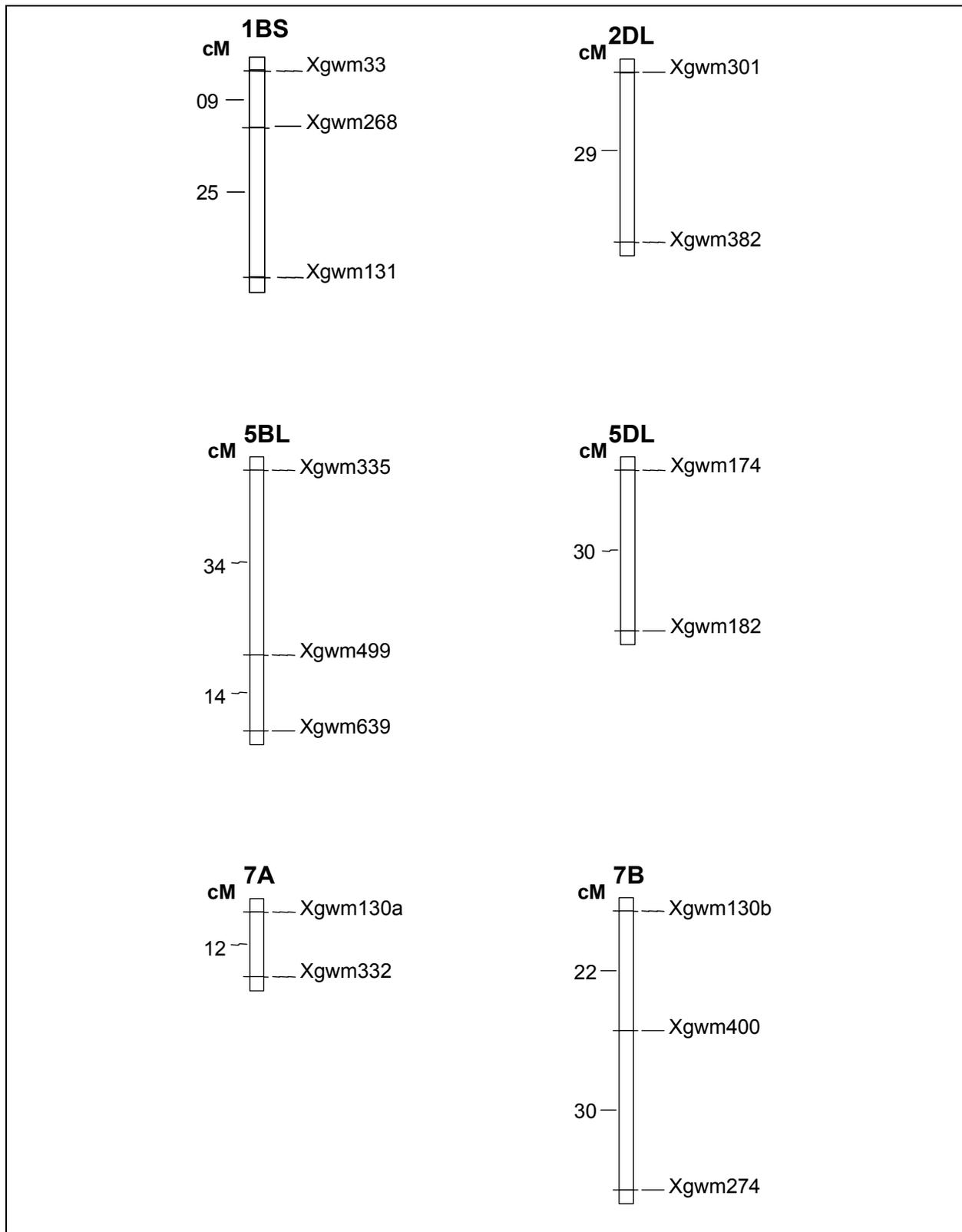


Abbildung 9: Genetische Kopplungskarte der Kreuzung 'Piko' × 'Euris'

3.3.5 Auftreten von Nullallelen

Ist nach der PCR-Reaktion eines SSR-Markers keine Bande bei der Gelelektrophorese für eine der Kreuzungselter zusehen, während für den zweiten Elter eine Bande vorliegt, bezeichnet man dies als Nullallel. Die Auswertung auf Segregation eines solchen Marker erfolgt nach An- bzw. Abwesenheit einer Bande bei der Analyse der Nachkommenschaft. Theoretisch ist eine kodominante Auswertung über die Bandenintensität möglich, welche allerdings sehr aufwendig und fehleranfällig ist. Deswegen wurden die SSR-Marker, die ein Nullallel detektierten, als dominante Marker ausgewertet, mit einem theoretisch zu erwartenden Spaltungsverhältnis von 9:7 für die F₄-Nachkommenschaft.

Von den 34 informativen SSR-Markern detektierten der Marker gwm33 und gwm340 je ein Nullallel sowie der Marker gwm497 zwei. Dabei stammte beim Marker gwm497 ein Nullallel vom Elter 'Piko' und eines vom Elter 'Euris', wobei die Erkennung dieser Nullallele auf der Angabe in der Literatur basierte (RÖDER et al. 1998). Die Nullallele der Marker gwm33 und gwm340 wies eine gestörte Spaltung auf, während die beiden Nullallele des Markers gwm497 sehr gut der erwarteten Allelverteilung entsprachen (Tabelle 29).

Tabelle 29: Allelverteilung und Chi-Quadrat-Test der untersuchten informativen Marker der Kreuzung 'Piko' × 'Euris'

Chromosom	Marker	'Piko'	'Euris'	Heterozyg.	χ^2
()	gwm304b	17	48	2	21,94
1BS	gwm274b	38	19	9	6,33
1AL	gwm497a *	47	44	(-)	0,78
1AS	gwm164	68	10	3	53,19
1BL [†] (3BL)	gwm131	61	23	4	23,84
1BS	gwm268	78	7	1	77,10
1BS [†] (AS/DS)	gwm33 *	82	9	(-)	42,39
2AL	gwm294	71	13	3	50,71
2AL/ BL/ DL	gwm382	48	20	12	11,66
2AS	gwm497b *	35	56	(-)	1,03
2AS	gwm95	47	34	3	8,42
2DL	gwm349	82	4	0	93,14
2DL	gwm301	57	19	6	22,14
2DS	gwm261	86	4	1	95,26
2DS/ AS	gwm296	58	7	1	52,32
3AS	gwm5	70	10	2	57,76
3BL	gwm340 *	64	26	(-)	8,08
3DL	gwm645	48	31	5	7,22
3DL	gwm52	42	46	5	4,51
3DS	gwm161	53	18	2	25,54
4AS/ BL/ DL	gwm165	49	37	2	10,29
4BL [‡]	WMS375	36	44	0	12,34
5AS	gwm304a	28	41	9	2,54
5AS/ DS	gwm205	71	12	5	48,95
5BL	gwm499	20	46	15	12,22
5BL [†] (AL/DL)	gwm639	15	45	28	41,71
5BS	gwm335	37	44	5	4,17
5BS	gwm234	54	26	9	10,53
5DL	gwm174	51	21	4	17,17
5DL	gwm182	36	49	6	5,03
5DL	gwm292	37	44	10	0,81
6BL	gwm219	74	14	5	48,55
7AL	gwm332	36	19	8	5,24
7AS [†]	gwm130a	66	17	8	34,92
7BL [†]	gwm274a	33	53	5	9,11
7BL	gwm344	26	39	8	2,80
7BS [†]	gwm130b	29	43	8	5,14
7BS	gwm400	41	38	10	0,25

†: kartierte Position des SSR-Markers mit multiplen Allelen

‡: Position nach KORZUN et al. (1997)

*: Loci mit Nullallel und dominanter Auswertung

3.4 Markeranalyse bei den Elternlinien und der Kreuzungsnachkommenschaft der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'

3.4.1 Analyse mit RFLP-Markern

Es wurden 60 RFLP-Sonden mit jeweils fünf Restriktionsenzymen (= 300 Enzym-Sonden-Kombinationen) auf Polymorphie zwischen den Elternlinien 'Apollo' und 'G18/90' untersucht. Von den 300 Enzym-Sonden-Kombinationen zeigten 21 einen Polymorphismus zwischen den Eltern, welches einem Polymorphiegrad von 7% entsprach. Damit war der mit RFLP-Markern nachzuweisende Polymorphiegrad ähnlich niedrig wie zwischen den Elternlinien 'Piko' und 'Euris'. Auf die weitere Untersuchung von RFLP-Markern wurde verzichtet und der Schwerpunkt auf die Analyse von Mikrosatelliten- und AFLP-Markern gelegt, welche einen höheren Grad an Polymorphismen aufdecken. Ein vergleichender Überblick ist in Tabelle 30 dargestellt.

3.4.2 Analyse mit Mikrosatelliten-Markern

Insgesamt wurden 118 SSR-Marker auf Polymorphie zwischen den Elternlinien 'Apollo' und 'G18/90' getestet, von denen 58 einen Polymorphismus detektierten. Dies entsprach einem Polymorphiegrad von 49,2% (Tabelle 30).

3.4.3 Analyse mit AFLP-Markern

Zur Prüfung auf nachzuweisende Polymorphismen zwischen den Elternlinien 'Apollo' und 'G18/90' wurden 36 Primerkombinationen in der selektiven Hauptamplifikation getestet. Im Durchschnitt konnten pro Primerkombination fünf AFLP-Fragmente, welche einen Polymorphismus detektierten, bestimmt werden, bei einer Spannbreite von null bis zwölf informativer Fragmente. Da die Anzahl an auswertbaren Fragmentbanden pro Primerkombination stark variierte, ist eine konkrete Berechnung des mit AFLP-Markern nachzuweisenden Polymorphiegrades schwierig. Ausgehend von durchschnittlich 103 amplifizierten Fragmenten pro Primerkombination, welches HUANG et al. (2000) bei ihrer Untersuchung von 256 *EcoRI* + ANN/ *MseI* + CNN Primerkombinationen ermittelten, lag der nachzuweisende Polymorphiegrad für die getesteten Primerkombinationen bei 4,9% (Tabelle 30).

Tabelle 30: Überblick der RFLP-, SSR- und AFLP-Markeranalyse auf Polymorphie zwischen den Elternlinien 'Apollo' und 'G18/90'

	Anzahl getesteter Marker	Anzahl detektierter Polymorphismen	entsprechender Polymorphiegrad
RFLP	300*	21	7,0%
SSR	118	58	49,2%
AFLP	36†	Ø 5‡	Ø 4,9%

* Enzym-Sonden-Kombinationen

† Primer-Kombinationen

‡ Detektierte Polymorphismen pro Kombination

3.4.4 Kopplungsanalyse und Kartierung

Von den auf Polymorphie zwischen den Elternlinien getesteten Markern bzw. Primerkombinationen wurden fünf RFLP- und 47 SSR-Marker sowie 19 AFLP-Primerkombinationen über 97 Linien der Nachkommenschaft analysiert. Die 19 AFLP-Primerkombinationen detektierten 121 auswertbare Polymorphismen, womit insgesamt 173 Marker mit 176 Loci für eine Kopplungsanalyse eingesetzt werden konnten. Mit dem Programm MAPMAKER/ EXP 3.0b (LANDER et al. 1987, LINCOLN und LANDER 1992) wurden für 96 Marker Kopplungen berechnet, welche 19 Kopplungsgruppen mit einem LOD-Wert von 3,0 und zwei Kopplungsgruppen mit einem LOD-Wert von 2,5 bildeten, bei einer maximalen Distanz zweier Marker von 37 cM.

Aufgrund der Chromosomenspezifität der kartierten RFLP- bzw. SSR-Marker konnten 15 Kopplungsgruppen bestimmten Weizenchromosomen zugeordnet werden (Abbildungen 10 bis 12). Für sechs Kopplungsgruppen, welche nur aus AFLP-Markern bestanden, war keine Zuordnung möglich (Abbildung 13). Auffällig für diese sechs Gruppen war, dass alle AFLP-Marker umgekehrt 3 zu 1 spalteten, d. h. die Anzahl nicht amplifizierter Fragmente zu amplifizierten Fragmenten entsprach einem Verhältnis von 3 zu 1. Zudem ist bemerkenswert, dass alle sechs Gruppen homogen waren bezüglich der elterlichen Herkunft des amplifizierten Allels dieser AFLP-Marker. Bei den Markern der Gruppen 3KG, 4KG, 5KG und 6KG stammte das amplifizierte Allel einheitlich vom Elter 'Apollo' und bei den Markern der Gruppen 1KG und 2KG vom Elter 'G18/90'. Weiterhin auffällig war, dass bei den Kopplungsgruppen 3BS und 5KG eine deutliche Clusterung von jeweils drei AFLP-Markern aus einer Primerkombination auftrat.

Die Kopplungsgruppen, welche mindestens einen RFLP- oder SSR-Marker beinhalteten, konnten den Weizenchromosomen 1BS, 1BL(7BL), 1DS, 2BS, 2BL, 2DL, 3AS, 3BS, 3D, 4BL, 5AS, 6B, 6D, 7A und 7BS zugeordnet werden. Da die Gruppen 1BL(7BL), 2BL, 3AS, 3BS und 7A nur jeweils einen SSR-Marker enthalten, war keine Angabe über die Markerorientierung dieser Gruppen möglich. Dies war ebenfalls nicht möglich für die Gruppen 2DL und 5AS, welche jeweils zwei SSR-Marker enthielten, da für die betreffenden SSR-Marker keine konkreten Kartierungen vorlagen. Die beiden RFLP-Marker Whs28 und Whs116, welche für homoeologe Loci der Chromosomengruppe 6 detektieren, zeigten lediglich eine Kopplung untereinander. Da die beiden Marker keine Kopplung mit SSR-Markern von Chromosom 6B zeigten und der Marker Whs116 nicht auf Chromosom 6A detektiert (WEIB 1995), wurden sie dem Chromosom 6D zugeordnet.

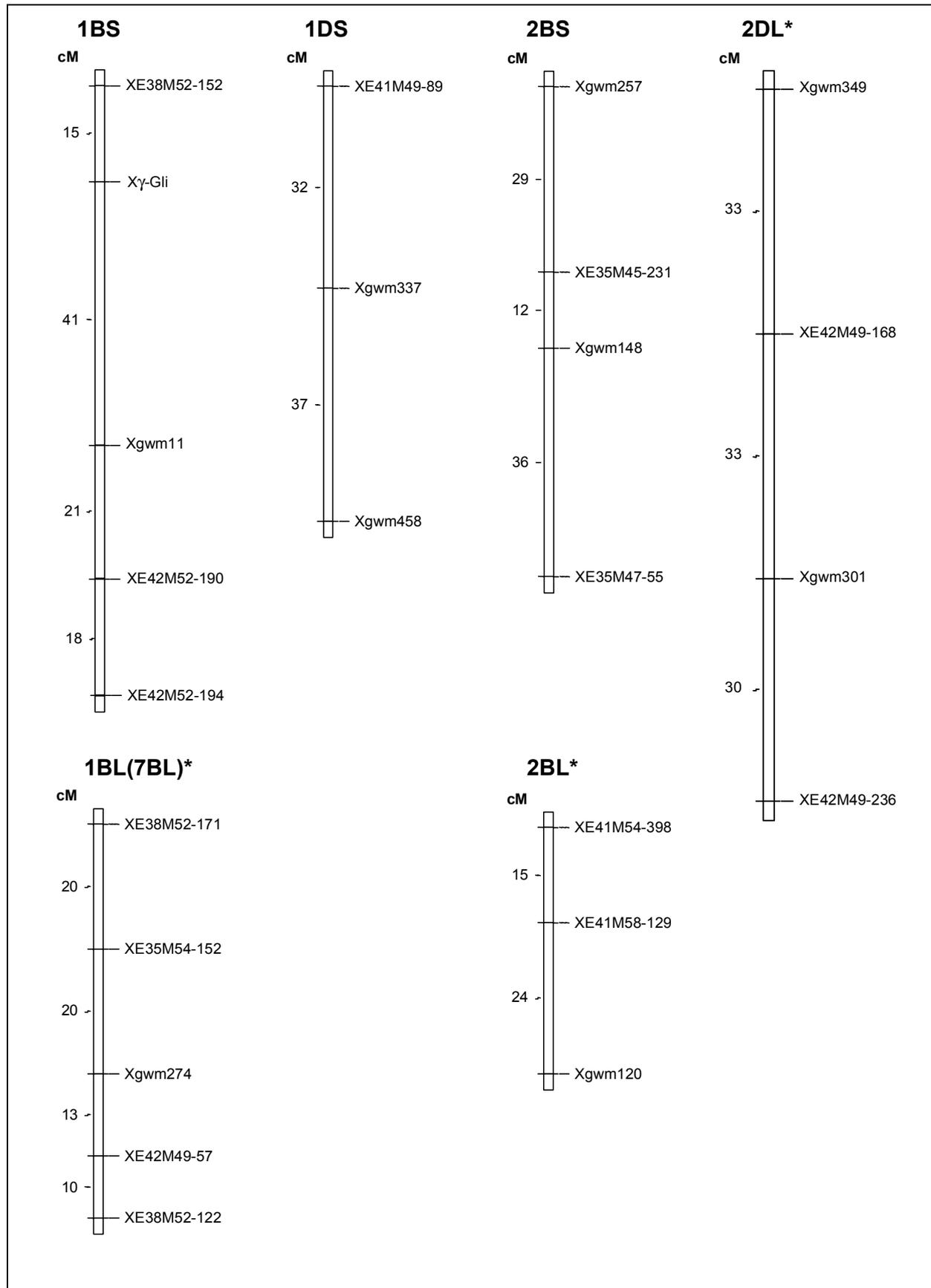


Abbildung 10: Genetische Karte der chromosomenspezifischen Kopplungsgruppen der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'

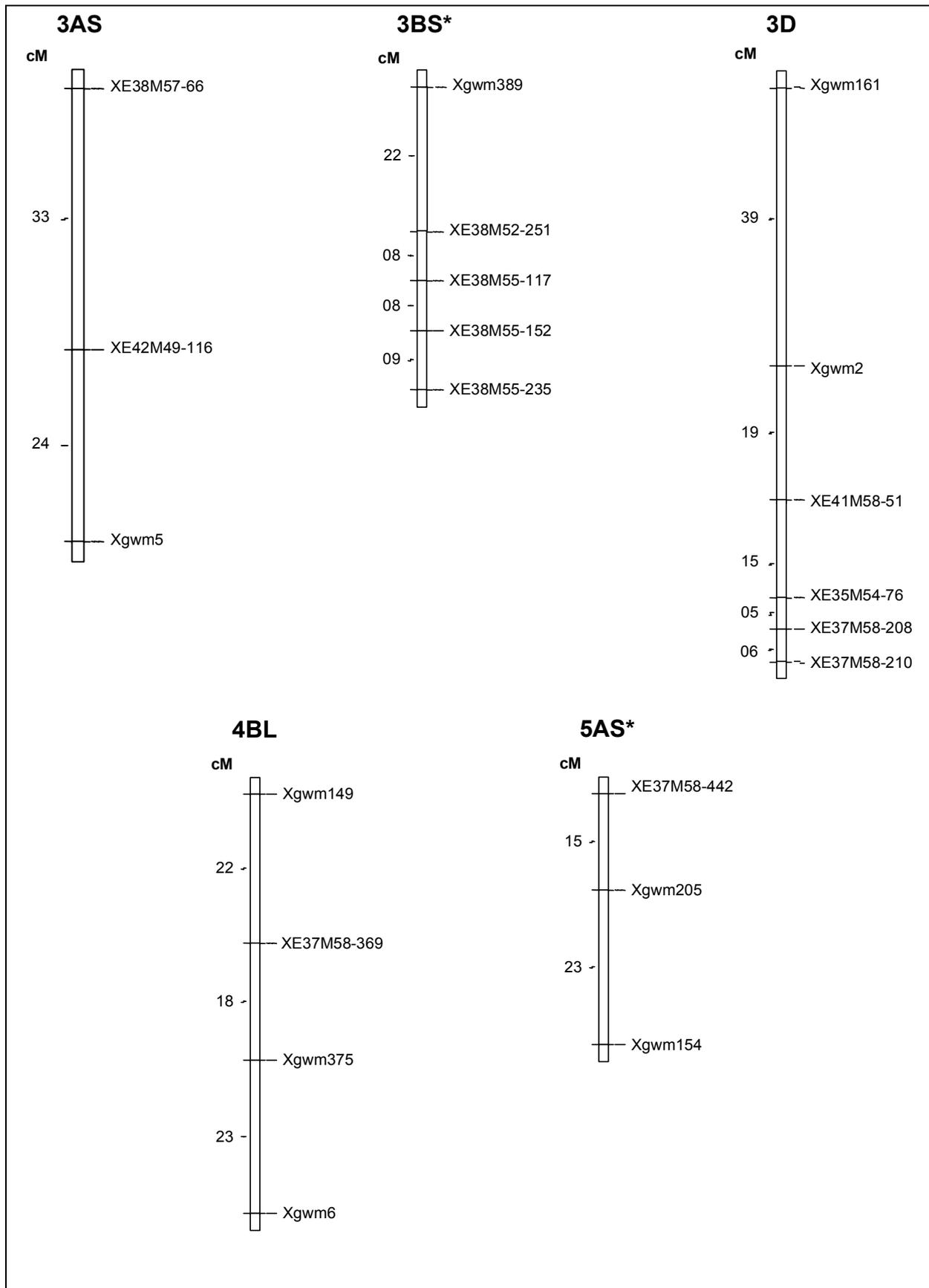


Abbildung 11: Genetische Karte der chromosomenspezifischen Kopplungsgruppen der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'

Für die Gruppe 1BL(7BL) erfolgte die Bezeichnung in dieser Weise, da der SSR-Marker gwm274 für Loci auf Chromosom 1BL als auch 7BL detektieren kann, wobei die amplifizierte Fragmentgrößen für eine Zuordnung zum Chromosom 1BL sprechen. Die gesamte Karte umspannt eine Länge von 1379,8 cM bei einem durchschnittlichen Markerabstand von 18,6 cM. Der durchschnittliche Markerabstand nimmt eine Spannweite von 4,25 cM/ Marker der Gruppe 6KG bis 34,5 cM/ Marker der Gruppe 1DS ein. Die Kopplungsgruppen 7BS und 6KG enthielten mit jeweils sieben Markern die meisten Marker, wobei die Gruppe 3DS mit 84 cM die längste und die Gruppe 6KG mit 19 cM die kürzeste Gruppe darstellte.

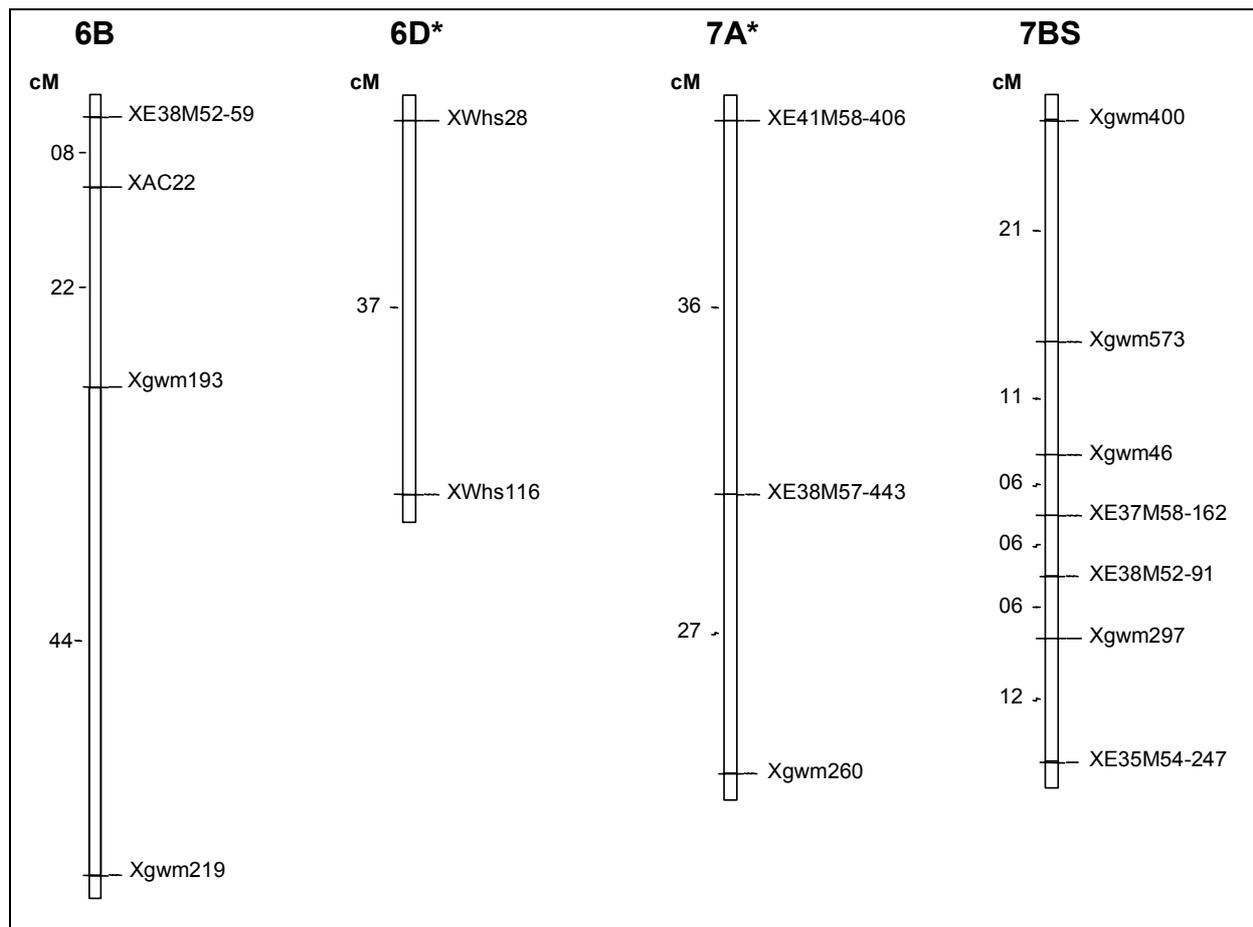


Abbildung 12: Genetische Karte der chromosomenspezifischen Kopplungsgruppen der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'

Die Verteilung der kartierten Marker auf die drei Weizen Genome A, B und D fiel sehr unterschiedlich aus. Prozentual konnten mit 60,7% die meisten Marker dem B-Genom zugeordnet werden, während auf das D-Genom 24,6% und auf das A-Genom mit 14,8% die wenigsten Marker entfielen.

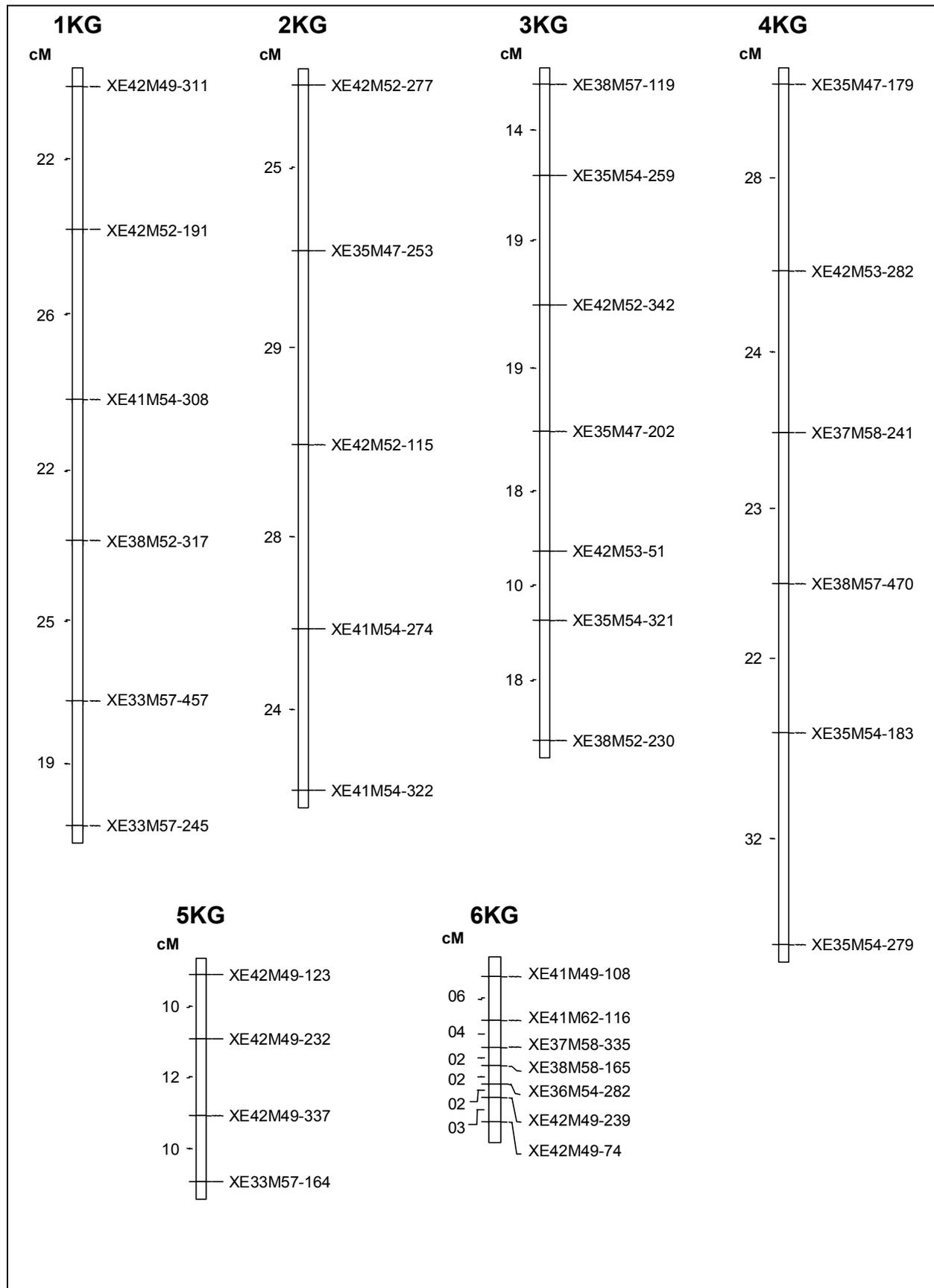


Abbildung 13: Genetische Karte der anonymen Kopplungsgruppen der Kreuzung 'Apollo' x 'G18/90'

3.4.5 Untersuchung auf gestörte Spaltung

Für die Untersuchung auf eine gestörte Spaltung wurden die 61 kartierten Markerloci der 19 Kopplungsgruppen, welche spezifischen Chromosomen zugeordnet werden konnten, mittels eines Chi-Quadrat-Tests auf das theoretisch zu erwartende Spaltungsverhältnis von 1:2:1 für kodominante Marker und von 3:1 für dominante Marker für eine F₃-Familie (genetisch F₂) überprüft. Insgesamt zeigten 19 Loci (31,1%) eine signifikant gestörte Spaltung, welche ausserhalb des Vertrauensintervalls auf dem Niveau von 95% lag. Die Allelverteilungen der kartierten Markerloci und Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests sind im Anhang in Tabelle 46 aufgelistet. Von den 19 Loci waren 14 AFLP-, sieben SSR- und einer ein RFLP-Locus. Vier Loci zeigten eine Selektionsrichtung zum Elter 'Apollo' und 15 Loci zum Elter 'G18/90'. Die Kopplungsgruppen mit mehreren Loci mit gestörter Segregation waren meist sehr homogen bezüglich der Schiefe zu einem Elter. Insbesondere die Kopplungsgruppen 1BL, 2BL, 2BS und 5AS zeigten eine einheitliche Selektionsrichtung bzw. Schiefe zum Elter 'G18/90' und die Kopplungsgruppe 7AS zum Elter 'Apollo'.

3.4.6 Auftreten von Nullallelen

Die Loci, welche von AFLP-Markern detektiert wurden, sind aufgrund der Methodik alle als "Nullallele" anzusehen und werden an dieser Stelle nicht weiter betrachtet. Bei den untersuchten RFLP- und SSR-Markern traten ebenfalls, wie bei der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' beschrieben, Nullallele auf, die in gleicher Weise als dominante Marker ausgewertet wurden mit einem theoretisch zu erwartenden Spaltungsverhältnis von 3:1 für die F₃-Familien (genetisch als F₂-Nachkommen zu bewerten). Von den insgesamt 52 informativen RFLP- und SSR-Markern detektierten fünf Marker zusammen sieben Nullallele, welche in der folgenden Tabelle aufgeführt sind.

Tabelle 31: Von RFLP- und SSR-Markern detektierte Nullallele der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'

Chromosom	Marker	Markertyp	'Apollo'	'G18/90'	χ^2
1AL	gwm497-1A	SSR	48*	40	19,43 ⁺
1BS [†]	gwm33-1B	SSR	23	72*	0,03
1DS [†]	gwm33-1D	SSR	68*	27	0,59
2AL	gwm497-2A	SSR	8	81*	12,17 ⁺
2DS	gwm484	SSR	26	69*	0,28
6BS [‡]	AC22	SSR	18	74*	1,45
6D [†]	Whs116	RFLP	16	74*	2,50

[†]: kartierte Position des Markers mit multiplen Allelen

[‡]: Position nach MA et al. (1996)

*: Detektiertes Allel; +: signifikant gestörte Spaltung ($\alpha = 0,05$)

Für eine theoretische Allelverteilung von 3:1 liegt der Grenzwert beim Chi-Quadrat-Test für eine signifikant gestörte Spaltung bei 3,84 für ein Niveau von $\alpha = 0,05$. Damit zeigten die beiden Nullallele, welche vom SSR-Marker gwm497 detektiert wurden, eine signifikant gestörte Segregation, während die übrigen Allelverteilungen gut der theoretisch erwarteten

Spaltung entsprachen. Bezüglich der Verteilung der detektierten Allele stammten mit fünf Allelen mehr vom Elter 'G18/90' als vom Elter 'Apollo' mit zwei Allelen. Bei den SSR-Markern gwm33 und gwm497, welche beide für zwei Nullallele detektierten, stammte jeweils ein Allel vom Elter 'G18/90' und eines vom Elter 'Apollo'.

3.5. Detektion von merkmalsrelevanten Genloci

3.5.1 Kreuzung 'Piko' × 'Euris'

3.5.1.1 Regressionsanalyse einzelner Marker

Mit den 34 SSR-Markern wurde eine Regressionsanalyse sowie eine Varianzanalyse (ANOVA) mittels der Software SPSS 10.0 durchgeführt. In Tabelle 32 sind die Ergebnisse der SSR-Marker, welche in der Regressionsanalyse eine signifikante Assoziation zu Befallsdifferenzen der untersuchten Linien mit *S. nodorum* zeigten, zusammengefasst. Der R²-Wert dient als Mass für den Anteil der phänotypischen Varianz des Genombereiches, welchen der Marker detektiert.

Tabelle 32: Signifikante R²-Werte einiger SSR-Marker für die Merkmale Ährenbefall, Blattbefall, Halmlänge und Ährenschieben der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den Jahren 1998 und 1999

R ² × 100		Ährenbefall		Blattbefall		Halmlänge		Ährenschieben	
Marker	Chr.	1998	1999	1998	1999	1998	1999	1998	1999
gwm33	1BS	3,3	n. s.	12,2	22,0	n. s.	n. s.	7,6	2,9
gwm268	1BS	n. s.	n. s.	8,8	3,0	n. s.	n. s.	4,3	4,8
gwm294	2AL	n. s.	n. s.	17,3	5,6	6,3	4,8	11,1	11,4
gwm296	2DS	16,2	n. s.	7,7	25,3	8,0	7,4	23,7	16,7
gwm5	3AL	4,2	n. s.	15,5	6,4	3,5	n. s.	7,5	6,0
gwm161	3DS	n. s.	n. s.	5,9	9,2	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.
gwm52	3DL	n. s.	7,4	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.	4,2	n. s.
gwm645	3DL	4,5	n. s.	13,9	7,8	n. s.	n. s.	13,0	15,6
gwm205	5AS/DS	n. s.	n. s.	11,0	4,3	n. s.	n. s.	3,9	5,0
gwm234	5BS	9,2	n. s.	9,5	6,9	3,8	n. s.	8,1	9,8
gwm174	5DL	n. s.	8,7	12,4	11,4	n. s.	n. s.	13,6	17,2
gwm130	7AS	5,3	3,9	6,2	3,3	10,8	14,5	19,6	4,2
gwm332	7AL	9,6	n. s.	8,5	7,0	16,4	4,9	26,1	15,6

n. s.: nicht signifikant

Für Chromosom 1BS zeigten die beiden Marker gwm33 und gwm268 signifikante R²-Werte bezüglich des prozentualen Blattbefalls in beiden Jahren, wobei die Werte für gwm33 deutlich höher waren. Die beiden Marker zeigten ebenfalls in beiden Jahren signifikante Assoziationen mit dem Ährenschieben. Der Marker gwm294, welcher auf Chromosom 2AL lokalisiert ist, wies signifikante Werte für R² für alle Merkmale in beiden Jahren auf, ausser für den Ährenbefall. Mit 17,3% wurde der höchste Wert für den Blattbefall im Jahr 1998 berechnet sowie mit 11,1% im Jahr 1998 und 11,4% im Jahr 1999 zwei Werte über 10% für das Ährenschieben. Für Chromosom 2DS ergaben sich signifikante Werte für R² für den Marker gwm296 bei allen Merkmalen in beiden Jahren, ausser für den Ährenbefall im Jahr 1999. Die höchsten Werte konnten für den Blattbefall mit 25,3% im Jahr 1999 und für das Ährenschieben mit 23,7% im Jahr 1998 berechnet werden. Der Marker gwm5 auf Chromosom 3AL zeigte im Jahr 1998 eine signifikante Assoziation mit dem Ährenbefall und für beide Jahre mit dem Blattbefall, wobei der Wert für R² im Jahr 1998 mit 15,5% relativ

hoch war. Ebenfalls nur für 1998 konnte eine Assoziation mit der Halmlänge und für beide Jahre mit dem Ährenschiefen bestimmt werden. Für die beiden Marker gwm161 und gwm645 auf Chromosom 3D konnten für den Blattbefall für beide Jahre signifikante Werte für R^2 berechnet werden. Der Marker gwm52, welcher ebenfalls auf 3D lokalisiert ist, zeigte nur eine Assoziation mit dem Ährenbefall für das Jahr 1999 und mit dem Ährenschiefen für 1998. Da der Marker gwm52 zwischen den beiden Markern gwm161 und gwm645 lokalisiert ist (RÖDER et al. 1998) und keinen signifikanten Zusammenhang mit dem Blattbefall zeigt, wäre daraus zu schliessen, dass die Marker gwm161 und gwm645 jeweils einen relevanten Locus für den Blattbefall detektieren. Der Marker gwm645 zeigte auch signifikante Werte für den Zeitpunkt des Ährenschiefens über beide Jahre, sodass auch ein QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiefens oder ein Pleiotropieeffekt eines QTL für Blattresistenz und Ährenschiefen auf 3D zu vermuten ist. Der Marker gwm205, welcher sowohl für einen Locus auf Chromosom 5AS als auch auf 5DS detektieren kann, war mit dem Blattbefall und mit dem Ährenschiefen in beiden Jahren signifikant assoziiert. Auf Chromosom 5BS ergaben sich signifikante R^2 -Werte für den Marker gwm234 bei allen Merkmalen in beiden Jahren, ausser für den Ährenbefall und die Halmlänge im Jahr 1999. Der auf Chromosom 5DL lokalisierte Marker gwm174 wies signifikante R^2 -Werte für den Ährenbefall im Jahr 1999 und für den Blattbefall in beiden Jahren auf. Ebenfalls zeigte dieser Marker relativ hohe Assoziationen mit dem Ährenschiefen in beiden Jahren. Der Marker gwm130 zeigte für alle vier Merkmale signifikante Werte für R^2 in beiden Jahren, wobei die Werte für die Halmlänge mit über 10% in beiden Jahren als auch für das Ährenschiefen im Jahr 1998 mit 19,6% am grössten waren. Vermutlich haben die Assoziationen mit dem Ähren- und Blattbefall ihre Ursache in den hohen Assoziationen mit der Halmlänge bzw. dem Ährenschiefen. Denkbar wäre auch eine Kopplung von QTL für Ähren- und Blattresistenz mit QTL für Halmlänge bzw. Ährenschiefen. Für den Marker gwm332, welcher ebenfalls auf Chromosom 7A liegt, konnten signifikante Werte ebenfalls für alle Merkmale in beiden Jahren, ausser für den Ährenbefall im Jahr 1999, bestimmt werden. Sehr hohe Werte ergaben sich für das Ährenschiefen mit 26,1% im Jahr 1998 und 15,6% in Jahr 1999.

3.5.1.2 QTL-Analyse

Anhand der Markerdaten und Feldbonituren für 96 F_4 -Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' wurde mittels dem Programm PLABQTL eine Abschätzung von QTL-Positionen durchgeführt. Für die zugrundeliegenden Daten wurde ein Schwellenwert für die Signifikanz eines QTLs von $LOD > 2,34$ bei einem Niveau von 0,05 berechnet. Für die Wahl eines Berechnungsmodells, insbesondere bei der eventuellen manuellen Auswahl von Kofaktoren, wurde der grössere negative Wert des 'Akaike's Information Criterion' (AIC) als Kriterium herangezogen.

3.5.1.2.1 Resistenz der Ähre gegen *S. nodorum*

Für eine Ährenresistenz gegen *S. nodorum* konnten keine signifikanten QTL lokalisiert werden. Als Hauptursachen dafür sind die geringe Genomabdeckung sowie die vergleichsweise geringe Anzahl an untersuchten Linien zu sehen. Eine weitere Ursache ist eventuell die Bonitierungsverfahren, welche hauptsächlich den fortschreitenden Befall auf der Ähre erfasst und weniger den Verlauf auf den einzelnen Ährchen bzw. Spelzen (Zunahme der Flächen von Läsionen und Nekrosen).

3.5.1.2.2 Resistenz der Blätter gegen *S. nodorum*

Für die Abschätzung von QTL für eine Blattresistenz gegen *S. nodorum* wurden die Befallsbonituren von Fahnenblatt und Fahnenblatt minus eins zusammengefasst mit einer doppelten Gewichtung des Fahnenblattes. Die Ergebnisse der mit der CIM-Methode berechneten QTL für die einzelnen Anbaujahre sind in Tabelle 33 dargestellt.

Tabelle 33: Lokalisierte QTL für eine Blattresistenz gegen *S. nodorum* der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den einzelnen Jahren 1998 und 1999 in Freising

Blattresistenz (CIM)			Freising 1998			Freising 1999		
Chr.	Flankierende Markerloci	Intervall [cM]	LOD	R ² [%]	Additiver Effekt	LOD	R ² [%]	Additiver Effekt
1BS	Xgwm33 – Xgwm268	9	4,31	20,4	7,8 [P]	4,54	21,4	7,6 [P]

[P] Allel für geringeren Befall vom Elter 'Piko'

Es konnte ein QTL für Blattresistenz detektiert werden, welcher auf 1BS lokalisiert war. Der QTL konnte für beide Jahre berechnet werden mit jeweils einer erklärbaren phänotypischen Varianz (R²) von über 20%, woraus sich vermuten lässt, dass es sich um einen Haupt-QTL für Blattresistenz handeln könnte. Die vergleichbar hohen Werte weisen zudem auf eine Konsistenz des QTLs über die Anbaujahre hin. Die beiden lokalisierten QTL im Jahr 1999 erklärten zusammen 36,6% der phänotypischen Varianz. Die Allele der gefundenen QTL stammten alle vom weniger anfälligen Elter 'Piko'. In gleicher Weise wurde eine QTL-Analyse nach Berechnung der Mittelwerte aus beiden Jahren durchgeführt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Tabelle 34: Lokalisierte QTL für Blattresistenz gegen *S. nodorum* der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' mit den gemittelten Boniturdaten über die Jahre 1998 und 1999 in Freising

Blattresistenz (CIM)			Freising 1998/ 1999		
Chr.	Flankierende Markerloci	Intervall [cM]	LOD	R ² [%]	Additiver Effekt
1BS	Xgwm33 – Xgwm268	9	5,97	27,1	8,0 [P]
5DL	Xgwm174 – Xgwm182	30	2,43	15,6	3,4 [E]

[P], [E] Allel für geringeren Befall vom Elter 'Piko' bzw. 'Euris'

Es konnten zwei QTL berechnet werden, von denen der eine auf Chromosom 1BS und der andere auf 5DL lokalisiert war. Der lokalisierte QTL auf Chromosom 1BS lag in demselben Intervall in welchem die QTL für die einzelnen Jahre lokalisiert worden waren.

Allerdings war der LOD mit 5,97 höher als in den einzelnen Jahren, welches für eine Konsistenz des QTLs über die Jahre spricht. Der Anteil der erklärbaren phänotypischen Varianz lag mit 27,1% ebenfalls höher als in den einzelnen Jahren und unterstreicht die Vermutung, dass es sich um einen Haupt-QTL für Blattresistenz gegen *S. nodorum* handeln könnte. Das Allel für eine geringere Anfälligkeit stammte wie in den einzelnen Jahren vom weniger anfälligen Elter 'Piko'.

Der lokalisierte QTL auf Chromosom 5DL erklärte 15,6% der phänotypischen Varianz mit einem additiven Effekt von 3,4%. Dabei stammte das Allel für eine geringere Anfälligkeit vom Elter 'Euris'. Der vergleichsweise kleine LOD-Wert von 2,43 als auch die Lokalisierung dieses QTLs nur nach Berechnung der Mittelwerte der Jahre lässt vermuten, dass es sich um einen Minor-QTL handelt oder dass der QTL eventuell durch Genorte für die Halmlänge oder das Ährenschieben im gleichen Intervall oder in der benachbarten Region vorgetäuscht wurde.

3.5.1.2.3 Halmlänge

Für das Merkmal der Halmlänge konnte nur ein QTL auf Chromosom 7A für das Jahr 1998 lokalisiert werden (Tabelle 35). Der Anteil der erklärbaren phänotypischen Varianz des QTLs von 23,1% war relativ hoch, bei einem additiven Effekt von 6,5 cm. Das Allel für eine grössere Halmlänge kam von dem längeren Elter 'Euris'. Im selben Markerintervall konnte für 1998 und 1999 ein QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens detektiert werden.

Tabelle 35: Lokalisierte QTL für Halmlänge der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den einzelnen Jahren 1998 und 1999 in Freising

Halmlänge (CIM)			Freising 1998			Freising 1999		
Chr.	Flankierende Markerloci	Intervall [cM]	LOD	R ² [%]	Additiver Effekt	LOD	R ² [%]	Additiver Effekt
7A	Xgwm130a – Xgwm332	12	2,73	23,1	6,5 [E]	--	--	--

[E] Allel für grössere Halmlänge vom Elter 'Euris'

3.5.1.2.4 Zeitpunkt des Ährenschiebens

Zur Abschätzung von QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens in Tagen ab dem ersten Mai sind die Mittelwerte aus den Bonituren der beiden Wiederholungen verrechnet worden. Die Ergebnisse der CIM-Kartierungen sind in Tabelle 36 angegeben.

Tabelle 36: Lokalisierte QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den einzelnen Jahren 1998 und 1999 in Freising

Ährenschieben (CIM)			Freising 1998			Freising 1999		
Chr.	Flankierende Markerloci	Intervall [cM]	LOD	R ² [%]	Additiver Effekt	LOD	R ² [%]	Additiver Effekt
5DL	Xgwm174 – Xgwm182	30				3,35	20,8	1,3 [E]
7A	Xgwm130a – Xgwm332	12	4,17	33,0	1,0 [P]	2,61	23,5	1,6 [P]

[P], [E] Allel für späteren Zeitpunkt vom Elter 'Piko' bzw. 'Euris'

Für den Zeitpunkt des Ährenschiebens konnten zwei QTL auf den Chromosomen 5DL und 7A lokalisiert werden. Der QTL auf 7A konnte für beide Jahre berechnet werden, wobei der Anteil der erklärbaren phänotypischen Varianz für 1998 33,0% und für 1999 23,5% betrug, was relativ hoch ist und auf einen möglichen Haupt-QTL hindeutet. Der additive Effekt dieses QTL lag im Mittel der beiden Jahre bei 1,3 Tagen. Das Allel für einen späteren Zeitpunkt des Ährenschiebens des QTL auf Chromosom 7A stammte vom Elter 'Piko' und für den QTL auf 5DL vom Elter 'Euris'. Der QTL auf Chromosom 5DL erklärte einen Anteil von 20,8% der phänotypischen Varianz, was vergleichsweise hoch ist. Das Ergebnis der QTL-Analyse nach Berechnung der Mittelwerte über beide Jahre ist in der folgenden Tabelle dargestellt:

Tabelle 37: Lokalisierter QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' nach Berechnung des Mittelwertes der Boniturdaten über die Jahre 1998 und 1999 in Freising

Ährenschieben (CIM)			Freising 1998/ 1999		
Chr.	Flankierende Markerloci	Intervall [cM]	LOD	R ² [%]	Additiver Effekt
7A	Xgwm130a – Xgwm332	12	4,32	34,2	1,4 [P]

[P], [E] Allel für späteren Zeitpunkt vom Elter 'Piko' bzw. 'Euris'

Es konnte nur der QTL auf Chromosom 7A berechnet werden, welcher schon für die einzelnen Jahre lokalisiert worden war. Bei der Berechnung über beide Jahre lag der der LOD mit 4,32 höher als in den einzelnen Jahren, welches für eine Konsistenz des QTLs über die Umwelten spricht. Der Anteil der erklärbaren phänotypischen Varianz lag mit 34,2% relativ hoch und unterstützt die Vermutung, dass sich möglicherweise um einen Haupt-QTL handelt. Der additive Effekt von 1,4 Tagen entspricht dem Mittel der einzelnen Jahre und das Allel dieses QTL stammte wie in den einzelnen Jahren vom Elter 'Piko'.

3.5.1.2.5 Analyse der Marker für den QTL für Blattresistenz auf Chromosom 1BS über die Gesamtpopulation

Die SSR-Marker gwm33, gwm268 und gwm131 wurden über die restlichen 94 der insgesamt 190 F₄-Linien analysiert, um den, anhand der Analyse von 96 Linien lokalisierten, QTL auf Chromosom 1BS eingehender zu prüfen.

In der Kopplungsanalyse wurde die gleiche Markerreihenfolge berechnet, wobei der Abstand der Marker gwm33 und gwm268 zwei cM und der zwischen gwm268 und gwm131 fünf cM grösser war. Somit waren die Kopplungsgruppe und die Markerreihenfolge nicht signifikant unterschiedlich sowie die Markerabstände vergleichbar, mit denen aus der Analyse mit 96 Linien (Abbildung 14).

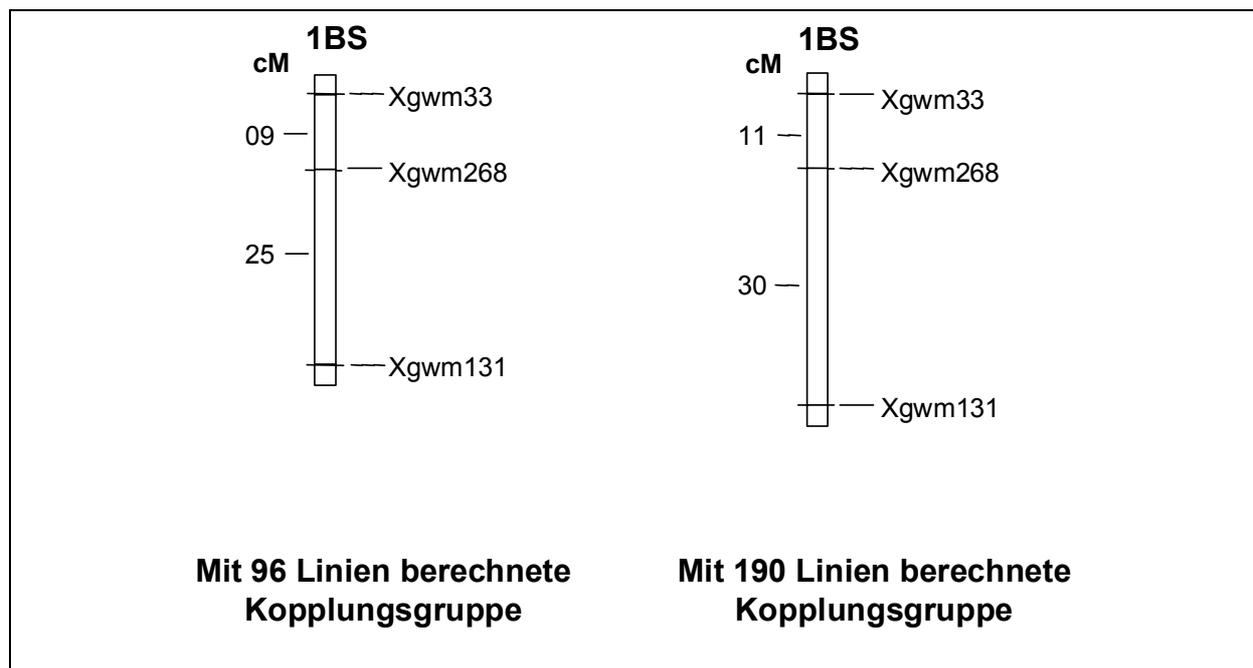


Abbildung 14: Genetische Karten der Kopplungsgruppe von Chromosom 1BS berechnet anhand der Markerdaten von 96 bzw. 190 Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris'

Es wurde eine QTL-Analyse mit dieser neu berechneten Kopplungsgruppe und den entsprechenden Marker- und Boniturdaten der 190 Linien durchgeführt. Das Ergebnis zeigt die Tabelle 38. Es konnte der gleiche QTL zwischen den Markern gwm33 und gwm268 in beiden Jahren detektiert werden wie mit der Teilpopulation, zudem mit höheren LOD-Werten. Die höheren LOD-Werte waren vermutlich bedingt durch die höhere Anzahl von analysierten Linien, da die Effektivität der QTL-Detektion als auch die Aussagekraft über eine mögliche QTL-Position mit steigender Anzahl an untersuchten Linien zunimmt, bedingt durch die zugrundeliegende statistische Berechnung.

Tabelle 38: Lokalisierte QTL für eine Blattresistenz gegen *S. nodorum* über 190 F₄-Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den einzelnen Jahren 1998 und 1999 in Freising

Blattresistenz (CIM)			Freising 1998			Freising 1999		
Chr.	Flankierende Markerloci	Intervall [cM]	LOD	R ² [%]	Additiver Effekt	LOD	R ² [%]	Additiver Effekt
1BS	Xgwm33 – Xgwm268	11	5,29	23,5	8,5 [P]	6,64	28,5	8,5 [P]

[P] Allel für geringeren Befall vom Elter 'Piko'

Auch bei der Analyse nach der Berechnung der Mittelwerte der Boniturdaten ergab sich eine höherer LOD-Wert von 7,70 im Vergleich zu dem Wert berechnet mit 96 Linien von 5,97. Die Ergebnisse der Analyse mit den gemittelten Boniturdaten über beide Jahre zeigt die Tabelle 39.

Tabelle 39: Lokalisierter QTL für Blattresistenz gegen *S. nodorum* anhand von 190 F₄-Linien Kreuzung 'Piko' × 'Euris' und der gemittelten Boniturdaten über die Jahre 1998 und 1999 in Freising

Blattresistenz (CIM)			Freising 1998/ 1999		
Chr.	Flankierende Markerloci	Intervall [cM]	LOD	R ² [%]	Additiver Effekt
1BS	Xgwm33 – Xgwm268	11 (9)	7,70 (5,97)	32,3 (27,1)	8,6 [P] (8,0 [P])

[P] Allel für geringeren Befall vom Elter 'Piko', (): Werte berechnet mit 96 Linien

Der lokalisierte QTL erklärte eine phänotypische Varianz von 32,3% und hatte einen additiven Effekt von 8,6%, womit beide Werte etwas höher ausfielen als bei der Analyse mit der Teilpopulation. Das Allel stammte wie auch schon bei der Analyse der Teilpopulation vom weniger anfälligen Elter 'Piko'. Somit hat die Analyse der drei SSR-Marker der Kopplungsgruppe von Chromosom 1BS über die Gesamtpopulation von 190 Linien den lokalisierten QTL auf Chromosom 1BS bestätigt und unterstützt weiterhin die Vermutung, dass es sich um einen Haupt-QTL handeln könnte. In Abbildung 15 sind die LOD-Plotkurven der CIM-Analyse für die Blattresistenz in den einzelnen Jahren als auch für das Mittel über die Jahre für das Chromosom 1BS dargestellt. Die LOD-Plotkurven geben die berechnete Wahrscheinlichkeit für einen möglichen QTL in Abhängigkeit der Position auf dem Chromosom in Abständen von 2 cM wieder. Der Gipfel der Kurve, welcher die wahrscheinlichste Position des QTLs darstellt, für das Mittel über die Jahre liegt höher als die Gipfel der Kurven für die einzelnen Jahre. Dies kann als Hinweis für eine Konsistenz dieses QTL über die beiden Umwelten gesehen werden.

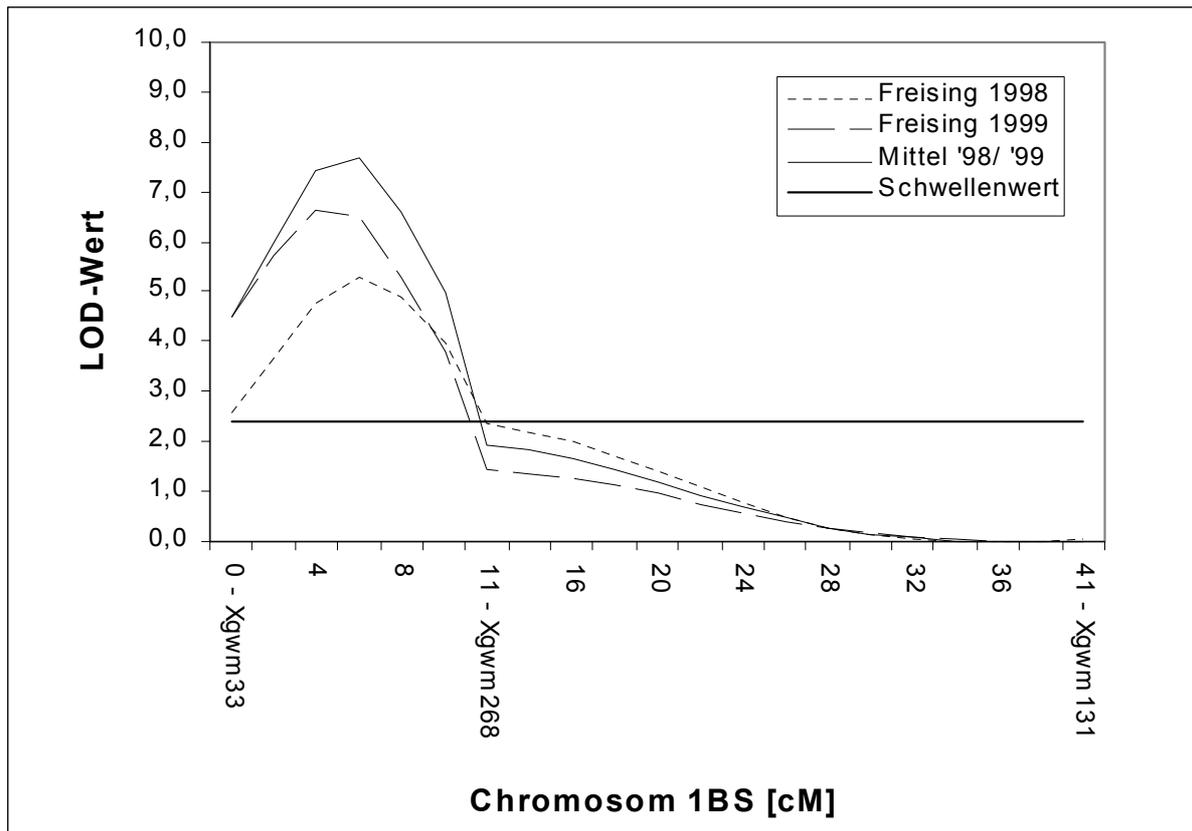


Abbildung 15: LOD-Plotkurven der CIM-Analyse der QTL für Blattresistenz gegen *S. nodorum* auf Chromosom 1BS der 190 F₄-Linien der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in den Jahren 1998 und 1999 sowie deren Mittel

3.5.2 Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'

3.5.2.1 Regressionsanalyse einzelner Marker

Mit den untersuchten RFLP- und SSR-Markern sowie einigen ausgewählten AFLP-Markern wurde eine Regressionsanalyse als auch eine Varianzanalyse mittels der Software SPSS 10.0 durchgeführt. Der Wert für R^2 beschreibt den Anteil der phänotypischen Varianz des Genombereiches, welchen der Marker detektiert. Die Ergebnisse der Marker, welche eine signifikante Assoziation zu Befallsdifferenzen der untersuchten Linien mit *S. nodorum* bzw. zu morphologischen Merkmalsdifferenzen zeigten, sind in den Tabellen 40 bis 43 aufgeführt.

3.5.2.1.1 Ährenbefall

In der folgenden Tabelle sind die R^2 -Werte einiger Marker bezüglich des prozentualen Ährenbefalls in vier Umwelten angegeben:

Tabelle 40: Signifikante R^2 -Werte einiger Marker für den prozentualen Ährenbefall mit *S. nodorum* der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' in den vier Umwelten Grünbach 1998 und 1999, Hadmersleben 1999 und Bergen 1999

Ährenbefall		Grünbach	Grünbach	Hadmersleben	Bergen
Marker	Chromosom	1998	1999	1999	1999
ksuD18	2AS	n. s.	2,8	n. s.	4,5
E37M58-208	3DS	n. s.	n. s.	n. s.	5,2
gwm67	5BL	6,0	n. s.	n. s.	n. s.
gwm118	5BL	n. s.	3,8	n. s.	n. s.
gwm292	5DL	n. s.	6,7	n. s.	n. s.
gwm334	6AS	n. s.	n. s.	4,0	n. s.
gwm260	7AS	n. s.	4,5	n. s.	n. s.
E35M54-183	4KG	4,2	n. s.	7,2	n. s.

n. s.: nicht signifikant

Der RFLP-Marker ksuD18, welcher für Chromosom 2AS detektiert, zeigte signifikante R^2 -Werte von 2,8% am Standort Grünbach und von 4,5% am Standort Bergen jeweils für das Jahr 1999. Der AFLP-Marker E37M58, welcher auf dem Chromosom 3DS kartiert wurde, wies einen signifikanten Wert von 5,2% für den Standort Bergen 1999 auf. Für Chromosom 5BL ergaben sich signifikante Werte für R^2 für den Marker gwm67 mit 6,0% in Grünbach im Jahr 1998 und für den Marker gwm118 mit 3,8% im Jahr 1999 am gleichen Standort. Der SSR-Marker gwm292, welcher auf Chromosom 5DL lokalisiert ist, zeigte einen signifikanten R^2 -Wert von 6,7% für den Standort Grünbach im Jahr 1999. Der auf Chromosom 6AS lokalisierte Marker gwm334 zeigte eine signifikante Assoziation zum Ährenbefall für den Standort Hadmersleben von 4,0%. Für das Chromosom 7AS ergab der Marker gwm260 einen signifikanten R^2 -Wert von 4,5% für den Standort Grünbach im Jahr 1999. Der AFLP-Marker E35M54-183, welcher für die anonyme Kopplungsgruppe 4KG kartiert wurde, zeigte

signifikante Werte von 4,2% für den Standort Grünbach 1998 und von 7,2% für den Standort Hadmersleben 1999. In Abbildung 16 sind die Mikrosatellitenmarker gwm67 und gwm260 zusammen mit vier weiteren Markern im Ausschnitt eines Gelbildes der Fragmentanalyse zu sehen.

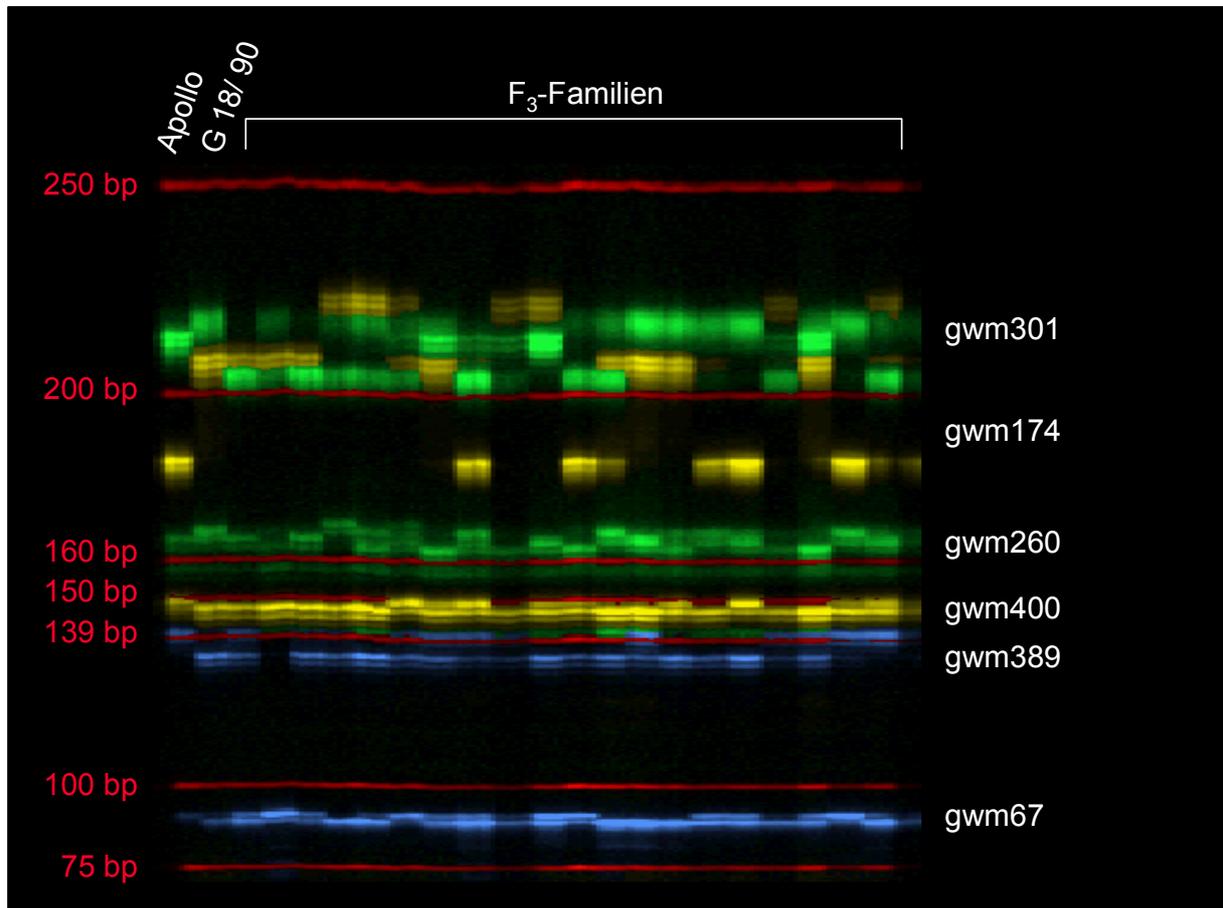


Abbildung 16: Ausschnitt eines Gelbildes der Mikrosatelliten-Fragmentanalyse von sechs Mikrosatelliten (WMS174 u. 400 (gelbe Fluoreszenz), WMS67 u. 389 (blau), WMS260 u. 301 (grün); Fragmentgrößenstandard (rot)) mit den Elternlinien 'Apollo' und 'G18/90' sowie einem Teil der Nachkommenschaft (F_3 -Familien)

Insgesamt waren alle berechneten R^2 -Werte bezüglich der Assoziation mit dem prozentualen Ährenbefall eher klein und reichten von 2,8 bis 7,2%. Mit dem RFLP-Marker *ksuD18* sowie dem AFLP-Marker E35M54-183 gab es nur zwei Marker für die signifikante R^2 -Werte in zwei Umwelten berechnet werden konnten. Daneben ergaben sich nur für den Chromosomenabschnitt 5BL signifikante Werte für zwei Umwelten, allerdings einmal mit dem Marker *gwm67* und einmal mit dem Marker *gwm118*. Für die beiden Marker konnte in der Kopplungsanalyse keine Kopplung berechnet werden.

3.5.2.1.2 Blattbefall

Die Ergebnisse der Regressionsanalyse bezüglich des prozentualen Blattbefalls zeigt die Tabelle 41. Der SSR-Marker γ -Gliadin, welcher auf Chromosom 1BS lokalisiert ist, zeigte signifikante R^2 -Werte von 3,1% für den Standort Hadmersleben und 10,5% für den Standort Bergen jeweils im Jahr 1999. Der ebenfalls auf Chromosom 1BS lokalisierte Marker *gwm11* wies einen signifikanten Wert von 4,9% für den Standort Bergen 1999 auf. Die zwei auf Chromosom 3DS lokalisierten SSR-Marker *gwm161* und *gwm2* zeigten jeweils einen signifikanten Wert für R^2 , allerdings für verschiedene Standorte, wobei die Werte mit 3,9%

für gwm161 für den Standort Hadmersleben 1999 und mit 4,2% für gwm2 für den Standort Bergen 1999 vergleichbar waren. Der ebenfalls auf 3DS kartierte AFLP-Marker E37M58-208 wies einen signifikanten Wert von 5,2% für den Standort Bergen 1999 auf, was bemerkenswert ist, da der Marker auch eine signifikante Assoziation zum Ährenbefall für den gleichen Standort zeigte. Der AFLP-Marker E37M58-369, welcher für Chromosom 4BL kartiert wurde, zeigte einen signifikanten Wert von 5,8% für den Standort Grünbach 1998. Für den Marker gwm334 auf Chromosom 6AS konnten drei signifikante R^2 -Werte berechnet werden, welche für den Standort Grünbach 1998 4,3% und 1999 4,7% sowie für den Standort Hadmersleben 1999 2,9% betragen. Diese drei Werte von vergleichbarer Grösse lassen vermuten, dass sich auf Chromosom 6AS entweder ein kleiner QTL für Blattresistenz mit grosser Konsistenz oder einer grösserer QTL in grösserer Entfernung zum Marker gwm334 befindet. Zusätzlich zeigte der Marker gwm334 eine signifikante Assoziation zum Ährenbefall für den Standort Hadmersleben 1999. Der Marker gwm193, welcher auf 6BS lokalisiert ist, zeigte signifikante Werte für R^2 für die Standorte Grünbach 1998 mit 7,5% und Bergen 1999 mit 3,1%. Für den auf Chromosom 6D kartierten RFLP-Marker Whs116 konnten für den Standort Grünbach 1999 mit 6,0% und Hadmersleben mit 3,2% ebenfalls zwei signifikante R^2 -Werte berechnet werden. Ein weiterer Marker, für welchen drei signifikante R^2 -Werte berechnet werden konnten, war der SSR-Marker gwm 130 auf Chromosom 7AS. Dabei ergaben sich für die Standorte Grünbach 1999 mit 3,0% und Hadmersleben mit 4,1% vergleichbare Werte, wogegen der Wert für den Standort Bergen 1999 mit 7,6% deutlich höher lag. Diese unterschiedlichen Werte für R^2 lassen vermuten, dass sich auf Chromosom 7AS entweder ein QTL für Blattresistenz befindet, welcher deutliche Wechselwirkungen mit der Umwelt zeigt, oder QTL für Halmlänge oder Ährenschoben lokalisiert sind, welche Einfluss nehmen auf die Befallsausprägung. Der AFLP-Marker E42M52-191, welcher für die anonyme Kopplungsgruppe 1KG kartiert wurde, zeigte hohe signifikante R^2 -Werte von 9,0% für den Standort Grünbach 1999 und von 16,8% für Hadmersleben 1999.

Tabelle 41: Signifikante R^2 -Werte einiger Marker für den prozentualen Blattbefall mit *S. nodorum* der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' in den vier Umwelten Grünbach 1998 und 1999, Hadmersleben 1999 und Bergen 1999

Blattbefall		Grünbach	Grünbach	Hadmersleben	Bergen
Marker	$R^2 \times 100$ Chromosom	1998	1999	1999	1999
γ-Gliadin	1BS	n. s.	n. s.	3,1	10,5
gwm11	1BS	n. s.	n. s.	n. s.	4,9
gwm161	3DS	n. s.	n. s.	3,9	n. s.
gwm2	3DS	n. s.	n. s.	n. s.	4,2
E37M58-208	3DS	n. s.	n. s.	n. s.	5,2
E37M58-369	4BL	5,8	n. s.	n. s.	n. s.
gwm334	6AS	4,3	4,7	2,9	n. s.
gwm193	6BS	7,5	n. s.	n. s.	3,1
Whs116	6D*(B)	n. s.	6,0	3,2	n. s.
gwm130	7AS	n. s.	3,0	4,1	7,6
E42M52-191	1KG	n. s.	9,0	16,8	n. s.

*: Ermittelte Locuszuordnung des Markers mit multiplen Loci

n. s.: nicht signifikant

Die berechneten R^2 -Werte bezüglich des prozentualen Blattbefalls waren bis auf einige Ausnahmen eher klein und reichten von 2,9 bis 16,8%. Mit den SSR-Markern gwm334 und gwm130 gab es zwei Marker für die signifikante Werte in drei Umwelten berechnet werden konnten. Mit jeweils sechs Markern mit signifikanten R^2 -Werten wiesen die Standorte Hadmersleben 1999 und Bergen 1999 die meisten signifikanten Assoziationen auf, wobei sie lediglich für die Marker γ -Gliadin auf Chromosom 1BS und gwm130 auf 7AS Übereinstimmung zeigten. Dagegen konnten alle vier signifikanten Assoziationen für den Standort Grünbach 1999 auch für den Standort Hadmersleben berechnet werden.

3.5.2.1.3 Halmlänge

In Tabelle 42 sind die Marker mit den grössten R^2 -Werten der Regressionsanalyse für das Merkmal Halmlänge an den drei Standorten Grünbach 1998 und 1999 sowie Bergen 1999 angegeben.

Für den Marker gwm274, welcher aufgrund der bisherigen Untersuchungen dem Chromosom 1BL zuzuordnen war, konnten für alle drei Standorte signifikante R^2 -Werte berechnet werden. Mit Werten von 3,0% für Grünbach 1998, 4,8% für Bergen 1999 und 6,8% für Grünbach 1999 fielen diese sehr unterschiedlich aus. Daraus lässt sich vermuten, dass auf Chromosom 1BL eventuell ein kleiner bis mittlerer QTL für Halmlänge lokalisiert ist, welcher stark von Umweltinteraktionen beeinflusst wird. Der auf Chromosom 2DS lokalisierte Marker gwm484 zeigte einen relativ hohen Wert von 7,7% für den Standort Grünbach 1999. Für den Marker gwm645 auf Chromosom 3DL konnten signifikante Werte für alle drei Umwelten berechnet werden, wobei die Werte für Grünbach 1998 und 1999 mit

jeweils 4,4% gleich gross waren und der Wert für Bergen 1999 mit 5,3% etwas darüber lag. Diese drei Werte vergleichbarer Grösse lassen vermuten, dass auf Chromosom 3DL ein kleiner QTL für Halmlänge lokalisiert ist, welcher relativ konsistent über verschiedene Umwelten ist. Für den auf Chromosom 5BS lokalisierten Marker gwm159 konnte ein signifikanter Wert von 4,5% für den Standort Bergen 1999 berechnet werden. Der Marker gwm174 auf Chromosom 5DL zeigte einen signifikanten R^2 -Wert von 5,0% für den Standort Grünbach im Jahr 1998. Der auf Chromosom 7AS lokalisierte Marker gwm130 wies einen signifikanten R^2 -Wert von 3,5% für den Standort Bergen 1999 auf.

Tabelle 42: Signifikante R^2 -Werte einiger Marker für das Merkmal Halmlänge der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' in den drei Umwelten Grünbach 1998, Grünbach 1999 und Bergen 1999

Halmlänge		Grünbach	Grünbach	Bergen
$R^2 \times 100$				
Marker	Chromosom	1998	1999	1999
gwm274	1BL* (7BL)	3,0	6,8	4,8
gwm484	2DS	n. s.	7,7	n. s.
gwm645	3DL	4,4	4,4	5,3
gwm159	5BS	n. s.	n. s.	4,5
gwm174	5DL	5,0	n. s.	n. s.
gwm130	7AS	n. s.	n. s.	3,5

*: Ermittelte Locuszuordnung des Markers mit multiplen Loci
n. s.: nicht signifikant

Insgesamt konnten vergleichsweise wenige R^2 -Werte von bedeutender Grösse für die untersuchten Marker berechnet werden. Dagegen zeigten der Marker gwm274 auf Chromosom 1BL und der Marker gwm645 auf Chromosom 3DL jeweils für alle drei Umwelten signifikante R^2 -Werte, woraus sich vermuten lässt, dass in den entsprechenden Genombereichen kleine bis mittlere QTL für Halmlänge lokalisiert sind.

3.5.2.1.4 Ährenschieben

In Tabelle 43 sind die Marker mit den grössten R^2 -Werten der Regressionsanalyse für das Merkmal Halmlänge an den Standorten Grünbach 1998 und 1999 angegeben.

Der AFLP-Marker E35M54-76, welcher auf Chromosom 3DS kartiert wurde, wies einen signifikanten R^2 -Wert für das Jahr 1999 auf. Für den Marker gwm165 konnte ein signifikanter R^2 -Wert von 3,6% für das Jahr 1998 berechnet werden. Der Marker gwm165, welcher laut Angabe in der Literatur (RÖDER et al. 1998) für die drei homoeologen Loci auf Chromosom 4AS, 4BL und 4DL amplifizieren kann, wurde aufgrund der Assoziation in der Kopplungsanalyse zu der berechneten Kopplungsgruppe 4BL dem Chromosom 4BL zugeordnet. Der ebenfalls auf Chromosom 4BL lokalisierte SSR-Marker gwm149 zeigte einen signifikanten R^2 -Wert für das Jahr 1998 von 3,6%.

Tabelle 43: Signifikante R^2 -Werte einiger Marker für das Merkmal Ährenschieben der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' für Grünbach 1998 und Grünbach 1999

Ährenschieben		Grünbach	Grünbach
Marker	Chromosom	1998	1999
E35M54-76	3DS	n. s.	5,3
gwm165	4BL*(AS/DL)	3,6	n. s.
gwm149	4BL	3,6	n. s.
gwm67	5BL	n. s.	5,2
gwm118	5BL	n. s.	6,3
Whs28	6D*(A/B)	n. s.	4,2

*: Ermittelte Locuszuordnung des Markers mit multiplen Loci
n. s.: nicht signifikant

Für die SSR-Marker gwm67 und gwm118, welche beide auf Chromosom 5BL lokalisiert sind, konnten jeweils für den Standort Grünbach 1999 signifikante R^2 -Werte berechnet werden. Die Werte von 5,2% für den Marker gwm67 und von 6,2% für den Marker gwm118 waren von ähnlicher Grösse. Die beiden Marker zeigten auch signifikante Werte in der Regressionsanalyse für den prozentualen Ährenbefall, wobei der Wert für gwm67 für Grünbach 1998 und für gwm118 für Grünbach 1999 berechnet wurde. Dies lässt eine eventuelle Kopplung von QTL für Ährenresistenz und QTL für Ährenschieben vermuten. Der RFLP-Marker Whs28, welcher auf Chromosom 6D lokalisiert wurde, zeigte einen signifikanten Wert für R^2 mit 4,2% für das Jahr 1999. Alle berechneten R^2 -Werte waren eher klein und reichten von 3,6 bis 5,3%. Dabei konnte für keinen Marker eine signifikante Assoziation mit dem Ährenschieben für beide Jahre berechnet werden.

3.5.2.2 QTL-Analyse

Mit dem Programm PLABQTL wurde anhand der Markerdaten und Feldbonituren von 96 F_3 -Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' eine Abschätzung von möglichen QTL-Positionen durchgeführt. Für die eingesetzten Daten wurde für die Signifikanz eines QTL ein Schwellenwert von $LOD > 3,77$ auf einem Niveau von 0,05 berechnet. Bei einer eventuellen manuellen Auswahl von Kofaktoren wurde der grössere negative Wert des 'Akaike's Information Criterion' (AIC) als Kriterium herangezogen. Mit dem eingesetzten Datensatz konnten keine signifikanten QTL lokalisiert werden, weder für Ähren- oder Blattresistenz noch für Halmlänge oder den Zeitpunkt des Ährenschiebens. Die Hauptursache dafür ist in dem Generationstyp der Kreuzungsnachkommenschaft zu sehen, da es sich bei der untersuchten Nachkommenschaft um F_3 -Familien handelt, welche sich genetisch wie eine F_2 -Nachkommenschaft verhält. Somit ist bei der vorliegenden Nachkommenschaft mit einem Heterozygotiegrad von ca. 50% zu rechnen, womit sich ein Informationsverlust bei kodominanten Markern in gleicher Höhe und bei dominanten Markern von theoretisch 75% verbindet. Weitere Ursachen sind die geringe Genomabdeckung sowie die vergleichsweise kleine Anzahl an untersuchten F_3 -Familien.

3.5.2.2.1 Detektion von QTL für Blattresistenz

Um die Effektivität der QTL-Detektion zu steigern, wurden mit einigen ausgewählten SSR-Markern zusätzliche F₃-Familien analysiert. Ausgewählt wurden SSR-Marker, welche zum einen eine direkte Kopplung aufwiesen und zum anderen in der Regressionsanalyse eine signifikante Assoziation zum prozentualen Blattbefall zeigten. Es wurden die SSR-Marker γ -Gliadin und gwm11 von Chromosom 1BS, gwm161 und gwm2 von Chromosom 3DS sowie gwm193 und gwm219 von Chromosom 6B über weitere 42 F₃-Familien analysiert, womit für diese drei SSR-Markerpaare Daten von insgesamt 138 F₃-Familien der Kreuzung 'Apollo' \times 'G18/90' für eine QTL-Analyse eingesetzt werden konnten. Für die eingesetzten Daten wurde für die Signifikanz eines QTL ein Schwellenwert von LOD > 2,22 auf einem Niveau von 0,05 berechnet. Die Ergebnisse der QTL-Analyse für die einzelnen Standorte sind in Tabelle 44 dargestellt.

Es konnten zwei QTL für Blattresistenz lokalisiert werden, welche anhand der Boniturdaten der Standorte Grünbach 1999 und Bergen 1999 berechnet wurden. Für den Standort Grünbach 1999 wurde ein QTL zwischen den Markern gwm161 und gwm2 auf Chromosom 3DS lokalisiert, welcher einen Anteil an der phänotypischen Varianz von 8,8% und einen additiven Effekt von 3,7% aufwies. Der zweite QTL für Blattresistenz konnte zwischen den Markern γ -Gliadin und gwm11 auf Chromosom 1BS lokalisiert werden, welcher 10,6% der phänotypischen Varianz erklärte und einen additiven Effekt von 6,3% zeigte. Die Allele für einen geringeren Blattbefall der beiden lokalisierten QTL stammten jeweils vom weniger anfälligen Elter 'G18/90'. Für die Standorte Grünbach 1998 und Hadmersleben 1999 bzw. für den Chromosomenabschnitt von 6B konnten keine signifikanten QTL berechnet werden.

Tabelle 44: Lokalisierte QTL für Blattresistenz gegen *S. nodorum* der Kreuzung 'Apollo' \times 'G18/90' für die Standorte Grünbach 1999 und Bergen 1999

Blattresistenz (CIM)			Grünbach 1999			Bergen 1999		
Chr.	Flankierende Markerloci	Intervall [cM]	LOD	R ² [%]	Additiver Effekt	LOD	R ² [%]	Additiver Effekt
1BS	γ -Gliadin – gwm11	37	--	--	--	3,21	10,6	6,3 [G]
3DS	gwm161 – gwm2	32	2,37	8,8	3,7 [G]	--	--	--
6B	gwm193 – gwm219	41	--	--	--	--	--	--

[G] Allel für geringeren Blattbefall vom Elter 'G18/90'

Die QTL-Analyse wurde in gleicher Weise anhand des Mittelwertes der Boniturdaten über die Standorte Grünbach 1999, Hadmersleben 1999 und Bergen 1999 durchgeführt. Da die ausgewählten Marker in der Regressionsanalyse hauptsächlich für die oben genannten Standorte signifikante Assoziationen zeigten wurden, die Daten für den Standort Grünbach 1998 nicht miteinbezogen. Die Ergebnisse der QTL-Analyse sind in Tabelle 45 angegeben. Es konnten zwei QTL gefunden werden, wovon der eine auf Chromosom 1BS und der zweite auf Chromosom 3DS lokalisiert wurde. Der QTL auf Chromosom 1BS erklärte einen Anteil an

phänotypischer Varianz von 8,7% und wies einen additiven Effekt von 4,5% auf. Für den QTL auf Chromosom 3DS betrug der Anteil der erklärbaren phänotypischen Varianz 9,0% und der additive Effekt 3,5%. Die Allele für einen geringeren Blattbefall für beide QTL kamen vom weniger anfälligen Elter 'G18/90'. Für Chromosom 6B konnte wie schon bei der QTL-Analyse der einzelnen Standorte kein signifikanter QTL lokalisiert werden. Die QTL-Analyse anhand des Mittelwertes der Boniturwerte über die drei Standorte Grünbach 1999, Hadmersleben 1999 und Bergen 1999 bestätigt die lokalisierten QTL auf Chromosom 1BS und 3DS der Analyse der einzelnen Standorte.

Tabelle 45: Lokalisierte QTL für Blattresistenz gegen *S. nodorum* der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' mit den gemittelten Boniturdaten über die Standorte Grünbach 1999, Hadmersleben 1999 und Bergen 1999

Blattresistenz (CIM)			Grünbach/ Hadmersleben/ Bergen 1999		
Chr.	Flankierende Markerloci	Intervall [cM]	LOD	R ² [%]	Additiver Effekt
1BS	γ-Gliadin – gwm11	37	2,62	8,7	4,5 [G]
3DS	gwm161 – gwm2	32	2,43	9,0	3,5 [G]
6B	gwm193 – gwm219	41	--	--	--

[G] Allel für geringeren Blattbefall vom Elter 'G18/90'

In Abbildung 17 sind die LOD-Plotkurven der QTL-Intervallkartierung (CIM) für Blattresistenz der Chromosomen 1BS und 3DS graphisch dargestellt. Die Kurven geben die Intervallkartierung für die einzelnen Standorte als auch für die Berechnung anhand des Mittelwertes wieder, wobei die Gipfel der Kurven die wahrscheinlichste Position eines QTLs beschreiben.

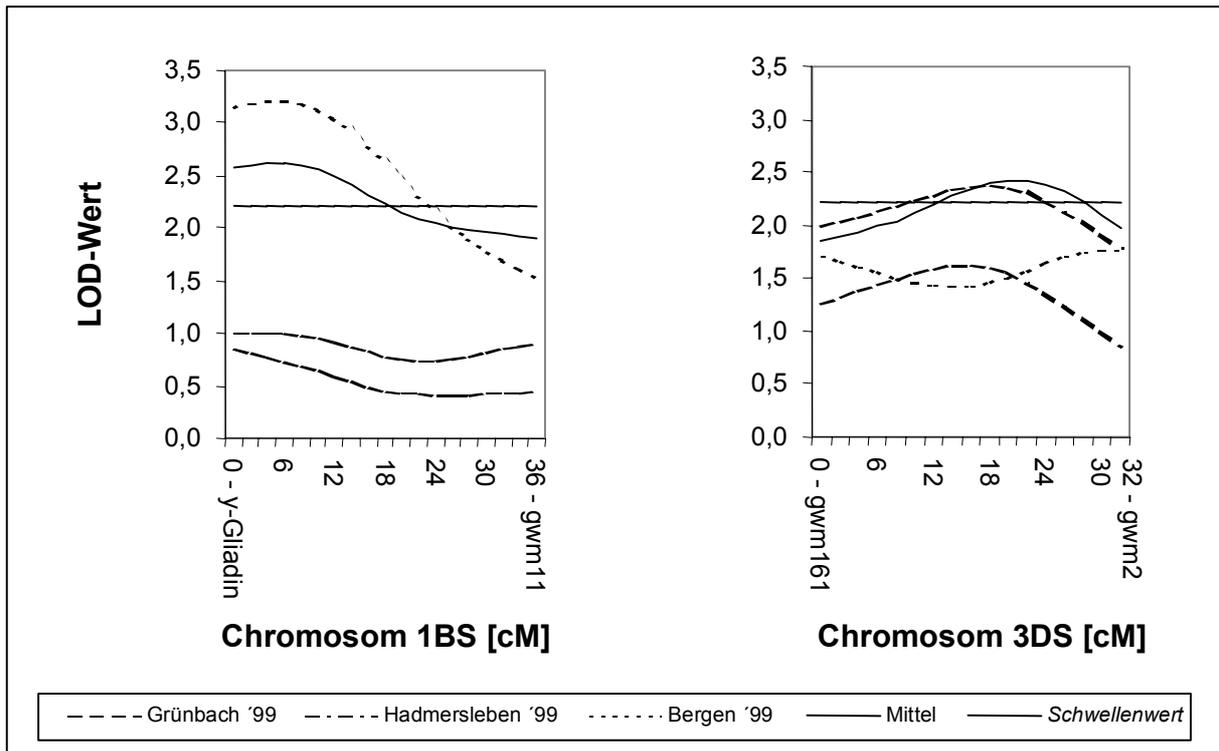


Abbildung 17: LOD-Plotkurven der CIM-Analyse der QTL für Blattresistenz gegen *S. nodorum* auf Chromosom 1BS und 3DS an 138 F₃-Familien der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' für die Standorte Grünbach 1999, Hadmersleben 1999 und Bergen 1999 sowie deren Mittel

4 DISKUSSION

4.1 Kreuzungseltern

Die Wahl der Kreuzungseltern ist abhängig vom jeweiligen Züchtungs- bzw. Forschungsziel und bestimmt zu einem grossen Teil den Rahmen der Möglichkeiten, diese Ziele zu erreichen. Für einen Züchter ist es generell wichtig, eine grosse Variation in der Kreuzungsnachkommenschaft zu erzeugen, um damit eine möglichst hohe Wahrscheinlichkeit für die Selektion neuer Genotypen mit besseren Merkmalsausprägungen oder neuen Merkmalskombinationen zu erhalten. Für eine QTL-Analyse ist ebenfalls eine grosse Variation, d. h. eine grosse Spannweite der zu untersuchenden Merkmalsausprägung, verbunden mit einer Normalverteilung der Häufigkeiten verschiedener Merkmalsklassen, von entscheidender Bedeutung. Je grösser die Spannweite der Merkmalsausprägung ist, desto eher lassen sich Merkmalsklassen einteilen sowie Assoziationen von Markern zu diesen Klassen berechnen. Darüberhinaus ist für eine QTL-Analyse mit molekularen Markern ein hoher Grad an Polymorphie zwischen den Elternlinien von Bedeutung, um möglichst viele Marker zu finden und einen grossen Bereich des Genoms abzudecken.

Die Elternlinien 'Piko' und 'Euris' der untersuchten Kreuzung 'Piko' × 'Euris' unterscheiden sich nach der Beurteilung der Bundessortenliste bezüglich ihrer Anfälligkeit für Spelzenbräune (*Septoria nodorum*) vergleichsweise wenig. Die Weizensorte 'Piko' ist mit der Note drei eingestuft, womit 'Piko' zu den gering anfälligen Sorten gehört. Die Sorte 'Euris' war bis 1997 zugelassen und wurde mit der Note fünf als mittel anfällig eingestuft. Bei einem Notenunterschied der Elternlinien von zwei hinsichtlich ihrer Anfälligkeit für *S. nodorum* würde man erwarten, dass die Variation in der Nachkommenschaft eher gering ist. In den beiden Versuchsjahren 1998 und 1999 in Freising-Pettenbrunn zeigte die Elternlinie 'Piko' eine um ca. 15% geringere Anfälligkeit an der Ähre und eine um ca. 20% geringere Anfälligkeit an den Blättern im Vergleich zum Elter 'Euris'. Die Befallsspannweiten in der Nachkommenschaft waren mit jeweils über 50% bei der Ähre und bei den Blättern relativ gross. Für die Halmlänge, bei der der Unterschied der Elternlinien im Mittel der beiden Jahre drei Zentimeter betrug, fiel die Spannweite mit ca. 45 cm in beiden Jahren ebenfalls relativ gross aus. Die Differenz der Elternlinien hinsichtlich des Zeitpunktes des Ährenschiebens war mit zwei Tagen im Mittel über beide Jahre eher gering, dagegen war die Spannweite bei der Nachkommenschaft mit sechs Tagen im Jahr 1998 und mit zehn Tagen im Jahr 1999 recht gross. Der relativ deutliche Unterschied zwischen den Spannweiten der beiden Jahre lässt einen grossen Einfluss von Umweltinteraktionen auf das Ährenschieben erkennen.

Die Elternlinie 'Piko' war in beiden Jahren der Elter mit der kleineren Halmlänge und dem früheren Ährenschieben bei gleichzeitiger geringerer Anfälligkeit für *S. nodorum* im Vergleich zum Elter 'Euris'. Dies ist bemerkenswert, da meistens ein Zusammenhang von grösseren Halmlängen und späterer Pflanzenentwicklung mit geringerer Anfälligkeit für *S. nodorum* beschrieben ist (EYAL 1981, KING et al. 1983). Daraus lässt sich für den Elter 'Piko' ableiten, dass die Ausprägung der Resistenz weniger durch die Halmlänge und den Zeitpunkt des Ährenschiebens bedingt ist, sondern von „echter Natur“ sein sollte, zumal der Einfluss der morphologischen Merkmale auf die Ausprägung der Resistenz, aufgrund der künstlichen Infektion von oben auf die Pflanzen, sehr vermindert war. Die Sorte 'Piko', welche generell als wenig anfällig eingestuft ist, dürfte ihre Resistenz gegen *S. nodorum* von der Sorte 'Maris Huntsman', 'Kraka' oder der Zuchtlinie CWW 3319/3 erhalten haben, die neben der Sorte 'Frühgold' als Elternlinien im Zuchtstammbaum von 'Piko' (Abbildung 18) vorkommen. Die Sorte 'Maris Huntsman' wurde in mehreren Veröffentlichungen (MIELKE 1980, JEGER et al. 1983, WENDLAND und HOFFMANN 1988) als mittel bis wenig anfällig beschrieben. WENDLAND 1988 führte eine Quantifizierung der Resistenz gegen *S. nodorum* von 40

Winterweizensorten anhand der postinfektionellen Ethylenbildung durch, wobei die Sorte 'Kraka' als wenig anfällig eingestuft wurde. Die Sorte 'Frühgold' wurde von MIELKE (1980) in vierjährigen Feldversuchen nach künstlicher Infektion und von WENDLAND und HOFFMANN (1988) als sehr anfällig beurteilt, sodass die Sorte 'Frühgold' nicht als Resistenzdonor in Frage kommt. Über die Resistenz der Zuchtlinie konnten keine Aussagen gefunden werden.

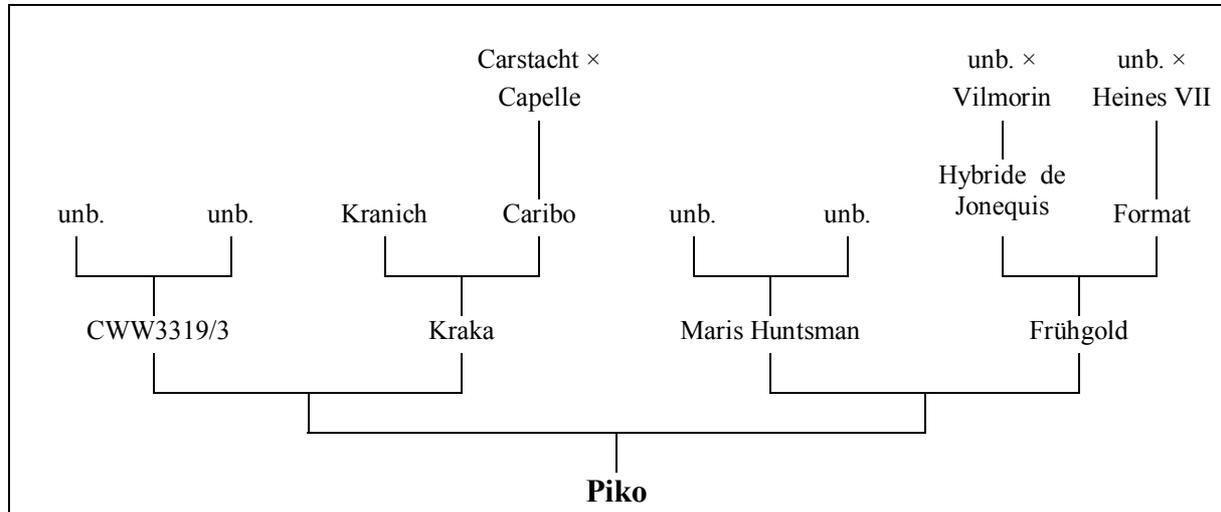


Abbildung 18: Zuchtstammbaum der Winterweizensorte 'Piko'

Im Stammbaum der Sorte 'Euris' (Abbildung 19) ist ebenfalls die schon oben erwähnte wenig bis mittel anfällige Sorte 'Maris Huntman' enthalten, als auch die ebenfalls als wenig anfällig beschriebenen Sorten 'Benno' und 'Jubilar' sowie die mittel bis stark anfällige Sorte 'Jubilar' (MIELKE 1980, WENDLAND und HOFFMANN 1988). Dies erklärt die mittlere Anfälligkeit der Sorte 'Euris' und lässt erwarten, dass auch von 'Euris' Resistenz-QTL in der Nachkommenschaft der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' zu lokalisieren sind. In der bei SCHLEGEL et al. (1994) beschriebenen Liste von Weizenlinien mit einer Roggentranslokation 1BL/1RS ist die Weizensorte 'Knirps' aufgeführt, womit, bei einer erfolgten Vererbung der 1BL/1RS Translokation, eine Resistenz auf den Chromosomenarm 1RS vom Roggen zurückgeführt werden könnte.

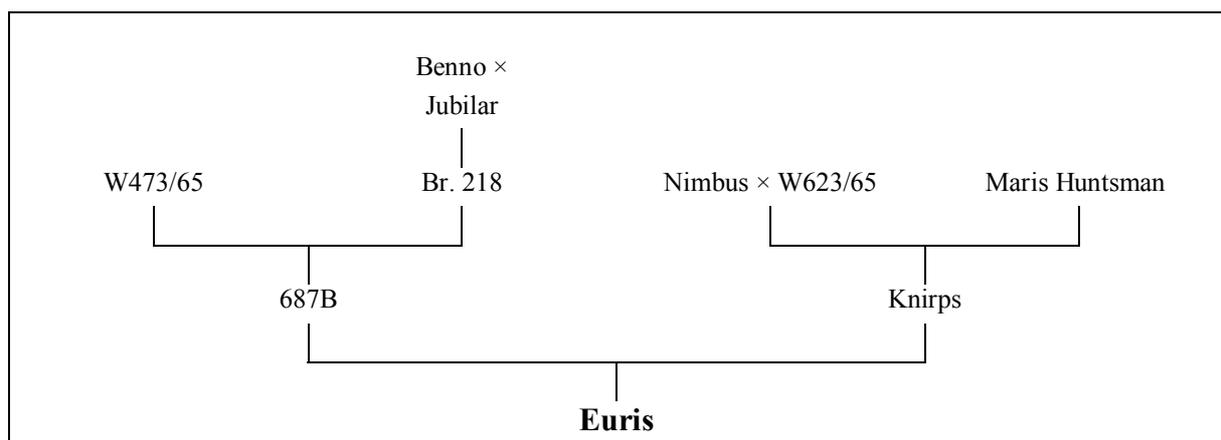


Abbildung 19: Zuchtstammbaum der Winterweizensorte 'Euris'

Bei 'Apollo' und 'G18/90', den Elternlinien der zweiten untersuchten Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90', handelt es sich bezüglich 'Apollo' um eine Winterweizensorte, die bis 1999 in der Bundessortenliste zugelassen war und mit der Note fünf als mittel anfällig für Spelzenbräune (*S. nodorum*) eingestuft wurde. Der Elter 'G18/90' ist eine auf Resistenz gegen *S. nodorum* gezüchtete Weizenlinie des INSTITUTS FÜR RESISTENZGENETIK in Grünbach, welche eine sehr geringe Anfälligkeit für *S. nodorum* aufweist.

'Zenith' als anfällig und die Sorte 'Arina' als wenig anfällig für die Ähre und mittel anfällig für die Blätter eingestuft. Zu einer möglichen Übertragung von Resistenz könnte es auch durch den eingekreuzte Roggen gekommen sein, welches in der Züchtung von Weizen-Roggen-Hybriden, sogenannte Triticale, ein wesentliches Ziel ist.

Bezüglich des Merkmales der Halmlänge und des Zeitpunktes des Ährenschiebens verhielten sich die Elternlinien 'Apollo' und 'G18/90' in den beiden Anbaujahren 1998 und 1999 in Grünbach unständig. Der Unterschied in der Halmlänge betrug 1998 6,5 cm und lag 1999 bei 16,0 cm. Für das Ährenschieben ergab sich 1998 eine Differenz von neun Tagen, wohingegen sie 1999 bei nur einem Tag lag. Überraschend dabei ist, dass beim Elter 'Apollo' die Halmlänge 1999 um 7,0 cm kleiner war als 1998, dafür aber das Ährenschieben drei Tage früher lag. Genau entgegengesetzt verhielt sich der Elter 'G18/90', welcher im Jahr 1999 2,5 cm länger war als 1998, dafür aber im Ährenschieben fünf Tage später lag. Dies ist insofern überraschend, als dass normalerweise ein früheres Ährenschieben eine grössere Halmlänge zur Folge hat. Für die Nachkommenschaft der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' trat dieses entgegengesetzte Entwicklungsphänomen in schwächerer Form ebenfalls auf. Das Mittel der Halmlänge lag 1998 5,0 cm über dem von 1999, wohingegen das Mittel des Ährenschiebens 1998 4,3 Tage später lag. Die Spannweiten für das Merkmal Halmlänge waren mit 39 cm im Jahr 1998 und 37 cm im Jahr 1999 relativ gross. Beim Ährenschieben waren die Spannweiten mit sechs Tagen für 1998 und neun Tagen für 1999 eher klein. Ebenfalls wie bei der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' ist bei der Nachkommenschaft der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' ein deutlicher Unterschied zwischen den Spannweiten für das Ährenschieben beider Jahre festzustellen und lässt starke Umweltinteraktionen für dieses Merkmal auch in dieser Kreuzungspopulation vermuten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Elternlinien beider Kreuzungen relativ gut geeignet sind, um in den entsprechenden Kreuzungsnachkommenschaften Loci für eine quantitative Resistenz gegen *Septoria nodorum* zu analysieren. Darüber hinaus ist es gerade eine Besonderheit von quantitativen Merkmalen, dass erst die spezielle neue Kombination von QTL zu deutlichen Veränderungen bzw. Verbesserungen in der Merkmalsausprägung führt und neu entstandene Genotypen einer Kreuzung eine deutlich stärkere Merkmalsausprägung als die der Elternlinien zeigen. WICKI et al. (1999a) fanden in den meisten Nachkommenschaften von 16 Kreuzungen zwischen acht Elternlinien, welche ganz unterschiedlich in ihrer Anfälligkeit für *S. nodorum* waren, Nachkommen, die weniger anfällig waren als der bessere Elter. Auch in der Nachkommenschaft der Kreuzung zweier anfälliger Elternlinien konnten Pflanzen mit geringer Anfälligkeit selektiert werden. Ebenfalls aus einer Kreuzung zweier moderat anfälliger Weizensorten stammte die Sorte 'Sumai 3', welche eine hohe quantitative Resistenz gegen Fusarium-Taubährigkeit besitzt und seither in vielen Züchtungsprojekten zur Fusarium-Resistenz eingesetzt worden ist (BAI und SHANER 1994).

4.2 Merkmalsausprägung in der Nachkommenschaft

Die Nachkommenschaft der Kreuzung 'Piko' \times 'Euris' bestand aus 190 rekombinanter Inzuchtlinien (RIL) der F₄-Generation, womit ein Anteil von theoretisch 12,5% heterozygoter Pflanzen zu rechnen war. Die Häufigkeitsverteilungen des prozentualen Ähren- und Blattbefalls zeigten eine für quantitative Merkmale typische Normalverteilung in den beiden Versuchsjahren 1998 und 1999. Dabei lag in den meisten Fällen das Mittel der Nachkommenschaft niedriger als das Mittel der Elternlinien und relativ nahe am Mittel des weniger anfälligen Elters 'Piko'. Sowohl für den Ähren- als auch für den Blattbefall konnte eine Transgression in beide Richtungen in beiden Jahre festgestellt werden. Die Nachkommenschaft der Kreuzung 'Apollo' \times 'G18/90' bestand aus 200 F₃-Familien, welche genetisch einer F₂-Generation entsprachen, womit ein Anteil von theoretisch 50% heterozygoter Pflanzen zu rechnen war.

Die Häufigkeitsverteilungen des prozentualen Ähren- und Blattbefalls zeigten ebenfalls eine für quantitative Merkmale typische Normalverteilung in beiden Jahren 1998 und 1999 in Grünbach sowie 1999 in Hadmersleben und Bergen. Für den Standort Grünbach konnte auch eine Transgression in beide Richtungen beobachtet werden. Das Phänomen der Transgression, d. h. dass einzelne Nachkommen in der Ausprägung eines Merkmals die Elternlinien übertreffen, wird oft beobachtet. WICKI et al. (1999a) konnten in den meisten Nachkommenschaften von 16 Kreuzungen zwischen acht Elternlinien, welche in ihrer Anfälligkeit für *S. nodorum* ganz unterschiedlich waren, Nachkommen mit geringerer Anfälligkeit als die des besseren Elters selektieren. Als mögliche Ursachen für eine Transgression werden additive Effekte oder Epistasie diskutiert oder die Kombination von Allelen mit entgegengesetzten Effekten bei den Elternlinien (LYNCH und WALSH 1998).

4.3 Korrelationen zwischen Merkmalen

Zwischen dem prozentualen Ährenbefall und dem prozentualen Blattbefall waren die Korrelationen in der Kreuzungsnachkommenschaft 'Piko' \times 'Euris' sehr schwach. Für die F₃-Familien der Kreuzung 'Apollo' \times 'G18/90' lagen die Korrelation zwischen Ähren- und Blattbefall für die Standorte Grünbach 1998, Hadmersleben und Bergen im mittleren Bereich. Für Grünbach 1999 war die Korrelation sehr schwach, welches wahrscheinlich auf die sehr schlechte Ähreninfektion zurückzuführen ist. Schwache Korrelationen zwischen dem Ähren- und dem Blattbefall wurden häufiger beobachtet und als ein möglicher Hinweis auf separate genetische Resistenzkomplexe für die Ähre und die Blätter angesehen (ROSIELLE und BROWN 1980, FRIED und MEISTER 1987, BOSTWICK et al. 1993, WICKI et al. 1999a).

Für die Kreuzungsnachkommenschaft 'Piko' \times 'Euris' ergaben sich schwach bis mittlere negative Korrelationen zwischen Ährenbefall und Halmlänge. Für die Nachkommenschaft der Kreuzung 'Apollo' \times 'G18/90' konnten mittlere negative Korrelationen zwischen dem Ährenbefall und der Halmlänge für beide Jahre in Grünbach berechnet werden, hingegen eine schwach negative Korrelation am Standort Bergen. Diese schwach bis mittleren negativen Korrelationen zwischen dem Ährenbefall und der Halmlänge bei beiden Kreuzungen, trotz künstlicher Infektion von oben auf die Pflanzen, lassen vermuten, dass entweder verschiedene QTL für beide Merkmale eng gekoppelt vorliegen oder Pleiotropie eines QTL die Ursache für die Korrelation sein könnte. Als weitere Ursache wäre auch eine unterschiedliche Ausbildung eines Mikroklimas für die einzelnen Parzellen aufgrund der unterschiedlichen Halmlänge denkbar, welche bei kleineren Halmlängen aufgrund der Bodennähe eine höhere Feuchtigkeit aufweisen und damit das Pilzwachstum begünstigen würden. Ebenfalls Korrelationen zwischen erhöhter Resistenz gegen *S. nodorum* und grösseren Halmlängen fanden BRÖNNIMANN (1973), SCOTT et al. (1982) und WICKI et al. (1999a) in ihren Arbeiten.

Die Korrelation zwischen dem Ährenbefall und dem Zeitpunkt des Ährenschiebens war für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' 1998 schwach positiv und 1999 schwach negativ. Für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' konnte für 1998 ebenfalls eine schwach positive und für 1999 keine Korrelationen berechnet werden. Diese Ergebnisse lassen darauf schliessen, dass für diese beiden Kreuzungen der Zeitpunkt des Ährenschiebens keinen besonderen Einfluss auf die Befallsausprägung auf den Ähren hat. Korrelationen zwischen dem prozentualen Blattbefall und der Halmlänge konnten für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' keine berechnet werden und für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' nur für Grünbach 1998 eine schwach negative Korrelation und für Grünbach 1999 und Bergen 1999 ebenfalls keine. Dies zeigt, dass bezüglich der Ausprägung des Blattbefalls der Einfluss der Halmlänge durch die künstliche Infektion aufgehoben wurde bzw. dass keine Kopplung von QTL beider Merkmale oder Pleiotropie zu erwarten ist. Zwischen dem prozentualen Blattbefall und dem Zeitpunkt des Ährenschiebens konnten für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' in beiden Jahren schwache negative Korrelationen bestimmt werden, während sich für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' für das Jahr 1998 keine und für das Jahr 1999 ebenfalls eine schwach negative Korrelation berechnen liess. Dies deutet tendenziell an, dass Weizenpflanzen mit späterer Entwicklung weniger anfällig für *S. nodorum* auf den Blättern sind. Die Hauptursache dafür ist wahrscheinlich in der besseren allgemeinen Fitness zum Infektionszeitpunkt zu sehen, da die Pflanzen noch nicht so lange dem Einfluss von verschiedenen Umweltstressfaktoren, wie Regen, Wind und Sonnenstrahlung, ausgesetzt waren. Da sich *S. nodorum* meist erst nach Lyse der Cutikula auf der Blattoberfläche in die Blätter eindringt (ZINKERNAGEL et al. 1988), ist die Widerstandsfähigkeit der Cutikula gegen Umwelteinflüsse von grosser Bedeutung für eine passive Resistenz gegen *S. nodorum*. Korrelationen zwischen späterem Entwicklungszeitpunkt und erhöhter Resistenz gegen *S. nodorum* fanden auch SCOTT et al. (1982) und WICKI et al. (1999a).

4.4 Korrelationen zwischen Umwelten

Die Korrelationen zwischen den Anbaujahren der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' waren für den Ährenbefall mit 0,39 eher schwach und für den Blattbefall mit 0,65 relativ hoch sowie für die Halmlänge mit 0,82 und dem Ährenschieben mit 0,79 sehr hoch. Für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' reichten die Korrelationen zwischen den vier Umwelten Grünbach 1998 und 1999 sowie Hadmersleben 1999 und Bergen 1999 bezüglich des Ährenbefalls von 0,39 bis 0,47 und waren damit ebenfalls eher schwach. Die Korrelationen für den Blattbefall reichten von 0,26 bis 0,54 und lagen im Durchschnitt mehr im mittleren Bereich. Die Korrelationen zwischen den drei Umwelten Grünbach 1998 und 1999 sowie Bergen 1999 betreffend der Halmlänge waren mit 0,68 im Mittel relativ hoch. Für das Ährenschieben lag die Korrelation zwischen den beiden Jahren in Grünbach mit 0,45 im mittleren Bereich. Die eher schwachen Korrelationen zwischen den Umwelten für den Ährenbefall lassen starke Genotyp-Umwelt-Interaktionen vermuten, wobei allerdings die Anzahl der Umwelten zu klein war, um signifikante Wechselwirkungen zu bestätigen. Die Hauptursache liegt wahrscheinlich mehr bei der Befallsbonitierung, welche bei einem zweckmässigen Zeitaufwand schwierig ist und grosse Ungenauigkeiten bedingt. Der Befall der Blätter ist besser zu bonitieren, was sich in den deutlich höheren Korrelationen zwischen den Anbaujahren eines Standortes zeigt.

Für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' gab es auch schwache Korrelationen zwischen einigen Umwelten für den Blattbefall, was wieder auf Genotyp-Umwelt-Interaktionen hindeutet. Unterstützt wird dies durch die Ergebnisse der QTL-Analyse, da die lokalisierten QTL immer nur für einige Umwelten detektiert werden konnten. Das QTL selten für alle untersuchten Umwelten detektiert wurden, wird in den meisten Arbeiten über QTL-Analysen berichtet (BACKES et al. 1995, KELLER et al. 1999a, 1999b, MESSMER et al. 2000, HERZ 2000).

Die Korrelationen zwischen den Umwelten für die Halmlänge und den Zeitpunkt des Ährenschiebens waren für beide Kreuzungen relativ hoch, was auf geringe Umweltwechselwirkungen hindeutet und zusätzlich durch eine vergleichsweise genaue Bonitierung bedingt ist.

4.5 Genetische Kartierung von Genorten für eine Resistenz gegen Blatt- und Spelzenbräune (*Septoria nodorum*)

4.5.1 Kartierungsspopulationen

Die Nachkommenschaft der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' bestand aus 190 rekombinanten Inzuchtlinien der F₄-Generation. Somit war mit einem Anteil an heterozygoten Linien von theoretisch 12,5% zu rechnen. Im Gegensatz dazu handelte es sich bei der Nachkommenschaft der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' um 200 sogenannte F₃-Familien, welche genetisch als eine F₂-Generation zu betrachten sind. Daraus leitet sich ein theoretisch zu erwartender Anteil an heterozygoten Familien von 50% ab. Bei dem Einsatz von dominanten Markern, wie den meisten RFLPs oder dominant ausgewerteten AFLPs, ergibt sich für heterozygote Pflanzen ein gewisser Informationsverlust bzw. -fehler, da heterozygote Pflanzen nicht als solche erkannt werden. Dieser Informationsverlust erschwert die Berechnung von Kopplungen und Kopplungsabständen der verwendeten Marker bei der Erstellung der genetischen Kopplungskarte als auch bei der Detektion und Kartierung von QTL. Die Grösse der Nachkommenschaften mit 190 bzw. 200 Individuen kann als gut geeignet für eine Genomkartierung und QTL-Analyse angesehen werden, da für die Analyse von quantitativen Merkmalen grosse Nachkommenschaften notwendig sind (KICHERER et al. 2000). Grössere Populationen für eine Kartierung verwendeten KELLER et al. (1999) und SOURDILLE et al. (2000), welche über 2000 Individuen umfassten. Dagegen setzten BAI et al. (1999), WALDRON et al. (1999) und TOOJINDA et al. (2000) kleinere Nachkommenschaften für eine Kartierung ein. Die für eine Kartierung eingesetzte Kreuzungsnachkommenschaft ist im wesentlichen von der Genomgrösse der untersuchten Pflanze bzw. Organismus, dem Generationstyp und der Vererbung des untersuchten Merkmales abhängig (BEAVIS 1998). EDWARDS et al. (1992) stellten bei einem Vergleich von einer Population mit 187 F₂-Pflanzen zu einer Population mit 1776 F₂-Pflanzen nur geringe Unterschiede in der QTL-Lokalisierung fest. Eine mit Markern gesättigte Kopplungskarte wurde von den Autoren höher bewertet als eine grosse Anzahl von Individuen in der Kartierungspopulation. Auf der anderen Seite berechnete VAN OOIJEN (1992) für die Detektion von QTL, welche eine Varianz von mehr als 5% erklären können, eine Mindestgrösse der Nachkommenschaft von 200 Individuen.

Letztendlich stellt die untersuchte Populationsgrösse auch einen Kompromiss zwischen dem theoretischen Optimum und dem wirtschaftlich und technisch Durchführbaren dar. Dies gilt in gleicher Weise für die Anzahl an Umwelten, in welchen die Kreuzungsnachkommenschaft angebaut wird. Hier wären insbesondere für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' mehr Umwelten wünschenswert gewesen. EDWARDS et al. (1992) zeigten dagegen, dass Haupt-QTL eines quantitativen Merkmales auch in nur einer Umwelt detektiert werden können. TANKSLEY (1993) ist ebenfalls der Meinung, dass Haupt- oder Major-QTL in jeder Umwelt zu finden sein müssten. Dafür wird man selten alle beteiligten QTL einer untersuchten quantitativen Eigenschaft in einer Studie erfassen können.

4.5.2 Markersysteme und Kopplungskarten

Im Rahmen dieser Arbeit wurden für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' RFLP- und SSR-Marker sowie für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' RFLP-, SSR- und AFLP-Marker eingesetzt. Bei beiden Kreuzungen lag der mit RFLP-Markern nachgewiesene

Polymorphiegrad mit 7% bzw. 10% sehr niedrig. Von ähnlichen Ergebnissen berichten die Arbeiten von CADALEN et al. (1997) MESSMER et al. (1998). Die Hauptgründe für dieses geringe Vorkommen von RFLPs sind in dem hohen Anteil repetitiver DNA im Weizengenom sowie in dem vergleichsweise jungen Evolutionsstand des hexaploiden Weizens zu sehen. Die Ergebnisse lassen auch eine relativ nahe Verwandtschaft der Elternlinien vermuten, welches der Vergleich der Zuchtstammbäume unterstützt, woraus ersichtlich wird, dass die meisten Züchtungsvorfahren der eingesetzten Elternlinien aus dem mitteleuropäischen Raum (Frankreich, England und Deutschland) stammen (Abb.18 bis Abb.21).

Aufgrund dieses geringen Anteils an nachweisbaren Polymorphismen durch RFLPs wurde der Schwerpunkt der Untersuchung auf die Analyse von SSRs gelegt, womit mehr Polymorphismen detektiert werden können und zudem durch die Chromosomenspezifität ein höherer Informationsgehalt gegeben ist (PLASCHKE et al. 1995, RÖDER et al. 1995, MA et al. 1996). Der Anteil an nachgewiesenen Polymorphismen mittels SSR-Markern entsprach einem Polymorphiegrad von 44,6% für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' und von 49,2% für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'. Diese Ergebnisse liegen höher als diejenigen von RÖDER et al. (1995) mit 22% und von MA et al. (1996) mit 36% SSR-Markern, die einen Polymorphismus detektierten. Der Vergleich ist allerdings nur tendentiell möglich, da in den genannten Arbeiten eine grössere Zahl an Markern eingesetzt wurde. Bedingt durch die zeitliche Begrenzung konnten AFLP-Marker nur für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' untersucht werden. Bei 36 getesteten Primerkombinationen konnten im Durchschnitt fünf Polymorphismen detektiert werden. Die Angabe eines nachgewiesenen Polymorphiegrades ist schwierig, da dies stark abhängig ist von der Auswertung der Bandenmuster und zudem die Anzahl an amplifizierten Fragmenten pro Primerkombination stark variiert. Bei den untersuchten Primerkombinationen reichte der entsprechende nachgewiesene Polymorphiegrad von null bis 7,1% an Fragmenten, die einen Polymorphismus nachwies, bezogen auf die Gesamtzahl an auswertbaren Fragmenten pro Primerkombination. Dieses Ergebnis bestätigt die hohe Anzahl an generierten Fragmenten zur Detektion von Polymorphismen mittels AFLP in anderen Arbeiten und damit AFLP-Marker als sehr effektive Methode zur Generierung von genetischen Markern für die Erstellung von Kopplungskarten (VAN ECK et al. 1995, QI et al. 1998). AFLPs wurden von SCHWARZ et al. (1999a) zur hochauflösenden Kartierung des *Mla*-Locus bei Gerste eingesetzt sowie von HERZ (2000) zur Kartierung von quantitativen Merkmalen, wie Brauqualität und Krankheiten, ebenfalls bei Gerste.

Für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' konnten 16 SSR-Loci in sechs Kopplungsgruppen zusammengefasst werden, welche den Chromosomenabschnitten 1BS, 2DL, 5B, 5BL, 7A und 7B zugeordnet werden konnten. Die Gesamtgrösse der sechs Kopplungsgruppen umfasste 249 cM mit einem durchschnittlichen Markerabstand von 15,6 cM. Für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' konnten von insgesamt 176 informativen Markerloci 96 in 19 Kopplungsgruppen eingeteilt werden. 15 Kopplungsgruppen konnten den spezifischen Chromosomenabschnitten von 1BS, 1BL(7BL), 1DS, 2BS, 2BL, 2DL, 3AS, 3BS, 3D, 4BL, 5AS, 6B, 6D, 7A und 7BS zugeordnet werden. Die Gesamtgrösse aller Kopplungsgruppen umfasste 1200 cM bei einem durchschnittlichen Markerabstand von 18 cM. Damit deckten beide Kopplungskarten einen nur kleinen Teil des Weizengenoms ab. Nach MCGUIRE und QUALSET (1997), die durch Verbindung von verschiedenen Kopplungskarten eine erweiterte Kopplungskarte des Weizengenoms erstellt haben, umfasst die durchschnittliche Chromosomengrösse 150 bis 200 cM, woraus eine Gesamtgenomgrösse von 3200 bis 4200 cM resultiert. Die durchschnittliche Markerdichte der Kopplungskarten ist ausreichend, um QTL zu detektieren. Nach VAN OOIJEN (1992) ist eine Markerdichte von durchschnittlich 20 cM bei genügend grossen Nachkommenschaften ausreichend, um QTL detektieren zu können, welche mehr als 5% der phänotypischen Varianz erklären.

Bei der Betrachtung der Verteilung der kartierten Marker der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' über die drei Weizengenome A, B und D, ist zu bemerken, dass mit ca. 61% deutlich mehr Marker für das Genom B kartiert wurden als für das Genom A mit ca. 14,8% und das Genom D mit 24,6%. Ein vergleichbares Ergebnis ergab die Untersuchung von RÖDER et al. (1998) mit 279 Mikrosatelliten, von denen 115 für das B-Genom, 93 für das A-Genom und 71 für das D-Genom kartiert wurden. Bei der Analyse der homoeologen Gruppen 4, 5 und 7 von NELSON et al. (1995) entfielen 21% der kartierten Markerloci auf das D-Genom. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass das B-Genom eine höhere genetische Variation aufweist als die beiden anderen Genome. Um zusätzliche Marker für das D-Genom zu erhalten, haben PESTSOVA et al. (2000) *Aegilops tauschii*, der als diploider Weizen als D-Genomspender für den hexaploiden Weizen angesehen wird, auf Mikrosatellitenmarker untersucht.

4.5.3 Detektion von QTL für Resistenz gegen Blatt- und Spelzenbräune (*Septoria nodorum*)

Mittels statistischer Methoden erfolgt eine Abschätzung von merkmalsrelevanten QTL, wobei Assoziationen zwischen einem Marker und dem betreffenden Merkmal berechnet werden. In der vorliegenden Arbeit wurde dies anhand einer Einzelmarkerregression bzw. einer ANOVA mit Hilfe der Software SPSS 10.0 sowie anhand einer QTL-Analyse mit Hilfe der Software PLABQTL (UTZ und MELCHINGER 1996) durchgeführt.

Assoziationen mit dem Ährenbefall konnten für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' für Marker auf den Chromosomenarmen 1BS, 2DS, 3AL, 3DL, 5BS, 5DL, 7AS und 7AL berechnet werden. Die Werte für den Anteil eines Markers an der phänotypischen Varianz (R^2) lagen dabei unter 10%, mit Ausnahme des Markers gwm296 auf 2DS mit 16,2%, womit es sich bei den meisten Assoziationen um Minor-QTL handeln dürfte. Dies wird unterstützt von der Feststellung, dass die meisten signifikanten Assoziationen nur für eine Umwelt berechnet werden konnten.

Für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' konnten Assoziationen mit dem Ährenbefall für Marker auf den Chromosomenabschnitten 2AS, 3DS, 5BL, 5DL, 6A, 7AS sowie für einen Marker von der anonymen Kopplungsgruppe 4KG berechnet werden. Die berechneten Werte für R^2 der Marker fielen mit maximal 6,7% noch geringer aus und liessen sich meistens auch nur für eine Umwelt berechnen. Somit dürfte es sich auch bei den Assoziationen dieser Marker mit dem Ährenbefall um Minor-QTL handeln. Eine Übereinstimmung der berechneten Assoziationen bezüglich des Ährenbefalls bei beiden Kreuzungen ergab sich nur für den Chromosomenarm 7AS. In den QTL-Analysen konnten weder für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' noch für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' QTL für Ährenresistenz lokalisiert werden. Die Hauptgründe dafür liegen bei der geringen Genomabdeckung sowie bei der geringen Anzahl an untersuchten Linien. Um das riesige Weizengenom einigermaßen gleichmässig mit Markern abzudecken, wären 200 bis 400 kartierte Loci notwendig, bei einer Markerabdeckung von 10 bis 20 Loci pro Chromosom (LANDRIGE und CHALMERS 1998). In haploider Form umfasst das Weizengenom ungefähr $1,7 \times 10^{10}$ bp mit ca. 810 Mb pro Chromosom, womit drei Weizenchromosomen dem haploiden Maisgenom entsprechen und eineinhalb Weizenchromosomen so gross wie das haploide Reisgenom sind (GILL und GILL 1994). Ein weiterer Grund könnte bei der Genauigkeit der Ährenbonitur liegen, da hier eventuell Unterschiede des Ährenbefalls im Rahmen einer praktikablen Durchführbarkeit nicht präzise genug erfasst werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit decken sich zum Teil mit denen von anderen Studien, wobei in den meisten Studien der Befall der Ähre und der Blätter nicht getrennt betrachtet wurde. In den Untersuchungen von HU et al. (1996) wurde anhand von Monosomenanalysen und Gewächshausversuchen festgestellt, dass die Chromosomenabschnitte 3AS, 3BL, 4AS, und 7A an der Ährenresistenz beteiligt sind.

Die bedeutendsten Assoziationen mit dem prozentualen Blattbefall, wobei der Befall des Fahnenblattes doppelt gewichtet wurde gegenüber dem des Fahnenblattes minus eins aufgrund der höheren Bedeutung für die Kornfüllung, konnten für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' für die Chromosomenabschnitte 1BS, 2AL, 2DS, 3AL, 3DS, 3DL, 5AS/DS, 5BS, 5DL, 7AS und 7AL berechnet werden. Die Werte für R^2 reichten von 3,3 bis 25,3% und konnten für die betreffenden Marker der oben genannten Chromosomenabschnitte für beide Jahre berechnet werden. Dies lässt vermuten, dass es sich bei den festgestellten Assoziationen um mittlere QTL bzw. bei den Assoziationen für die Chromosomenabschnitte 1BS, 3DL und 5DL eventuell um Haupt-QTL handeln könnte. In den Arbeiten von HU et al. (1996) konnten anhand von Monosomenanalysen Resistenzen gegen den Blattbefall auf den Chromosomen 3A, 3BL und 4AL lokalisiert werden. CAO et al. (2001) fanden einen RAPD-Marker für eine monogene Resistenz auf dem Chromosom 3A.

Für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' konnten Assoziationen mit dem Blattbefall für Marker auf den Chromosomenabschnitten von 1BS, 3DS, 4BL, 6AS, 6BS, 6D, 7AS sowie für einen AFLP-Marker der anonymen Kopplungsgruppe 1KG berechnet werden. Der Anteil der erklärbaren phänotypischen Varianz dieser Marker reichte von 2,9 bis 16,8%, wobei die meisten Assoziationen nur für eine oder zwei Umwelten berechnet werden konnten, mit Ausnahme der SSR-Marker gwm334 auf 6AS und gwm130 auf 7AS mit berechneten Assoziationen für drei Umwelten. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass es sich bei den ermittelten Assoziationen eher um Minor-QTL handelt, wobei diejenigen auf Chromosomenarm 6AS bzw. 7AS anscheinend sehr konsistent sind. Übereinstimmende Assoziationen mit dem Blattbefall für beide Kreuzungen liessen sich für Marker auf den Chromosomenabschnitten 1BS, 3DS und 7AS berechnen.

In der QTL-Analyse konnten für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' zwei QTL für Blattresistenz detektiert werden, wovon der erste QTL auf Chromosom 1BS und der zweite auf Chromosom 5DL lokalisiert wurde. Der QTL auf 1BS konnte sowohl für die einzelnen Umwelten als auch über deren Mittel berechnet werden, wobei die R^2 -Werte in den einzelnen Umwelten bei 20 und 21% und bei der Berechnung über das Mittel der Umwelten bei 27% lagen, womit der QTL als ein Haupt- oder Major-QTL einzustufen ist. Ebenfalls lag der LOD-Wert mit 5,97 bei der Berechnung über das Mittel der Umwelten höher als in den einzelnen Umwelten mit 4,31 und 4,45. Einen höheren LOD-Wert eines QTL bei der Berechnung über das Mittel der Umwelten gegenüber den einzelnen Umwelten bewerteten SCHÖN et al. (1993) in ihren Arbeiten zur Kartierung von Resistenz-QTL gegen den Maiszünsler mittels RFLP als Anzeichen für die Konsistenz eines QTLs über die Umwelten. In den Untersuchungen von KLEIJER et al. (1977) konnte nach Tests an Keimlingen und anhand von Monosomenanalysen der Weizensorte 'Atlas 66', welche FRECHA (1973) als Resistenzträger eingestuft hatte, ebenfalls eine Resistenz gegen *Septoria nodorum* auf Chromosom 1B lokalisiert werden. Das Allel für eine höhere Blattresistenz des QTLs auf 1BS stammte von der weniger anfälligen Elternlinie 'Piko'. Die Allelverteilungen der beiden flankierenden Marker gwm33 und gwm268 wiesen einheitlich eine starke gestörte Segregation in Richtung der Elternlinie 'Piko' auf. Möglicherweise liegen in dieser Genomregion, welche ein gestörtes Spaltungsverhältnis der Markerloci zeigen, genetische Faktoren, die einen Einfluss auf die Allelverteilung während der Meiose haben. In den Arbeiten von WEIß (1995) über die Entwicklung von molekularen Markern und deren Anwendung in der Genomanalyse bei Weizen wird ebenfalls von gestörter Segregation von Markerloci berichtet, welche ungleich über das Genom verteilt waren und gehäuft auf den Chromosomen 1B, 2B und 5B auftraten. Bei der Kartierung an einer F_5 -Nachkommenschaft von RILs einer Kreuzung des Winterweizens 'Forno' mit dem Winterspelzweizen 'Oberkulmer' stellten MESSMER et al. (1997) bei 35% der untersuchten Markerloci eine gestörte Segregation fest. Die Chromosomen 5B und 7A zeigten einen Überhang an Allelen von 'Forno', während für die Chromosomen 4B, 7B und 7D die Allele

von 'Oberkulmer' überwogen. In ihrer Arbeit zur Kartierung von QTL für Resistenz gegen *Fusarium Ährenbleiche* bei Gerste fanden ZHU et al. (1999) bei 25 von 97 kartierten Markerloci eine gestörte Segregation. KNOTT (2001) stellte eine unnormale Segregation des *Sr6*-Locus für Resistenz gegen Schwarzrost fest, welche möglichen Interaktionen mit *sr6*-Allelen des anfälligen Elters oder Transposonelementen zugeschrieben wurde. LI et al. (1999) fanden für das Abwehrreaktionsgen *Chi1* eine signifikante Abweichung vom erwarteten Spaltungsverhältnis 1:2:1 für eine F₂-Population von *Ae. tauschii*. FARIS et al. (1998) führten eine molekulare Kartierung von Loci mit gestörter Segregation bei *Ae. tauschii* durch.

Der QTL für Blattresistenz auf Chromosom 5DL konnte nur nach Berechnung über das Mittel der Umwelten detektiert werden, wobei der Anteil der erklärbaren phänotypischen Varianz mit über 15% relativ hoch lag und es sich ebenfalls um einen Haupt-QTL handeln könnte. Das Allel für einen geringeren Befall stammte von dem mittel anfälligen Elter 'Euris'. RAPILLY et al. (1988) fanden mittels Monosomenanalyse der Linie 'L22' und nach Tests an Blattsegmenten sowie Feldversuchen, dass Chromosom 5DL einen kleinen Effekt auf die Verminderung des Befalls mit *Septoria nodorum* hatte, neben grossen Effekten von 3A und 7A sowie weiteren kleinen Effekten von 2B, 4B, 5A, 5A und 7B. Dagegen stellten NICHOLSON et al. (1993) nach Tests an Keimlingen und Untersuchungen von Substitutionslinien eines synthetischen Weizens grösste Effekte von Chromosom 5D und 3D fest, neben kleineren Effekten von 2A, 3B, 5A und 7D. ELLERBROOK et al. (1999) lokalisierten mit Hilfe der Analyse von Isoenzym-, RFLP- und Mikrosatellitenmarkern an rekombinanten Einzelchromosomenlinien von Substitutionslinien eines synthetischen Weizens eine Resistenz (*Srb3*) gegen *S. nodorum* auf Chromosom 5D. In Abbildung 22 ist die ungefähre Lage des QTLs zwischen den Markern *gwm174* und *gwm182* dargestellt im Vergleich mit den genetischen Karten von ELLERBROOK et al. (1999) und HART et al. (1993) von Chromosom 5D. Die Orientierung der Marker *gwm174* und *gwm182* wurde in Anlehnung an die Mikrosatellitenkarte von RÖDER et al. (1998) gewählt und musste durch die Kartierung weiterer Marker bestätigt werden. Der lokalisierte QTL für Blattresistenz gegen *S. nodorum* könnte zu einem Cluster von Resistenzgenen gehören zusammen mit dem Braunrostresistenzgen *Lr1* und dem Schwarzrostresistenzgen *Sr30*. Als Unterstützung dieser These kann das zwischen den genannten Rostresistenzgenen lokalisierte Vernalisationsgen *Vrn3* gesehen werden, da der Marker *gwm174* signifikante Assoziationen zum Ährenschieben in beiden Jahren zeigte. Vernalisationsgene sind von entscheidender Bedeutung für die Entwicklung einer Weizenpflanze, insbesondere für die Ährenbildung.

Für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' konnten in der QTL-Analyse mit den Daten von 96 F₃-Familien keine signifikanten QTL detektiert werden. Die wesentlichen Ursachen dafür sind zum einen die geringe Genomabdeckung und zum anderen die vergleichsweise geringe Anzahl an untersuchten F₃-Familien, insbesondere deswegen, weil die F₃-Familien genetisch als F₂-Generation zu betrachten sind und dies einen Informationsverlust bei kodominanten Markern, wie SSR- und zum Teil RFLP-Markern, von ca. 50% und bei dominanten Markern, wie AFLP- und die meisten RFLP-Marker, von ca. 75% zur Folge hat. Mit ausgewählten SSR-Markerpaaren, für die sich eine Kopplung berechnen liess und welche in der Einzelmarkerregression deutliche Assoziationen zum Blattbefall zeigten, wurden weitere 42 F₃-Familien analysiert. Anschließend wurde mit dem erweiterten Datensatz dieser SSR-Markerpaare eine QTL-Analyse durchgeführt, wobei zwei QTL detektiert werden konnten. Ein QTL konnte auf Chromosom 1BS für den Standort Bergen 1999 lokalisiert werden mit einem Wert für R² von 10,6%. Der zweite QTL konnte auf Chromosom 3DS für den Standort Grünbach 1999 lokalisiert werden mit einem Anteil der erklärbaren phänotypischen Varianz von 8,8%. Beide QTL konnten ebenfalls bei der Berechnung mit dem Mittelwert der Befallsdaten über die drei Umwelten Grünbach 1999, Hadmersleben 1999 und Bergen 1999 detektiert werden. Dabei fiel der LOD-Wert für den QTL auf 1BS mit 2,62 etwas niedriger

aus gegenüber der Berechnung für die Umwelt Bergen 1999 mit 3,21. Dagegen lag der LOD-Wert für den QTL auf 3DS mit 2,43 geringfügig höher gegenüber der Berechnung für die Umwelt Grünbach 1999 mit 2,37. Somit kann die Berechnung der QTL anhand der Befallsmittelwerte über die drei Umwelten tendentiell als Bestätigung für die jeweilige Detektion in den einzelnen Umwelten gesehen werden.

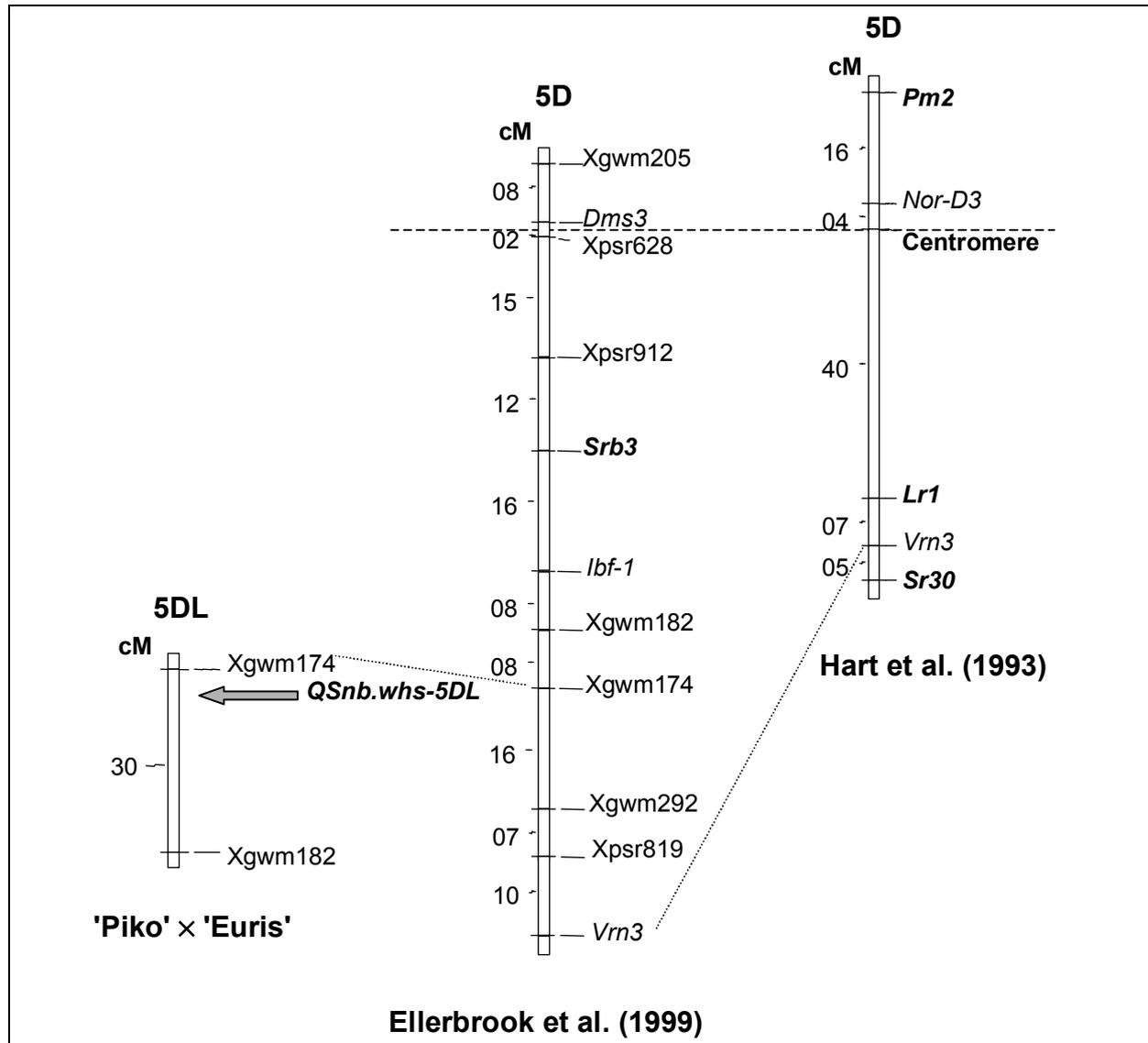


Abbildung 22: Skizzierte Lage des QTL für Blattresistenz auf Chromosom 5DL (*QSnb.whs-5DL*) im Vergleich mit kartierten Resistenzgenen aus der Literatur (*Lr* = Braunrost/ engl.: Leaf rust, *Pm* = Mehltau/ Powdery mildew, *Sr* = Schwarzrost/ Stem rust, *Srb* = Blatt- und Spelzenbräune/ *Septoria nodorum* blotch, *Vrn* = Vernalisation/ Vernalization response).

Für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' konnte kein QTL auf Chromosom 3DS mittels einer CIM-Analyse lokalisiert werden, da sich für die untersuchten Marker keine Kopplung berechnen liess. Dafür konnten für den Marker gwm161, welcher auch zu den flankierenden Markern des detektierten QTLs der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' gehört, signifikante R^2 -Werte bezüglich des Blattbefalls für beide Jahre in der Einzelmarkerregression berechnet werden, womit dann ebenfalls ein Vergleich gegeben ist. In den Arbeiten von NICHOLSON et al. (1993) wurden nach Tests an Keimlingen und Untersuchungen von Substitutionslinien eines synthetischen Weizens grösste Effekte für eine Resistenz gegen *S. nodorum* von

Chromosom 5D und 3D festgestellt, neben kleineren Effekten von 2A, 3B, 5A und 7D. MESSMER et al. (1997) fanden ebenfalls einen QTL auf Chromosom 3D sowie vier bis sechs weitere QTL nach Feldversuchen und Analyse mit molekularen Markern einer Kreuzung von einem Winterweizen mit einem Spelzweizen.

Somit konnte für beide Kreuzungsnachkommenschaften ein QTL auf 1BS lokalisiert werden. Ob es sich bei den lokalisierten QTL um den gleichen QTL mit unterschiedlicher Ausprägung oder eventuell um zwei verschiedene QTL handelt, kann letztendlich nur mit einer hochauflösenden Kartierung eindeutig bestimmt werden. Ein Vergleich der Lage der lokalisierten QTL auf Chromosom 1BS zeigt die Abbildung 23. Ergänzend sind im Vergleich die Positionen einiger bereits kartierter qualitativer Resistenzgene nach HART et al. (1993) auf 1BS sowie die Lage von lokalisierten Abwehrreaktionsgenen nach LI et al. (1999) dargestellt. Bei dem QTL könnte es sich eventuell um die in dieser Region lokalisierten Abwehrreaktionsgene *Chs* oder *Fmt* handeln. *Chs* ist ein Gen, welches das Enzym *Chalconsynthase* kodiert und *Fmt* ein Gen welches das Enzym *Flavonol 7-O-methyltransferase* kodiert. Chalone gehören zu den Flavonoiden, einer grossen Gruppe speziell in Pflanzen vorkommender Phenole mit einem Phenylchroman-Ringsystem. Das Enzym *Flavonol 7-O-methyltransferase* ist an der Derivatisierung von Flavonolen, einer weiteren Klasse von Pflanzenphenolen beteiligt. Einige Flavonoide und Pflanzenphenole allgemein sind bekannt für ihr schützende Funktion gegenüber Pilzkrankheiten. Phenole sind darüber hinaus auch am Prozess der Lignifizierung von Blattwunden beteiligt, dessen Rolle in der Resistenzreaktion von Weizenblättern von RIDE (1975) untersucht wurde. VENCES et al. (1982) konnten phenolische Verbindungen in Weizenblättern dem Chromosom 1B sowie sechs weiteren Chromosomen zuordnen. Der QTL könnte auch zu einem Cluster zusammen mit dem Resistenzgen *Yr15* gegen Gelbrost gehören. Der QTL, welcher für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' nahe am SSR-Marker für einen Gliadinlocus detektiert wurde, könnte dem Resistenzgencluster, bestehend aus Genen gegen Gelbrost (*Yr9*), Braunrost (*Lr26*), Schwarzrost (*Sr31*) sowie gegen Mehltau (*Pm8*), zugeordnet werden. Dieses Resistenzgencluster befindet sich vergleichsweise nahe am Gliadinlocus *Gli-B1*. Eine Assoziation von QTL für Resistenz gegen *Fusarium* Taubährigkeit mit Gliadinloci auf Chromosom 1B und 1D fanden ITTU et al. (2000) in ihren Untersuchungen von 108 RILs einer Winterweizenkreuzung. KELLER et al. (1999a) haben einen QTL für Resistenz gegen Mehltau auf 1BS lokalisiert in einer Kreuzung von einem Winterweizen mit einem Spelzweizen sowie MESSMER et al. (2000) einen Resistenz-QTL gegen Braunrost ebenfalls auf 1BS in derselben Kreuzung. Bei der Kartierung von Abwehrreaktionsgenen haben LI et al. (1999) festgestellt, dass die Genomorganisation deutliche Cluster von Abwehrgenen aufweist, welche häufig in distalen Regionen der Chromosomen lokalisiert sind. Diese Cluster sind im Laufe der Evolution vermutlich aufgrund der Assoziation ihrer Funktionen erhalten geblieben. Studien über Wirt-Pathogen Interaktionen lassen vermuten, dass die Expression von Abwehrgenen in „Familien“ koordiniert ist (HAHLBROCK et al. 1995), insbesondere wenn Abwehrgene durch Signalmoleküle wie Ethylen, Salicylsäure oder Jasminsäure reguliert werden (RYALS et al. 1996). WENDLAND und HOFFMANN (1988) hat die quantitative Resistenz gegen *S. nodorum* verschiedener Weizensorten anhand der quantitativen postinfektionellen Ethylenbildung untersucht, welches die Vermutung unterstützt, dass Resistenz-QTL gegen *S. nodorum* eventuell zu Clustern von Abwehr- bzw. Resistenzgenen gehören, deren Expression durch das Signalmolekül Ethylen gesteuert wird. Beide QTL lassen sich auch den zwei gen-reichen Regionen zuordnen, welche SANDHU et al. (2001) physikalisch auf dem kurzem Arm von Chromosom 1B kartiert haben. Die Autoren konnten feststellen, dass über 82% der Rekombinationen von Chromosom 1BS in der weiter distal gelegenen Region stattfand und 17% in der zweiten Region. Weniger als 1% Rekombination wurde für die restliche physikalische Armlänge von 85% beobachtet.

4.5.4 Detektion von QTL für Halmlänge und Ährenschieben sowie mögliche Koinzidenz mit Resistenzloci

Für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' konnten Assoziationen mit der Halmlänge für Marker auf den Chromosomen 2AL, 2DS, 3AL, 5BS, 7AS und 7AL berechnet werden. Die meisten R^2 -Werte lagen dabei deutlich unter 10%, womit es sich bei den meisten Assoziationen um Minor-QTL handeln dürfte. Ausnahme davon bildet der Marker gwm130 auf 7AS mit 10,8% und 14,5% Anteil phänotypischer Varianz, womit die berechnete Assoziation als mittlerer QTL für Halmlänge anzusehen ist. In der QTL-Analyse konnte ein QTL auf Chromosom 7A zwischen den Markerloci von gwm130 und gwm332 detektiert werden. Mit einem berechneten Wert für R^2 von 23,1% ist der QTL als Haupt-QTL einzustufen und bestätigt das Ergebnis aus der Einzelmarkerregression. Das Allel für grössere Halmlänge stammte von der Elternlinie 'Euris', welcher die grössere Halmlänge gegenüber der Linie 'Piko' besitzt. Die berechnete Assoziation mit der Halmlänge für Chromosom 2DS (Marker gwm296) ist sicherlich auf die detektierten, unterschiedlichen Allele des Verzweigungsgens *Rht8* auf 2DS zurückzuführen. Der für *Rht8* diagnostische Marker gwm291, welcher mit ca. 1 cM eng gekoppelt ist mit Marker gwm296, detektierte für die Elternlinie 'Euris' ein Allel, welches für eine erhöhte Pflanzenlänge von ca. drei Zentimetern verantwortlich ist (KORZUN et al. 1998).

Mit Ausnahme des Chromosoms 2AL konnte für alle anderen Marker, für die eine Assoziation mit der Halmlänge berechnet werden konnte, ebenfalls eine Assoziation mit dem Ährenbefall als auch mit dem Blattbefall berechnet werden. Da zwischen den Boniturdaten der Halmlänge und des prozentualen Ährenbefalls eine schwache bis mittlere negative Korrelation berechnet werden konnte, wäre dies als Hinweis auf eine mögliche Kopplung von QTL für Halmlänge und QTL für Ährenresistenz zu sehen. ZHU et al. (1999) fanden in ihren Arbeiten zur Kartierung von QTL für Resistenz gegen *Fusarium* bei Gerste Koinzidenzen für alle Resistenz-QTL mit QTL für Halmlänge und anderen morphologischen Merkmalen. Assoziationen mit der Halmlänge konnten für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' für Marker auf den Chromosomen 1BL, 2DS, 3DL, 5BS, 5DL und 7AS berechnet werden. Damit zeigten sich Übereinstimmungen für beide Kreuzungen bezüglich der Assoziation mit der Halmlänge für die Chromosomen 2DS, 5BS und 7AS. In der QTL-Analyse konnten keine QTL für Halmlänge detektiert werden, vermutlich aus den zuvor genannten Gründen der geringen Genomabdeckung sowie des geringeren Informationsgehaltes aufgrund des Generationstyps der Nachkommenschaft (F_3 -Familien). Da bei den Elternlinien 'Apollo' und 'G18/90' für das Verzweigungsgen *Rht8* das gleiche Allel detektiert wurde, wäre es denkbar, dass sich auf Chromosom 2BS zusätzlich ein QTL für Halmlänge befindet. KELLER et al. (1999a) fanden in ihren Untersuchungen über QTL für Resistenz gegen Mehltau bei Weizen, dass acht von 17 QTL auf Chromosomen mit bekannten qualitativen Mehltaresistenzen (*Pm*-Gene) lokalisiert waren. Zusätzlich repräsentierte ein Major-QTL die Mehltaresistenz *Pm5* auf Chromosom 7B. Lediglich für Chromosom 7AS konnten auch Assoziationen zum Ähren- und Blattbefall berechnet werden. Für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' konnten ebenfalls zwischen den Boniturdaten für Halmlänge und Ährenbefall mittlere negative Korrelationen berechnet werden, welches die Vermutung der Kopplung von Halmlängen-QTL mit QTL für Ährenresistenz unterstützt.

Assoziationen mit dem Zeitpunkt des Ährenschiebens konnten für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' für Marker auf den Chromosomen 1BS, 2AL, 2DS, 3AL, 5BS, 5DL, 7AS und 7AL berechnet werden. Die Werte für den Anteil der phänotypischen Varianz reichten dabei von knapp vier Prozent bis über 20%. In der QTL-Analyse konnten für die Chromosomen 5DL und 7A QTL für Ährenschieben detektiert werden. Mit einem Wert für R^2 von 20,8% für den QTL auf Chromosom 5DL ist als Major-QTL anzusehen. Der flankierende Markerloci gwm174 liegt nahe zum Vernalisationsgen *Vrn3*, womit sicherlich ein Zusammenhang bzw.

Einfluss anzunehmen ist. SOURDILLE et al. (2000) fanden in ihren Arbeiten zur Bestimmung von QTL für Ährenschieben und Photoperiodismus eine Assoziation des Markerloci gwm174 zu beiden Merkmalen. Sehr bemerkenswert ist, dass für alle Markerloci, für die eine Assoziation zum Ährenschieben berechnet werden konnte, sich auch Assoziationen zum Blattbefall und teilweise zum Ährenbefall berechnen liessen. Da die berechneten Korrelationen zwischen den Boniturdaten des Blattbefalls und denen des Ährenschiebens in beiden Jahren schwach negativ waren, lassen die Ergebnisse der Regressionsanalyse eher auf eine Pleiotropie der betreffenden QTL schliessen als auf eine Kopplung von QTL beider Merkmale. In ihrer Studie über die Beziehung zwischen der Pflanzenhöhe bzw. dem Zeitpunkt des Ährenschiebens und der Resistenz gegen *Septoria nodorum* kommen SCOTT et al. (1982) zu dem Schluss, dass Pleiotropie eher als Erklärung für die genetische Assoziation von Pflanzenhöhe und Ährenschieben mit der Resistenz anzusehen ist, als eine Kopplung von QTL der beiden Merkmale. Für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' konnten Assoziationen mit dem Zeitpunkt des Ährenschiebens für Marker auf den Chromosomen 3DS, 4BL, 5BL und 6D berechnet werden. Die Assoziation zum Ährenschieben für Chromosom 5BL ist eventuell auf das Vernalisationsgen *Vrn2* zurückzuführen, welches ebenfalls auf 5BL lokalisiert ist (SNAPE et al. 1998). Assoziationen der betreffenden Marker zum Ähren- oder Blattbefall konnten nicht berechnet werden mit Ausnahme des Markers gwm118 auf Chromosom 5BL, für den sich eine Assoziation zum Ährenbefall berechnen liess. Die festgestellte parallele Assoziation zum Blattbefall und zum Ährenschieben bei Markern der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' war für Marker der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' nicht zu beobachten. Allerdings lässt sich eine mögliche Koinzidenz von Vernalisationsgenen der homeologen Chromosomen 5BL und 5DL mit Resistenzgenen bei beiden Kreuzungen vermuten.

4.6 Ausblick

Die evolutionäre Entwicklung des Saat- bzw. Brotweizens (*Triticum aestivum* L.) führte zur Ausbildung eines dreifachen bzw. hexaploiden Genoms, wodurch sich agronomische wichtige Eigenschaften wie hoher Ertrag, Widerstandsfähigkeit und gutes Adaptionsverhalten vereinigten und womit der Weizen zu einer der drei weltweit meist angebauten Kulturpflanze wurde.

Die Aufklärung der Genetik des Weizens, welche schliesslich in die praktische Züchtung eingeht, ist aufgrund des riesigen hexaploiden Genoms um so schwieriger und aufwendiger. Hinzu kommt der im Vergleich zu anderen Kulturpflanzen geringere Polymorphiegrad, vermutlich bedingt durch die vergleichsweise junge Evolution, was dazu geführt hat, dass sich genetische Arbeiten mit molekularen Markern nur langsam entwickelt haben und denen von anderen Kulturpflanzen hinterherlaufen. Durch neue Markertechniken wie den SSR- und AFLP-Markern konnte diesen Problemen begegnet werden und grösste Hoffnungen und Erwartungen werden an die neueste Markermethode der sogenannten 'Single Nucleotide Polymorphism' (SNP) gesetzt. Mit SNPs werden Polymorphismen, die in dem Unterschied eines einzelnen DNA-Nukleotids bestehen, detektiert, wozu allerdings auch ein erhöhter analytischer Aufwand, wie beispielsweise der Einsatz eines Massenspektrometers zur spezifischen Detektion der einzelnen Nukleotide, notwendig ist.

In der vorliegenden Arbeit kamen RFLP-, SSR- sowie AFLP-Marker zum Einsatz im Rahmen der Analyse der quantitativen Resistenz gegen Blatt- und Spelzenbräune (*Septoria nodorum*). Es konnten QTL für Blattresistenz sowie Assoziationen von Chromosomenabschnitten zu Ähren- und Blattresistenz bestimmt werden, womit diese Arbeit einen Beitrag zur Aufklärung des genetischen Hintergrunds der quantitativen Resistenz gegen *S. nodorum* liefert. Eine solche QTL-Kartierung verfolgt im wesentlichen zwei Ziele, zum einen die Aufklärung der genetischen Zusammenhänge eines quantitativen Merkmals und zum anderen die Entwicklung von Markern für den Einsatz in der praktischen Züchtung in einer markergestützten Selektion (MAS). Als Hilfe für Züchter für die Selektion auf Resistenz wird auch an der Entwicklung von 'in vitro-screening'-Methoden gearbeitet. In den Untersuchungen von WICKI et al. (1999b) wurden zygotische Embryonen sowie Körner von Nachkommenschaften verschiedener Kreuzungen sowie verschiedener Generationsstufen auf mit einem toxischen Rohextrakt von *S. nodorum* als selektivem Agens behandelten Medien kultiviert und mit Feldversuchen mit künstlicher Infektion verglichen. Dabei konnten keine Korrelationen zwischen der Reaktion *in vitro* und dem Resistenzniveau auf dem Blatt gefunden werden (WICKI 1997), hingegen eine gute Übereinstimmung zwischen der Reaktion *in vitro* und dem Resistenzniveau auf der Ähre für die Elternlinien, für die Generationen F₁ und F₅, aber nicht für die F₃-Generation. Es zeigte sich, dass eine Selektion *in vitro* von einzelnen Pflanzen in frühen spaltenden Nachkommenschaften nicht möglich ist, da die Methode nicht präzise genug ist. WENZEL und FOROUGHI-WEHR (1990) fanden bei Nachkommen von regenerierten Pflanzen von Gerste, Weizen und Kartoffel, welche *in vitro* auf Resistenz gegen *Helminthosporium*, *Fusarium* bzw. *Phytophthora* selektiert worden waren, keinen signifikanten Unterschied bezüglich des Resistenzniveaus des Ausgangsmaterials.

Neben der Entwicklung von molekularen Markern für die praktische Züchtung hat die genetische Kartierung auch die Klonierung von Genen zum Ziel, welche wiederum für eine noch spezifischere Selektion in der Züchtung als auch für die genetische Aufklärung Anwendung findet. Für eine kartengestützte Genisolierung ist eine Anreicherung von Markern bzw. eine hochauflösende Kartierung der Zielregion notwendig. Dies kann erreicht werden durch die Verwendung von nah-isogenen Linien (NILs), welche sich im Idealfall nur in einem Chromosomensegment, auf dem sich das Zielgen befindet, vom rekurrenten Elter unterscheiden (KAEPLER 1997). Ein weiterer Schritt in Richtung Genisolierung bzw. -

klonierung ist das ‘chromosome landing’, welches SCHWARZ et al. (1999a) mittels AFLP-Marker in Kombination mit *Mla*-Allel spezifischen NILs angewendet hat, um eng gekoppelte Marker für den *Mla*-Locus bei Gerste zu finden. Für eine gezielte Untersuchung von Genombereichen bietet sich die Analyse von phänotypischen ‘Pools’ an, wozu die Individuen einer spaltenden Nachkommenschaft in zwei phänotypische Gruppen, wie z. B. resistente und nicht resistente Pflanzen, zusammengefasst werden. Die anhand dieser ‘Pools’ selektierten Marker, die einen Polymorphismus detektieren, befinden sich dann mit grosser Wahrscheinlichkeit in der Nähe eines Genortes, welcher für Resistenz verantwortlich ist. Mit dieser sogenannten ‘Bulked Segregant Analysis’ (BSA) gelang es MICHELMORE et al. (1991) eng gekoppelte Marker für ein Mehlttauresistenzgen bei Salat sowie CHANTRET et al. (2000) Resistenz-QTL gegen Mehlttau bei Weizen mittels Mikrosatelliten zu finden. Die Anwendung von BSA für quantitative Merkmale ist nur begrenzt möglich, da zum einen das Zusammenstellen der ‘Pools’ schwierig ist aufgrund der kontinuierlichen phänotypischen Variation und zum anderen können nur Haupt-QTL detektiert werden. Effektiver für die Detektion von QTL zeigten sich DNA-Pool-Strategien (WANG und PETERSON 1994, PEREZ-ENRISCO 1998). Das Zusammenstellen der ‘Pools’ auf der Basis bereits kartierter Marker ermöglicht die Anreicherung von Markern in genetisch definierten Intervallen (GIOVANNONI et al. 1991).

Molekulare Marker könnten darüber hinaus auch zur Selektion von transgenen Weizenpflanzen nach erfolgter Transformation eingesetzt werden, insbesondere für die Detektion sogenannter ‘Ausreisser’, d. h. von Pflanzen, die auf einem Selektivmedium für transgene Pflanzen wachsen, obwohl die Markergene nicht integriert worden sind (DAHLEEN et al. 2001). Obwohl es schon einige Arbeiten zur Entwicklung von transgenen Weizenpflanzen gibt, insbesondere auch bezüglich antifungaler Resistenz (JAUHAR und CHIBBAR 1999, CHEN et al. 1999), ist die Anwendung von Transformationen in grösserem Stil bisher noch nicht möglich, aufgrund von genotypspezifischen Effekten bei der Pflanzenregeneration, niedriger Transformationsraten, somaclonaler Variation, Problemen bei der Vererbung von transgenen Merkmalen sowie bei der Stabilität der Genexpression (‘gene silencing’, DEMEKE et al. 1999). Die in dieser Arbeit mit molekularen Markern detektierten QTL für Blattresistenz gegen *S. nodorum* bilden eine Grundlage für die Entwicklung von eng gekoppelten Markern zu diesen QTL. Diese eng gekoppelten Marker könnten dann in einer markergestützten Selektion zur Erhöhung der Resistenz gegen *S. nodorum* in der konventionellen Weizenzüchtung eingesetzt werden.

4 ZUSAMMENFASSUNG

Die Verbesserung der quantitativen Resistenz gegen Pilzkrankheiten gehört zu den wichtigsten Zielen in der Weizenzüchtung und ist aufgrund der polygenen Natur der Vererbung und der damit verbundenen kontinuierlichen phänotypischen Variation schwer für Züchter zu bearbeiten.

Mit der vorliegenden Arbeit sollten quantitative Merkmalsloci (QTL), welche für eine Resistenz gegen Blatt- und Spelzenbräune (*Septoria nodorum*) verantwortlich sind, anhand von Nachkommenschaften zweier Weizenkreuzungen mittels molekularer Marker analysiert werden. Die Nachkommenschaft der Kreuzung 'Piko' × 'Euris' bestand aus 190 rekombinanten Inzuchtlinien (RIL) der F₄-Generation und wurde in den Jahren 1998 und 1999 in Freising-Pettenbrunn auf dem Feld angebaut und nach künstlicher Infektion auf prozentualen Befall der Ähre (Spelzen) und Blätter bonitiert. Die Nachkommenschaft der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' umfasste 200 F₃-Familien und wurde 1998 und 1999 in Grünbach sowie 1999 zusätzlich an zwei weiteren Züchterstandorten auf dem Feld angebaut und ebenfalls nach künstlicher Infektion bonitiert. Für beide Nachkommenschaften wurden ebenfalls die Resistenz beeinflussenden Merkmale Halmlänge und Zeitpunkt des Ährenschiebens aufgenommen. Die Boniturdaten wurden auf Normalverteilung getestet und Korrelation zwischen Ähren- und Blattbefall sowie zwischen den Umwelten berechnet. Die Ergebnisse zeigen, dass es sich bei der Resistenz gegen *S. nodorum* der untersuchten Kreuzungsnachkommenschaften um eine quantitative Resistenz handelt, welches im Einklang mit den meisten bisherigen Arbeiten steht und unterstützen die These von separaten Resistenzkomplexen für Ähre und Blätter.

Von der Nachkommenschaft 'Piko' × 'Euris' wurden 148 Linien mit RFLP- und SSR-Markern untersucht, und es konnte eine genetische Kopplungskarte mit insgesamt sechs chromosomenspezifischen Kopplungsgruppen berechnet werden. 96 Linien der Nachkommenschaft 'Apollo' × 'G18/90' wurden mit RFLP-, SSR- und AFLP-Markern analysiert, und es konnte eine Kopplungskarte mit insgesamt 15 chromosomenspezifischen und sechs anonymen Kopplungsgruppen erstellt werden. Die Untersuchung der SSR- und AFLP-Marker erfolgte mit fluoreszenzmarkierten Primern und die Analyse der amplifizierten PCR-Marker mittels eines Sequenziergerätes mit Laserdetektion und computergestützter Auswertung. Die Kopplungskarten wurden mit Hilfe des Programms Mapmaker erstellt, welches die Grundlage bildete für die anschliessende QTL-Analyse mittels des Programms PlabQTL. Ferner wurden Assoziationen von einzelnen Markern mit dem Ähren- und Blattbefall bzw. zur Halmlänge und zum Zeitpunkt des Ährenschiebens anhand einer ANOVA mit dem Programm SPSS berechnet. Die bevorzugte Eignung von SSR- und AFLP-Markern für eine effektive Kartierung des Weizengenoms und damit auch für die QTL-Detektion wurde dargelegt.

Für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' konnten zwei QTL für Blattresistenz auf den Chromosomen 1BS und 5DL detektiert werden. Ebenfalls zwei QTL für Blattresistenz konnten für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' auf den Chromosomen 1BS und 3DS gefunden werden. Signifikante QTL für Ährenresistenz liessen sich für keine der beiden Kreuzungen bestimmen. Als Hauptursache dafür ist die geringe Markerabdeckung des riesigen Weizengenoms zu sehen, welches mit ca. $1,7 \times 10^{10}$ Basenpaaren 35 mal so gross wie das Reisgenom ist. Signifikante Assoziationen zum Ährenbefall konnten für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' für die Chromosomen 1BS, 2DS, 2AL, 3DL, 5BS, 5DL, 7AS und 7AL sowie für die Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90' für die Chromosomen 2AS/4D, 3DS, 5Bl, 5DL, 6A, 7AS und für die anonyme Kopplungsgruppe 4KG berechnet werden.

Die gefundenen QTL für Blattresistenz stimmen mit Ergebnissen von Arbeiten mit klassischen Methoden überein. Die Lage der QTL wurde mit denen von kartierten monogenen Resistenzen verglichen und eine mögliche Zuordnung der detektierten QTL auf Chromosom 1BS zu einem Cluster von monogenen Resistenzen gegen überwiegend Blattkrankheiten dargestellt. Die Einordnung der QTL auf 1BS in eine Resistenzgenfamilie, für die Ethylen als Signalmolekül fungiert, wurde diskutiert.

Für die Kreuzung 'Piko' × 'Euris' konnte als weiteres ein QTL für Halmlänge auf Chromosom 7A und ein QTL für Ährenschieben auf Chromosom 5DL detektiert werden. Für beide Kreuzungen konnten für mehrere Marker Assoziationen zur Halmlänge und zum Ährenschieben berechnet werden. Mögliche Zusammenhänge zwischen QTL für Resistenz und QTL bzw. bereits lokalisierten Genloci für Pflanzenmorphologie wurden diskutiert.

Die kartierten QTL für Blattresistenz sowie die berechneten Assoziationen einzelner Marker zur Ährenresistenz gegen *S. nodorum* bilden eine Grundlage für die Entwicklung von eng gekoppelten molekularen Markern. Diese molekularen Marker stellen ein effektives Instrument in einer markergestützten Selektion eines Weizenzüchtungsprogramms zur Verbesserung der quantitativen Resistenz gegen Blatt- und Spelzenbräune durch *Septoria nodorum*.

6 Literaturverzeichnis

- ANDERSON, J. A., OGIHARA, Y., SORRELLS, M. E. and TANKSLEY, S. D. (1992): Development of a chromosomal arm map for wheat based on RFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 83: 1035-1043
- ARBER, W., LINN, S. (1969): DNA modification and restriction. *Ann. Rev. Biochem.* 38: 467-500
- ARSENIUK, E., FRIED, P. M., WINZELER, H. and CZEMBOR, H. J. (1991): Comparison of resistance of triticale, wheat and spelt to *Septoria nodorum* blotch at the seedling and adult plant stages. *Euphytica* 55: 43-48
- ARUMUGANTHAN, E. and EARLE, E. D. (1991): Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol. Biol. Rep.* 9: 208-218
- AURIAU, P., RAPILLY, F. and CAUDERON, Y. (1988): Monosomic analysis of resistance to *Septoria nodorum* Berk. in soft wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell (Vill) M. K.). *Agronomie* 8: 71-77
- BACKES, G., GRANER, A., FOROUGHI-WEHR, B., FISCHBECK, G., WENZEL, G., JAHOR, A. (1995): Localization of quantitative trait loci (QTL) for agronomically important characters by the use of RFLP map in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor. Appl. Genet.* 90: 294-302
- BACKES, G., SCHWARZ, G., WENZEL, G., JAHOR, A. (1996): Comparison between QTL analysis of powdery mildew resistance in barley based on detached primary leaves and on field data. *Plant Breeding* 115: 419-421
- BAHLE, F. und LEIST, N. (1997): Einfluß konventioneller, integrierter und ökologischer Wirtschaftsweise sowie einzelner anbautechnischer Maßnahmen auf den Befall von Winterweizen mit samenbürtigen Pilzen. *Gesunde Pflanzen* 49 (7): 220-225
- BAI, G. H. and SHANER, G. (1994): Scab of wheat: Prospects for control. *Plant Dis.* 78: 760-766
- BAI, G.-H., KOLB, F. L., SHANER, G. and DOMIER, L. L. (1999): Amplified fragment length polymorphism markers linked to major quantitative trait locus controlling scab resistance in wheat. *Phytopathology* 89: 343-348
- BARBIER, M., DEVYS, M., BOUSQUET, J. F. AND KOLLMANN, A. (1994): Absolute stereochemistry of N-methoxyseptorinol isolated from the fungus *Septoria nodorum*. *Phytochemistry* 35: 955-957
- BEAVIS, W. D. (1998): QTL Analysis: power, precision and accuracy. In: Paterson, A. H. (eds.) *Molecular dissection of complex trait*. CRC Press, Boca Raton, Fla: 145-162
- BECKER, J. and HEUN, M. (1995): Barley microsatellites: allele variation and mapping. *Plant Mol. Biol.* 27: 835-845
- BECKMANN, J. S., SOLLER, M. (1986): Restriction Fragment Length Polymorphisms and genetic Improvement of agricultural Species. *Euphytica* 35: 111-124
- BERKELEY, M. J. and BROOME, C. E. (1855): XXXIII-Notices of British fungi. *Ann. Mag. Nat. Hist.* 5 (Ser. 2), 365-380
- BERNATZKY, R. and TANKSLEY, S. (1986): Towards a saturated linkage map in tomato based on isozymes and cDNA clones. *Genetics* 112: 887-898
- BOCKMANN, H. (1964): Qualität und Backfähigkeit von Weizen bei Befall mit *Septoria nodorum* Berk. und *Fusarium culmorum* Link.. *Nachr. Bl. dt. Pflanzenschutzd.* 16: 5-10
- BONIERBALE, M. W., PLAISTED, R. L., TANKSLEY, S. D. (1988): RFLP maps based on a common set of clones reveal modes of chromosomal evolution in potato and tomato. *Genetics* 120: 1095-1103
- BOSTWICK, D. E., OHM, H. W., SHANER, G. (1993): Inheritance of *Septoria* Glume Blotch Resistance in Wheat. *Crop Science* 33: 439-443
- BOUSQUET, J. F. and SKAJENNIKOFF, M. (1974): Isolement et mode d'action d'une phytotoxine produite en culture par *Septoria nodorum* Berk.. *Phytopath. Z.* 80: 355-360
- BRANCOURT-HULMEL, M. (1999): Crop diagnosis and probe genotypes for interpreting genotype environment interaction in winter wheat trials. *Theor. Appl. Genet.* 99: 1018-1030

- BRÖNNIMANN, A. (1968a): Zur Kenntnis von *Septoria nodorum* Berk., dem Erreger der Spelzenbräune und einer Blattdürre des Weizens. *Phytopath. Z.* 61: 101-146
- BRÖNNIMANN, A., FOSSATI, A., HÄNI, F. (1973): Ausbreitung von *Septoria nodorum* Berk. und Schädigung bei künstlich induzierten Halmlänge-Mutanten. *Z. Pflanzenzüchtung* 70:230-245
- BROWN, J. K. M., FOSTER, E. M., O'HARA, R. B. (1997): Adaptation of powdery mildew populations to cereal varieties in relation to durable and non-durable resistance. In: Crute, I. R., Holub, E. B., Burdon, J. J. (eds) *The gene-for-gene relationship in plant-parasite interaction*. CAB International, UK: 119-138
- BRUNO, H. H. and NELSON, L. R. (1990): Partial resistance to septoria glume blotch analysed in winter wheat seedlings. *Crop Sci.* 30: 54-59
- CADALEN, T., BOEUFF, C., BERNARD, S., BERNARD, M. (1997): An intervarietal molekular marker map in *Triticum aestivum* L. Em. Thell. and comparison with a map from a wide cross. *Theor. Appl. Genet.* 94: 367-377
- CADALEN, T., SOURDILLE, P., CHARMET, G., TIXIER, M. H., GAY, G., BOEUF, C., BERNARD, S., LEROY, P., BERNARD, M. (1998): Molecular markers linked to genes affecting plant height in wheat using a doubled-haploid population. *Theor. Appl. Genet.* 96: 933-940
- CAO, W., HUGHES, G. R., MA, H. and DONG (2001): Identification of molecular markers for resistance to *Septoria nodorum* blotch in durum wheat. *Theor. Appl. Genet.* 102: 551-554
- CHAE, Y.-A. and FISCHBECK, G. W. (1979): Genetic Analysis of Powdery Mildew Resistance in Wheat Cultivar 'Diplomat'. *Z. Pflanzenzüchtg.* 83 (3): 272-280
- CHANTRET, M., SOURDILLE, P., RÖDER, M., TAVAUD, M., BERNARD, M. and DOUSSINAULT, G. (2000): Location and mapping of the powdery mildew resistance gene *MIRE* and detection of a resistance QTL by bulked segregant analysis (BSA) with microsatellites in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 100: 1217-1224
- CHARCOSSET, A., GALLAIS, A. (1996): Estimation of the contribution of quantitative trait loci (QTL) to the variance of a quantitative trait by means of genetic markers. *Theor. Appl. Genet.* 93: 1193-1201
- CHARMET, G., ROBERT, N., PERRETANT, M. R., GAY, G., SOURDILLE, P., GROOS, C., BERNARD, S. BERNARD, M. (1999): Marker-assisted recurrent selection for cumulating additive and interactive QTLs in recombinant inbred lines. *Theor. Appl. Genet.* 99:1143-1148
- CHEN, W. P., CHEN, P. D., LIU, D. J., KYNAST, R., FRIEBE, B., VELAZHAHAN, R., MUTHUKRISHNAN, S., and GILL, B. S. (1999): Development of wheat scab symptoms is delayed in transgenic wheat plants that constitutively express a rice thaumatin-like protein gene. *Theor. Appl. Genet.* 99: 755-760
- CONDIT, R., HUBBELL, S. P. (1991): Abundance and DNA sequence of two-base repeat regions in tropical tree genomes. *Genome* 34: 66-71
- CUNFER, B.M. (1997): Taxonomy and nomenclature of *Septoria* and *Stagonospora* species on small grain cereals. *Plant Disease* 81:427-428
- D'OVIDIO, R. D., TANZARELLA, O. A. and PORCEDDU, E. (1990): Rapid and efficient detection of genetic polymorphism in wheat through amplification by polymerase chain reaction. *Plant. Mol. Biol.* 15: 169-171
- DAHLEEN, C. S., OKUBARA, P. A. and BLECHL, A. E. (2001): Transgenic approaches to combat *Fusarium* Head Blight in wheat and barley. *Crop. Sci.* 41: 628-637
- DEMEKE, T., HUCL, P., BÄGA, M., CASWELL, K., LEUNG, N., CHIBBAR, R. N. (1999): Transgene inheritance and silencing in hexaploid spring wheat. *Theor. Appl. Genet.* 99: 947-953
- DEVOS, K. M., GALE, M. D. (1992): The use of random amplified polymorphic DNA markers in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 84: 567-572
- DEVOS, K. M., GALE, M. D. (1993a): Extended genetic maps of the homoeologous group 3 chromosomes of wheat, rye and barley. *Theor. Appl. Genet.* 85: 649-652
- DEVOS, K. M., GALE, M. D. (1993b): The genetic maps of wheat and their potetial in plant breeding. *Outlook on Agriculture* 22: 93-99

- DEVYS, M., BARBIER, M., BOUSQUET, J. F. and KOLLMANN, A. (1994): Isolation of the (-)-(3R)-5-hydroxymellein from the fungus *Septoria nodorum*. *Phytochemistry* 35: 825-826
- ECKER, R., DINOR, A. and CAHANER, A. (1989): The inheritance of resistance to *Septoria glume blotch*: I. common bread wheat. *Plant Breeding* 102: 113-131
- ECKER, R., CAHANER, A. and DINOR, A. (1990a): The inheritance of resistance to *Septoria glume blotch*: II The wild wheat species *Aegilops speltoides*. *Plant Breeding* 104: 218-223
- ECKER, R., CAHANER, A. and DINOR, A. (1990b): The inheritance of resistance to *Septoria glume blotch*: III The wild wheat species *Aegilops longissima*. *Plant Breeding* 104: 224-230
- EDWARDS, M. D., HELENTJARIS, T., WRIGHT, S., STUBER, C. W. (1992): Molecular marker facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. 4. Analysis based on genome saturation with isoenzyme and restriction fragment length polymorphism markers. *Theor. Appl. Genet.* 83: 765-774
- ELLERBROOK, C. M., KORZUN, V. and WORLAND, A. J.: Using precise genetic stocks to investigate the control of *Stagonospora nodorum* resistance in wheat. In: Van Ginkel, M., McNab, A. and Krupinsky, J. M. (eds.) *Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals: A Compilation of Global Research. Proceedings of the Fifth International Septoria Workshop, September 20-24, 1999, CIMMYT, Mexico*
- ELLSWORTH, D. L., RITTENHOUSE, K. D., HONEYCUTT, R. L. (1993): Artfactual variation in randomly amplified polymorphic DNA banding patterns. *BioTechniques* 14: 214-21
- EYAL, Z. (1981): Integrated Control of *Septoria* Diseases of Wheat. *Plant Disease* 65: 763-768
- EYAL, Z. (1999): *Septoria* and *Stagonospora* Diseases of Cereals: A Comparative Perspective. In: Lucas, J.A., Bowyer, P., and Anderson, H.M. (1999): *Septoria on cereals: a study of pathosystems*, CABI Publishing, Oxon, Uk
- FALCONER, D. S. (1984): Einführung in die quantitative Genetik. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart
- FARIS, J. D., ANDERSON, J. A., FRANCL, L. J., JORDAJL, J. G. (1997): RFLP mapping of resistance to chlorosis induction by *Pyrenophora tritici-repentis* in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 94: 98-103
- FARIS, J. D., LADDOMADA, B., GILL, B. S. (1998): Molecular mapping of segregation distortion loci in *Aegilops tauschii*. *Genetics* 149: 319-327
- FRIED, P. M., MEISTER, E. (1987): Inheritance of Leaf and Head Resistance of Winter Wheat to *Septoria Nodorum* in a Diallel Cross. *Phytopathology* 77: 1371-1375
- FRECHA, J. H. (1973): The inheritance of resistance to *Septoria nodorum* in Wheat. *Bol. Inst. Fitotec. Castelar* 8: 29-30
- GALE, M. D., CHAO, S. and SHARP, P. J. (1990): RFLP mapping in wheat – progress and problems. In: *Gene manipulation in plant improvement II*, Gustafson, J. P. (Hrsg), Plenum Press, New York, London: 353-363
- GALE, M. D., ATKINSON, M. D., CHINOY, C. N., HARCOURT, R. L., JIU, J., LI, Q. Y., DEVOS, K. M. (1995): Genetic maps of hexaploid wheat. In: Li, Z. S. and Xin, Z. Y. (eds), *Proc 8th Int. Wheat Genet. Symp.*, pp 29-40. China Agricultural Sciencetech Press, Beijing
- GILL, K. S. and GILL, B. S. (1994): Mapping in realm of polyploidy: the wheat model. *BioEssays* 16: 841-846
- GIOVANNONI, J. J., WING, R. A., GANAL, M. W. and TANKSLEY, S. D. (1991): Isolation of molecular markers from specific chromosomal intervals using DNA pools from existing mapping populations. *Nucl. Acids Res.* 19: 6553-6558
- GOODWIN, S. B., HU, X., SHANER, G. (1998): An AFLP marker linked to a gene for resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat In: A. E. Slinkard (ed), *Proc. of the 9th Intern. Wheat Genet. Symp.* Vol. 3: 108-110, University Extension Press, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada
- GRANER, A., BAUER, E., KELLERMANN, A., KIRCHNER, S., MURAYA, J. K., JAHOOR, A., WENZEL, G. (1994): Progress of RFLP map construction in winter barley. *Barley Genet. Newsl.* 23: 53-59

- HAHLBROCK, K., SCHEEL, D., LOGEMANN, E., NURNBERGER, T., PARNISKE, M., REINOLD, S., SACKS, W. R., SCHMELZER E. (1995): Oligopeptide elicitor-mediated defense gene activation in cultured parsley cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 4150-4157
- HALEY, C. S. and KNOTT, S. A. (1992): A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. Heredity 69:315-324
- HARROWER, K. M. (1974): Survival and regeneration of *Leptoshaeria nodorum* in wheat debris. Transactions of The British Mycological Society 65: 7-18
- HARROWER, K. M. (1977): Specialization of *Leptoshaeria nodorum* to alternative gramineous hosts. Transactions of The British Mycological Society 68: 101-103
- HART, G. E., GALE, M. D. and MCINTOSH, R. A. (1993): Linkage Maps of *Triticum aestivum* and *T. tauschii*. In: Genetoc maps Book 6 Plants, O'Brian, S. J. O. (Hrsg), Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 6. Aufl.: 6204-6219
- HARTL, L., MORI, S. and SCHWEIZER, G. (1998): Identification of a diagnostic molecular marker for the powdery mildew resistance gene *Pm4b* based on fluorescently labelled AFLPs. In: A. E. Slinkard (ed), Proc. of the 9th Intern. Wheat Genet. Symp. Vol. 3: 111-113, University Extension Press, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada
- HARTL, L., MOHLER, V., ZELLER, F. J., HSAM, S. L. K. and SCHWEIZER, G. (1999): Identifikation of AFLP markers closely linked to the powdery mildew resistance genes *Pm1c* and *Pm4a* in common wheat. Genome 42: 322-329
- HELENA, W., and DZIEGLO, A. (1985): Monosomic location of genes that are resistant to *Septoria nodorum* (Berk.) in the summerwheat (*Triticum aestivum* L.) variety 'Sappo'. Hodowla Rosl. Aklim. Nasienn. 29: 11-20 [English Abstract]
- HELENTJARIS, T., SLOCUM, M., WRIGHT, S., SCHAEFER, A., NIENHUIS, J. (1986a): Construction of genetic linkage maps in maize and tomato using restriction fragment length polymorphism. Theor. Appl. Genet. 72: 761-769
- HERZ, M. P. (2000): Kartierung quantitativ vererbter Eigenschaften einschließlich Brauqualität und Resistenz gegen Krankheiten mit molekularen Markern in Gerste. Dissertation, TU München
- HEUN, M. (1992): Mapping quantitative powdery mildew resistance of barley using a restriction fragment length polymorphism map. Genome 35: 1019-1025
- HOFFMANN, G. M., SCHMUTTERER, H. (1983): Septoria Blatt- und Ährenkrankheiten in: Parasitäre Krankheiten und Schädlinge an landwirtschaftlichen Kulturpflanzen, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart
- HU XUEYI, BOSTWICK, D., SHARMA, H., OHM, H. AND SHANER, G. (1996): Chromosome and chromosomal arm locations of genes for resistance to septoria glume blotch in wheat cultivar Cotipora. Euphytica 91: 251-257
- HUANG, X., ZELLER, F. J., HSAM, S. L. K., WENZEL, G. and MOHLER, V. (2000): Chromosomal location of AFLP markers in common wheat utilizing nulli-tetrasomic stocks. Genome 43: 298-305
- HYNE, V., KEARSEY, M. J., MARTINEZ, O., GANG, W. and SNAPE, J. W. (1994): A partial genome assay for quantitative trait loci in wheat (*Triticum aestivum*) using different analytical techniques. Theor. Appl. Genet. 89: 735-741
- ITTU, M., SAULESCU, N. N., HAGIMA, I., ITTU, G. and MUSTATEA, P. (2000): Association of Fusarium Head Blight Resistance with Gliadin Loci in a Winter Wheat Cross. Crop Sci. 40: 62-67
- JANSEN, R. C., STAM, P. (1994): High resolution of quantitative traits into multiple loci interval mapping. Genetics 136:1447-1455
- JARNE, P., LAGODA, P. J. L. (1996): Microsatellites: from molecules to populations and back. TREE Vol. 11, No. 10, 424-429
- JAUHAR, P. P., CHIBBAR, R. N. (1999): Chromosome-mediated and direct gene transfers in wheat. Genome 42: 570-583
- JEFFREYS, A. J., WILSON, V., THEIN, S. L. (1985): Hypervariable „minisatellite“ regions in human DNA. Nature 314: 67-73

- JEGER, M. J., JONES, D. G. and GRIFFITHS, E. (1983): Components of partial resistance of wheat seedlings to *Septoria nodorum*. *Euphytica* 32: 575-584
- JOHANNSEN, W. (1913): Elemente der exakten Erblchkeitslehre. G. Fischer Verlag, Jena 2. Auflage
- JONSSON, J. O. (1991): Wheat breeding against facultative pathogens. *Sveriges utsadesforenings Tidskrift* 101: 89-93
- KAEPLER, S. M. (1997): Quantitative trait locus mapping using sets of near iso-genic lines: relative power comparison. *Theor. Appl. Genet.* 95: 384-392
- KEARSEY, M. J. (1997): The principles of QTL-analysis. *J. of Exp. Botany* 49: 1619-1623
- KEARSEY, M. J., HYNE, V. (1994): QTL analysis: a simple `marker-regression` approach. *Theor. Appl. Genet.* 89: 698-702
- KELLER, M., KARUTZ, CH., SCHMID, J. E., STAMP, P., WINZELER, M., KELLER, B., MESSMER, M. (1999b): Quantitative trait loci for lodging resistance in a segregating wheat x spelt population. *Theor. Appl. Genet.* 98: 1171-1182
- KELLER, M., KELLER, B., SCHACHERMAYR, G., WINZELER, M., SCHMID, J. E., STAMP, P., MESSMER, M. M. (1999a): Quantitative trait loci for resistance against powdery mildew in a segregating wheat x spelt population. *Theor. Appl. Genet.* 98: 903-912
- KELLER, S. M., MCDERMOTT, J. M., PETTWAY, R. E., WOLFE, M. S., and McDONALD, B. A. (1997): Gene flow and sexual reproduction in the wheat glume blotch pathogen *Phaeosphaeria nodorum* (Anamorph *Stagonospora nodorum*). *Phytopathology* 87: 353-358
- KICHERER, S., BACKES, G., WALTHER, H., JAHOR, A. (2000): QTLs for leaf rust resistance and agronomic traits in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor. Appl. Genet.* 100: 881-888
- KIETREIBER, M. (1961): Die Erkennung des Septoria-Befalls von Weizenkörnern bei der Saatgutprüfung. *Pflanzenschutz-Berichte* 26: 129-157
- KING, J. E., COOK, R. J., MELVILLE, S. C. (1983): A Review of Septoria diseases of wheat and barley. *Ann. Appl. Biol.* 103: 345-373
- KLEIJER, G., BRÖNNIMANN, A. and FOSSATI, A. (1977): Chromosomal location of a dominant gene for resistance at the seedlings stage to *Septoria nodorum* Berk. in the wheat variety `Atlas 66`. *Z. Pflanzenzüchtung* 78: 170-173
- Kleinhofs, A., Kilian, A., Saghai Maroof, M. A., Biyshev, R. M., Hayes, P., Chen, F. Q., Lapitan, N., Fenwick, A., Blake, T. K., Kanazin, V., Ananiev, E., Dahleen, L., Kudrna, D., Bollinger, J., Knapp, S. J., Liu, B., Sorrells, M., Heun, M., Franckowiak, J. D., Hoffmann, D., Skadsen, R. and Steffenson, B. J. (1993): A molecular, isozyme and morphological map of barley (*Hordeum vulgare*) genome. *Theor. Appl. Genet.* 86: 705-712
- KNOTT, D. R. (2001): Anomalous segregations at the *Sr6* locus for stem rust resistance in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 103: 171-177
- KORZUN, V., BÖRNER, A., WORLAND, A. J., LAW, C. N. and RÖDER, M. S. (1997b): Application of microsatellites markers to distinguish inter-varietal chromosome substitution lines of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica* 95: 149-155
- KORZUN, V., RÖDER, M. S., GANAL, M. W., WORLAND, A. J., LAW, C. N. (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
- KOSAMBI, D. D. (1944): The estimation of map distances from recombination values. *Ann. Eugen.* 12: 172-175
- KRÜGER, J. und HOFFMANN, G. M. (1978): Zur Überlebensdauer von *Septoria nodorum* und *S. avenae* f. *sp. triticea* an Sommerweizengut unter Einfluß der Lagertemperatur. *Z. f. Pflanzenkr. u. Pflanzensch.* 85(7): 413-418
- KRUPINSKY, J. M., CRADDOCK, SCHAREN, A. L. (1977): Septoria Resistance in Wheat. *Plant Dis. Repr.* 61: 632-636

- KRUPINSKY, J. M. (1994): Aggressiveness of *Stagonospora nodorum* isolates from alternative hosts after passage through wheat. In: Arseniuk, E., Goral, T. and Czembor, P. (eds) Proceedings of the 4th International Septoria of Cereals Workshop. Radzikow, Poland, pp. 123-126
- LANDE, R., THOMPSON, R. (1990): Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics* 124: 743-756
- LANDER, E. S., BOTSTEIN, D. (1989): Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121:1855-199
- LANDER, E. S., GREEN, P., ABRAHAMSON, J., BARLOW, A., DALY, M. J., LINCOLN, S. E., NEWBURG, L. (1987): MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1: 174-181
- LANDRIGE, P. and CHALMERS, K. (1998): Techniques for marker development. In: A. E. Slinkard (ed), Proc. of the 9th Intern. Wheat Genet. Symp. Vol. 1: 107-117, University Extension Press, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada
- LINCOLN, S. E., LANDER, E. S. (1992): Systematic detection of errors in genetic linkage data. *Genomics* 14: 604-610
- Li, W., Faris, J. D., Chittoor, J. M., Leach, J. E., Hulbert, S.H., Liu, D. J., Chen, P. D., Gill, B. S. (1999): Genomic mapping of defense response genes in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 98: 226-233
- LIU, Z. W., BIYASHEV, R. M., SAGHAI MAROOF, M. A. (1996): Development of simple sequence repeat DNA markers and their integration into a barley linkage map. *Theor. Appl. Genet.* 93: 869-876
- LYNCH, M., WALSH, B. (1998): Genetics and analysis of quantitative traits. Sinauer Associates, Sunderland, MA USA.
- MA, H. and HUGHES, G. R. (1993): Resistance to *Septoria nodorum* blotch in several wheat species. *Euphytica* 70: 151-157
- MA, H. and HUGHES, G. R. (1995): Genetic control and chromosomal location of *Triticum timopheevii*-derived resistance to *Septoria nodorum* blotch in durum wheat. *Genome* 38: 332-338
- MA, Z. Q., RÖDER, M. and SORRELLS, M. E. (1996): Frequencies and sequence characteristics of di-, tri- and tetra-nucleotide microsatellites in wheat. *Genome* 39: 123-130
- MARINO, C. L., NELSON, J. C., LU, Y. H., SORRELLS, M. E., LEROY, P., TULEEN, N.A., LOPES, C.R., HART, G. E. (1996) Molecular genetic maps of the group 6 chromosomes of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em. Tell.). *Genome* 39: 359-366
- MARTINEZ, O. and CURNOW, R. N. (1992): Estimating the locations and sizes of the effects of quantitative trait loci using flanking markers. *Theor. Appl. Genet.* 85: 480-488
- MCGUIRE, P. E., QUALSET, C. O. (1997): Progress in genome mapping of wheat and related species. Joint Proc. 5th and 6th Public Workshops Int. Triticeae Mapping Initiative, 1-3 Sept 1995, Norwich UK, and 30-31 Aug 1996, Sydney Australia. Report No 18
- MCINTOSH, R. A., HART, G. E., DEVOS, K. M., GALE, M. D., ROGERS, W. J. (1998): Catalogue of gene symbols for wheat. In: Slinkard, A. E. (ed) Proc. 9th Int. Wheat Genet. Symp. Saskatoon, Vol 5. University Extension Press, Saskatoon, Canada, pp 1-235
- MESSMER, M., KELLER, M., WINZELER, M., SCHACHERMAYR, G., FEUILLET, C., GALLEGU, F., WINZELER, H. and KELLER, B. (1997): Localisation of genes influencing quantitative resistance traits in a segregating wheat x spelt cross using molecular markers. In: Buerstmayr, H. and Ruckebauer, P.: Application of Marker Aided Selection in Cereal Breeding Programs; Book of Abstracts; EUCARPIA – Section Cereals Meeting, September 1997, Tulln, Austria
- MESSMER, M. M., KELLER, M., ZANETTI, S., KELLER, B. (1999): Genetic linkage map of a wheat x spelt cross. *Theor. Appl. Genet.* 98: 1163-1170
- MESSMER, M. M., SEYFARTH, R., KELLER, M., SCHACHERMAYR, G., WINZELER, M., ZANETTI, S., FEUILLET, C., KELLER, B. (2000): Genetic analysis of durable leaf rust resistance in winter wheat. *Theor. Appl. Genet.* 100:

419-431

- MICHELMORE, R. W., PARAN, J. and KESSELI, R. V. (1991): Identifikation of markers linked to disease resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 9828-9832
- MIELKE, H. (1980): Untersuchungen zur Anfälligkeit von Weizensorten für *Septoria nodorum* (Berk.) Berk. und *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc.. *Nachr. Bl. dt. Pflanzenschutzd.* 32: 65-67
- MILLER, J. C., TANKSLEY, S. D. (1990): Effect of different restriction enzymes, probe source, and probe length on detecting restriction fragment length polymorphism in tomato. *Theor. Appl. Genet.* 80: 385-389
- MITTERMEIER, L. und HOFFMANN, G. M. (1985): Zur Wirksamkeit von Fungizidapplikationen in verschiedenen Wachstumsstadien des Weizens auf *Septoria nodorum*. *Z. f. Pflanzenkr. u. Pflanzensch.* 92(1): 76-88
- MOHLER, V., JAHOOOR, A. (1996): Allel-specific amplification of polymorphic sites for the detection of powdery mildew resistance loci in cereals. *Theor. Appl. Genet.* 93: 1078-1082
- MONFORTE, A. J., ASINS, M. J., CARBONELL, E. A. (1996): Salt tolerance in *Lycopersion* species. IV. Efficiency of marker assisted selection for salt tolerance improvement. *Theor. Appl. Genet.* 93: 765-772
- MOORE, G., FOOTE, T., HELENTJARIS, T., DEVOS, K., KURATA, N., GALE, M. (1995): Was there a single ancestral cereal chromosome? *Trends Genet.* 11: 81-82
- MULLANEY, E. J., MARTIN, J. M. and SCHAREN, A. L. (1982): Generation mean analysis to identify and partition the components of genetic resistance to *Septoria nodorum* in wheat. *Euphytica* 31: 539-545
- MULLIS, K. B., FALOONA, F. A. (1987): Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase chain reaction. *Meth. Enzymol.* 155: 335-350
- NASS, H. G., JOHNSTON, H. W. (1985): Evaluation of methods and criteria for identifying resistance to *Septoria nodorum* in Spring Wheat. *Can. J. Plant Pathol.* 7: 91-97
- NELSON, J.C., SORRELLS, M. E., VAN DYNZE, A. E., LU, Y. H., ATKINSON, M., BERNARD, M., LEROY, P., FARIS, J. D., and ANDERSON, A. (1995): Molecular mapping of wheat: Major genes and rearrangements in homoeologous groups 4, 5, and 7. *Genetics* 141: 721-731
- NELSON, L. R. (1980): Inheritance of resistance to *Septoria* in wheat. *Crop Science* 20: 447-449
- NELSON, L. R. and GATES, C. E. (1982): Genetics of hostplant resistance of wheat to *Septoria nodorum*. *Crop Science* 22: 771-773
- NELSON, L. R. and MARSHALL, D. (1990): Breeding wheat for resistance to *Septoria nodorum* and *Septoria tritici*. *Advances in Agronomy* 44: 257-277
- NICHOLSON, P., REZANOOR, H. N., WORLAND, A. J. (1993): Chromosomal location of resistance to *Septoria nodorum* in a synthetic hexaploid wheat determined by the study of chromosomal substitution lines in 'Chinese Spring' wheat. *Plant Breeding* 110: 177-184
- OBST, A. (1977): Untersuchungen zur Epidemiologie, Schadwirkung und Prognose der Spelzenbräune (*Septoria nodorum*) des Weizens. *Bayerisches Landwirtschaftliches Jahrbuch* 54: 72-117
- OBST, A., PAUL, V. H. (1993): *Krankheiten und Schädlinge des Getreides*. Verlag Th. Mann Gelsenkirchen-Buer
- PAMMI, S., SCHERTZ, K., XU, G., HART, G., MULLETT, J. E. (1994): Random-amplified-polymorphic DNA markers in sorghum. *Theor. Appl. Genet.* 89: 80-88
- PANAUD, O., CHEN, X., MCCOUCH, S. R. (1996): Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol. Gen. Genet.* 252: 597-607
- PEREZ-ENRISCO, M. (1998): Sequential bulked typing: a rapid approach for detecting QTL's. *Theor. Appl. Genet.* 96: 551-557
- PESTSOVA, E., GANAL, M. W., RÖDER, M. S. (2000): Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome* 43: 689-697
- PLASCHKE, J., GANAL, M.W., RÖDER, M. S. (1995): Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.* 91: 1001-1007

- QI X, NIKS, R. E., STAM, P., LINDHOUT, P. (1998): Identification of QTLs for partial resistance to leaf rust (*Puccinia hordei*) in barley. *Theor. Appl. Genet.* 96: 1205-1215
- RAPILLY, F. (1988): Partial resistances of wheat to *Septoria nodorum* Berk. : From the mathematical simulation to the study of resistance chromosomes. *Z. f. Pflanzenkr. u. Pflanzensch.* 95(4): 419-427
- RIDE, J. P. (1975): Lignifikation in wounded wheat leaves in response to fungi and its possible role in resistance. *Physiological Plant Pathology* 5: 125-134
- Röder, M. S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M.-H., Leroy, P. and Ganal, W. (1998): A Microsatellite Map of Wheat. *Genetics* 149: 2007-2023
- RÖDER, M. S., PLASCHKE, J., KÖNIG, S. U. (1995): Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Mol. Gen. Genet.* 246: 327-333
- ROSIELLE, A. A. and BROWN, A. G. P. (1980): Selection for resistance to *Septoria nodorum* in Wheat. *Euphytica* 29: 337-346
- RÜEGGER, A., WINTER, W., BÄUZIGER, I. (1998): Gesundheitstest im Dienste der Biosaatgutproduktion. *Agrarforschung* 5: 121-124
- Ryals, J. A., Neuenschwander, U. H., Willis, M. G., Molina, A., Steiner, H.-Y., Hunt, M. D. (1996): Systemic acquired resistance: *Plant Cell* 8: 1809-1819
- SAGHAI MAROOF, M. A., BIYASHEV, R. M., YANG, G. P., ZHANG, Q., ALLARD, R. W. (1994): Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: Species, diversity, chromosomal locations and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 5466-5470
- SAGHAI MAROOF, M. A., YANG, G. P., BIYASHEV, R. M., MAUGHAN, P. J., (1996): Analysis of barley and rice genomes by comparative linkage mapping. *Theor. Appl. Genet.* 92: 541-551
- SANDHU, D., CHAMPOUX, J. A., BONDAREVA, S. N. and GILL, K. S. (2001): Identifikation and Physical Localisation of Useful Genes and Markers to a Major Gene-Rich Region on Wheat Group *1S* Chromosomes. *Genetics* 157: 1735-1747
- SAX, K. (1923): The assoziation of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. *Genetics* 8: 552-560
- SCHAREN, A. L., KRUPINSKY, J. M. (1978): Detection and Manipulation of Resistance to *Septoria nodorum* in wheat. *Phytopathology* 68: 245-248
- SCHLEGEL, R., VAHL, U. and MÜLLER, G. (1994): Compilation of wheat genotypes carrying rye chromosom arm 1R or 1RS. *Annual News Letter*, Vol. 40
- SCHÖN, C. C., LEE, M., MELCHINGER, A. E., GUTHRIE, W. D., WOODMAN, W. L. (1993): Mapping and characterization of quantitative trait loci affecting resistance against second-generation European corn borer in maize with the aid of RFLPs. *Heredity* 70: 648-659
- SCHWARZ, G. (2000): Physikalische Eingrenzung des Mla-Locus in Gerste. Dissertation, TU München
- SCHWARZ, G., HERZ, M., HUANG, X. Q., JAHOR, A., WENZEL, G., MOHLER, V. (2000): Application of fluorescence-based semi-automated AFLP analysis in barley and wheat. *Theor. Appl. Genet.* 100: 445-451
- SCHWARZ, G., MICHALEK, W., MOHLER, V., WENZEL, G., JAHOR, A. (1999a): Chromosome landing at the *Mla* Locus in barley (*Hordeum vulgare* L.) by means of high-resolution mapping with AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 98: 521-530
- SCHWARZ, G., HERZ, M., HUANG, X. Q., MICHALEK, W., JAHOR, A., WENZEL, G., MOHLER, V. (1999b): Application of fluorescence-based semi-automated AFLP analysis in barley and wheat. *Theor. Appl. Genet.* 100: 445-451
- SCOTT, P. R., BENEDIKZ, P. W. and COX, C. J. (1982): A genetic study of the relationship between height, time of ear emergence and resistance to *Septoria nodorum* in wheat. *Plant Pathology* 31: 45-60
- SNAPE, J. W. (1988): The detection and estimation of linkage using doubled haploid or single seed descent

- populations. *Theor. Appl. Genet.* 76: 125-128
- SORAUER, P. (1908): *Handbuch der Pflanzenkrankheiten*. Verlagsbuchhandlung Paul Parey, Berlin, Zweiter Band, 3. Auflage
- SOURDILLE, P., SNAPE, J. W., CADALEN, T., CHARMET, G., NAKATA, N., BERNARD, S. and BERNARD, M. (2000): Detection of QTLs for heading time and photoperiod response in wheat using a doubled-haploid population. *Genome* 43: 487-494
- SOUTHERN, E. M. (1975): Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.* 98: 503-517
- STROMBERG, L. D., DUDLEY, J. W., and RUFENER, G. K. (1994): Comparing conventional early generation selection with molecular marker assisted selection in maize. *Crop Sci.* 34:1221-1225
- TALBERT, L. E., BRUCKNER, P. L., SMITH, L. Y., SEARS, R., MARTIN, T. J. (1996): Development of PCR markers linked to resistance to wheat streak mosaic virus in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 93: 463-467
- TANKSLEY, S. D. (1993): Mapping Polygenes. *Annu. Rev. Genet.* 27: 205-233
- TARAMINO, G. and TINGEY, S. (1996): Simple sequence repeats for germplasm analysis and mapping in maize. *Genome* 39: 277-287
- TAVELLA, C. M. (1978): Date of Heading and Plant Height of Wheat Varieties, as related to Septoria Leaf Blotch Damage. *Euphytica* 27: 577-580
- THOMAS, C. M., VOS, P., ZABEAU, M., JONES, D. A., NORCOTT, K. A., CHADWICK, B. P., JONES, J. D. D. G. (1995): Identification of amplified restriction fragment length polymorphism (AFLP) markers tightly linked to the tomato *Cf-9* gene for resistance to *Cladosporium fulvum*. *Plant J.* 8: 785-794
- TINKER, N. A., MATHER, D. E. (1995): Methods for QTL analysis with progeny replicated in multiple environments. *JQTL* 1995-01: <http://probe.nalusda.gov:8000/otherdocs/jqtl>.
- TOOJINDA, T., BAIRD, E., BOOTH, A., HAYES, P., POWELL, W., THOMAS, W., VIVAR, H. and YOUNG, G. (2000): Introgression of quantitative trait loci (QTLs) determining stripe rust resistance in barley: An example of marker-assisted line development. *Theor. Appl. Genet.* 96: 123-131
- TOTTMAN, D. R., MAKEPEACE, R. J. (1979): An explanation of the decimal code for the growth stages of cereals, with illustrations. *Ann. appl. Biol.* 93: 221-234
- TOWNSEND, C. O. (1898): Some important wheat diseases. *Maryland Agric. Exp. Sta. Bull.* 58, 123-127
- TROTTE, M. and BENACEF, N. (1989): Relationship between the resistance to *Leptosphaeria nodorum* of wheat and the stage of development of the plant. In: Fried, P. M. (ed), *Proceedings of the 3rd international workshop on septoria diseases of cereals*, pp. 47-50. Swiss Federal Research Station for Agronomy, Zürich, Switzerland
- UTZ, H. F., MELCHINGER, A. E. (1994): Comparison of different approaches to interval mapping of quantitative trait loci. In: van Ooijen, J. W. and Jansen, J. (Hrsg.) *Biometrics in plant breeding: applications of molecular markers*. ss. 195-204. CPRO-DLO III, Wageningen, Netherlands
- UTZ, U. F., MELCHINGER, A. E. (1996): PLABQTL – A computer program to map QTL. Version 1.1. Institut für Pflanzenzüchtung und Populationsgenetik, Universität Hohenheim, Stuttgart, Germany
- Van Eck, H. J., Van der Voort, J. R., Draaistra, J., Zandvort, P., Vaneckevort, E., Segers, B., Peleman, J., Jacobsen, E., Helder, J., Bakker, J. (1995): The inheritance and chromosomal localization of AFLP markers in a non-inbred potato offspring. *Mol. Breed.* 1: 397-410
- VAN OOIJEN, J. W. (1992): Accuracy of mapping quantitative trait loci in autogamous species. *Theor. Appl. Genet.* 84: 803-811
- VENCES, F. J., VAQUERO, F., GARCIA, P. and BENITO, C. (1982): The Chromosomal Location of Factors Determining the Presence of Phenolic Compounds in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 61: 125-128
- VERREET, A.-J., HABERMAYER, J. (1995): *Angewandte Grundlagen des integrierten Pflanzenschutzes: Das IPS-Weizenmodell Bayern*. PR GmbH Werbeagentur & Verlag, Aachen

- VERREET, J. A., HOFFMANN, G. M. und AMBERGER, A. (1987a): Auswirkungen der Infektion durch *Septoria nodorum* in verschiedenen Entwicklungsstadien des Weizens auf die Produktionsleistung. Z. f. Pflanzenkr. u. Pflanzensch. 94, 283-300
- VERREET, J. A., HOFFMANN, G. M. (1993): Fungizide als Werkzeug des Integrierten Pflanzenschutzes im Winterweizenbau. Gesunde Pflanzen 45(4): 135-154
- VOLK, TH. und FRAHM, J. (1991): Strategien zur Bekämpfung von Pilzkrankheiten im Ackerbau. Gesunde Pflanzen 43, Heft 2: 39-44
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Horness, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M. (1995): AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research 23: 4407-4414
- WALAG, H. and DZIEGLO, A. (1987): Location of resistance genes to *Septoria nodorum* (Berk.) of summer wheat Weibull 15440 variety (*Triticum aestivum* L.). Hodowla Roslin Aklimatyzacja I Nasciennictwo 31: 1-6
- WALDRON, B. L., MORENO-SEVILLA, B., ANDERSON, J. A., STACK, R. W. and FROHBERG, R. C. (1999): RFLP Mapping of QTL for Fusarium Head Blight Resistance in Wheat. Crop Sci. 39: 805-811
- WALTHER, H., BÖHMER, M. (1992): Verbesserte quantitativ-genetische Selektion bei der Resistenzzüchtung von Weizen gegen *Septoria nodorum* (Berk.). Z. f. Pflanzenkr. u. Pflanzensch. 99 (4), 371-380
- WANG, G.-L., PATERSON, A. H. (1994): Assessment of DNA pooling strategies for mapping of QTLs. Theor. Appl. Genet. 88: 355-361
- WEBER, J. L., MAY, P. E. (1989): Abundant class of human DNA polymorphism which can be typed using polymerase chain reaction. Am. J. Hum. Genet. 44: 388-396
- WEIB, H. (1995): Entwicklung molekularer Marker und deren Anwendung in der Genomanalyse bei Weizen (*Triticum aestivum* L.). Dissertation, TU München
- WELLER, J. I., SOLLER, M., BRODY, T. (1988): Linkage analysis of quantitative traits in an interspecific cross of tomato (*Lycopersicon esculentum* × *Lycopersicon pimpinellifolium*) by means of genetic markers. Genetics 118:329-339
- WELSH, J., MCCLELLAND, M. (1990): Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Res. 19: 861-866
- WENDLAND, M. und HOFFMANN, G. M. (1988): Differenzierung der quantitativen Resistenz von Weizensorten und -linien gegen *Septoria nodorum* auf der Grundlage der postinfektionellen Ethylenbildung. Z. f. Pflanzenkr. u. Pflanzensch. 95(2): 113-123
- WENZEL, G. and FOROUGH-WEHR, B. (1990): Progeny tests of barley, wheat and potato regenerated from cell cultures after *in vitro* selection for disease resistance. Theor. Appl. Genet. 80: 359-365
- WICKI, W. (1997): Resistance to leaf and glume blotch (*Septoria nodorum* Berk.) and sensitivity *in vitro* to pathogen metabolites in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). Dissertation, ETH Zurich
- WICKI, W., MESSMER, M., WINZELER, STAMP, P., SCHMID, J. E. (1999b): *In vitro* screening for resistance against *Septoria nodorum* blotch in wheat. Theor. Appl. Genet. 99: 1273-1280
- WICKI, W., WINZELER, M., SCHMID, J. E., STAMP, P., MESSMER, M. (1999a): Inheritance of resistance to leaf and glume blotch caused *Septoria nodorum* Berk. in winter wheat. Theor. Appl. Genet. 99: 1265-1272
- WILKINSON, C. A., MURPHY, J. P.; and RUFTY, R. C. (1990): Diallel analysis of components of partial resistance to *Septoria nodorum* in wheat. Plant Dis. 74: 47-50
- WILLIAMS, J. R. and JONES, D. G. (1973): Epidemiology of *Septoria tritici* and *Septoria nodorum*. VII. Effects of the previous year's infection on disease development and yield in spring wheats. Transactions of the British Mycological Society 61: 33-39
- WILLIAMS, J. G. K., KUBELIK, A. R., LIVAK, K. J., RAFALSKI, J. A., TINGEY, S. V. (1990): DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucl. Acids Res. 18: 6531-6535
- WILLIAMS, J. G. K., HANAFEY, M. K., RAFALSKI, J. A., TINGEY, S. V. (1993): Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. Meth. Enzymol. 218: 704-740

- WU, K. S., TANKSLEY, S. D. (1993): Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellites in rice. *Mol. Gen. Genet.* 241: 225-235
- YOUNG, N. D. (1996): QTL Mapping and quantitative disease resistance in plants. *Ann. Rev. Phytopathol.* 34: 479-501
- YU, Y. G., SAGHAI MAROOF, M. A., BUSS, G. R., MAUHAN, P. J., TOLIN, S. A. (1994): RFLP and microsatellite mapping of gene for soybean mosaic virus resistance. *Phytopathology* 84: 60-64
- ZHAO, X., KOCHERT, G. (1993): Phylogenetic distribution and genetic mapping of a (GGC)_n microsatellite from rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Mol. Biol.* 21: 607-614
- ZHU, H., Gilchrist, L., Hayes, P., Kleinhofs, A., Kudrna, D., Liu, Z., Prom, L., Steffenson, B., Toojinda, T., Vivar, H. (1999): Does function follow form? Principal QTLs for *Fusarium* head blight (FHB) resistance are coincident with QTLs for inflorescence traits and plant height in a doubled-haploid population of barley. *Theor. Appl. Genet.* 99: 1221-1232
- ZINKERNAGEL, V., RIESS, F., WENDLAND, M. und BARTSCHERER, H.-C. (1988): Infektionsstrukturen von *Septoria nodorum* in Blättern anfälliger Weizensorten. *Z. f. Pflanzenkr. u. Pflanzensch.* 95(2): 169-175

7 Anhang

Tabelle 46: Allelverteilung der untersuchten informativen Marker der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'

Chromosom	Marker	'Apollo'	Heterozyg.	'G18/90'	χ^2
1BS	γ -Glia	20	47	25	0,59
	E38M52-152	66	(-)	25	0,30
	E42M52-194	23	(-)	61	0,25
	E42M52-190	20	(-)	65	0,10
	gwm11	21	40	34	5,93
1DS	E41M49-89	65	(-)	22	0,00
	gwm337	19	59	17	5,65
	gwm458	17	53	22	2,67
2BS	gwm257	14	37	44	23,59
	E35M45-231	15	(-)	74	3,15
	gm148	17	45	30	3,72
	E35M47-55	52	(-)	37	13,04
2BL	E41M54-398	37	(-)	41	31,61
	E41M58	6	(-)	84	16,13
	gwm120	14	36	44	24,30
2DL	gwm349	22	42	31	2,98
	E42M49-168	62	(-)	27	1,35
	gwm301	20	47	20	0,56
	E42M49-236	25	(-)	63	0,55
3AS	E38M57-66	56	(-)	32	70,06
	E42M49-116	66	(-)	23	0,03
	gwm5	15	53	27	4,31
3BS	E38M52-251	16	(-)	75	2,67
	E38M55-117	19	(-)	72	0,82
	E38M55-152	22	(-)	65	0,00
	E38M55-235	25	(-)	57	1,32
	gwm389	20	43	29	2,15
3DS	gwm161	22	33	33	8,25
	E37M58-210	66	(-)	25	0,30
	E41M58-51	57	(-)	33	6,53
	gwm2	20	48	20	0,73
	E35M54-76	18	(-)	72	1,20
	E37M58-208	20	(-)	71	0,44
	E33M57-59	37	(-)	55	11,36
4BL	gwm149	19	41	30	3,40
	E37M58-369	24	(-)	64	0,24
	gwm375	24	38	30	3,57
	gwm6	28	42	23	1,41
5AS	E37M58-442	18	(-)	70	0,97
	gwm205	13	26	56	58,39
	gwm154	23	29	38	16,38

Fortsetzung Allelverteilung der untersuchten informativen Marker der Kreuzung 'Apollo' × 'G18/90'

Chromosom	Marker	'Apollo'	Heterozyg.	'G18/90'	χ^2
6BL	gwm193	16	40	38	12,38
	E38M52-59	20	(-)	71	0,44
	AC22	18	(-)	74	1,45
	gwm219	22	46	27	0,62
6D	Whs28	10	28	52	52,04
	Whs116	16	46	28	3,24
7A	E41M58-406	54	(-)	36	58,80
	E38M57-43	43	(-)	43	28,67
	gwm260	28	48	18	2,17
7BS	gwm400	14	48	28	4,76
	gwm573	21	47	25	0,35
	gwm46	22	49	24	0,18
	E37M58-162	22	(-)	69	0,03
	E38M52-91	20	(-)	71	0,44
	gwm297	21	44	27	0,96
	E35M54-247	24	(-)	65	0,18

†: kartierte Position des SSR-Markers mit multiplen Allelen

‡: Position nach KORZUN et al. (1997)

*: Loci mit Nullallel und dominanter Auswertung

Anonyme Kopplungs-gruppe	Marker	'Apollo'	'G18/90'	χ^2
1KG	E42M49-311	46	40	37,22
	E42M52-191	55	29	73,40
	E41M54-308	61	16	120,73
	E38M52-317	57	30	76,17
	E33M57-457	61	29	87,84
	E33M57-245	61	29	87,84
	2KG	E42M52-277	66	20
E35M47-253		58	29	80,56
E42M52-115		60	29	85,40
E41M54-274		50	27	65,49
E41M54-322		49	28	61,30
3KG	E38M57-119	33	57	70,53
	E35M54-259	20	67	125,52
	E42M52-342	22	61	104,10
	E35M47-202	18	70	139,64
	E42M53-51	20	69	130,97
	E35M54-321	20	65	120,10
	E38M52-230	27	64	99,73

4KG	E35M47-179	29	61	87,84
	E42M53-282	26	62	96,97
	E37M58-241	33	58	72,82
	E38M57-470	36	53	72,82
	E35M54-183	34	53	59,87
	E35M54-279	37	52	53,04
<hr/>				
5KG	E42M49-123	10	79	192,99
	E42M49-232	12	77	179,63
	E42M49-337	15	74	160,48
	E33M57-164	15	77	169,04
<hr/>				
6KG	E41M49-108	12	77	179,63
	E41M62-116	10	81	198,86
	E37M58-335	14	77	172,49
	E38M58-165	16	70	145,88
	E36M54-282	18	72	145,20
	E42M49-239	19	70	136,63
	E42M49-74	18	71	142,42

LEBENS LAUF

Name: Gerold Fritz Hermann Stern
Anschrift: Marienstrasse 2
80331 München
Geburtsdatum: 05.02.1969
Familienstand: verheiratet mit Solveig Stern
Kinder: Tochter Hanna

Schulbildung:
1975 – 1979 Grundschole Hohes Feld Hameln
1979 – 1981 Orientierungsstufe Nord Hameln
1981 – 1988 Albert-Einstein-Gymnasium Hameln
Abschluss mit der Allgemeinen Hochschulreife

Wehrdienst:
Juli 1988 – August 1989 Stabskp Panzerbrigade 33 in Celle; ABC-Abwehr

Studium:
April 1990 – März 1995 Studium der Lebensmittelchemie an der Technischen Universität Braunschweig
Abschluß mit dem 1. Staatsexamen als Lebensmittelchemiker

Studiomsbezogene Ausbildung:
April 1995 – März 1996 Berufspraktisches Jahr an den Staatlichen Untersuchungsämtern in Braunschweig, Hannover und Lüneburg
Abschluß mit dem 2. Staatsexamen als Staatlich geprüfter Lebensmittelchemiker

Tätigkeiten:
August – September 1996 Wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Biosystemtechnik der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft in Braunschweig
Oktober 1996 – März 1997 Besuch der christlichen Schule von `Youth With A Mission` in Holmsted Manor in England
Januar 1998 – Oktober 1998 Wissenschaftlicher Angestellter bei der Bayerischen Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau
November 1998 – März 2001 Wissenschaftlicher Angestellter in der Arbeitsgruppe Molekulare Marker des Lehrstuhls für Pflanzenzüchtung der Technischen Universität München-Weihenstephan
Seit August 2001 Lebensmittelchemiker im Labor Dr. Graner & Partner GmbH in München