

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

Kartierung und Validierung von Resistenz-QTL gegen Ährenfusarium in Winterweizen

Jennifer Häberle

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

Doktors der Agrarwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. A. Gierl
Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. G. Wenzel
2. Univ.-Prof. Dr. R. Hückelhoven
3. apl. Prof. Dr. Th. Miedaner
(Universität Hohenheim/schriftliche Beurteilung)

Die Dissertation wurde am 23.08.2007 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 21.11.2007 angenommen.

Veröffentlichungen der Dissertation

Teilergebnisse dieser Arbeit wurden vorab veröffentlicht:

Publikation

Häberle J., Schmolke M., Schweizer G., Korzun V., Ebmeyer E., Zimmermann G., Hartl L., 2007. Effects of two major Fusarium head blight resistance QTL verified in a winter wheat backcross population. Eingereicht bei Crop Science, akzeptiert am 11. April 2007, Dokument CROP-2006-12-0800-ORA.R1.

Tagungsbeiträge

Häberle J., Schmolke M., Zimmermann G., Miedaner T., Korzun V., Ebmeyer E., Hartl L., 2004. Strategien zur Validierung von Resistenz-QTLs gegen Ährenfusariosen bei Weizen (Poster). 7. GPZ-Vortragstagung 3.-5. März 2004, Halle/Saale. Vorträge zur Pflanzenzüchtung 64: 9-11.

Häberle J., Schmolke M., Zimmermann G., Miedaner T., Korzun V., Ebmeyer E., Hartl L., 2006. Effekte von Resistenz-QTLs gegen Ährenfusariosen bei Winterweizen (Poster). 8. GPZ-Vortragstagung 14.-16. März 2006, Freising-Weihenstephan. Vorträge zur Pflanzenzüchtung 68: 9.

Häberle J., Zimmermann G., Hartl L., 2006. Züchterisches Potenzial von Resistenz-QTL gegen Ährenfusarium bei Weizen (Vortrag). Tagungsband der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, 21.-23. November 2006, Raumberg-Gumpenstein, S. 45-48.

Häberle J., Holzapfel J., Voß H.-H., Miedaner T., Schweizer G., Korzun V., Hartl L., 2007. Effects of QTL for resistance against Fusarium head blight in European winter wheat cultivars. ITMI International Conference, Tiberias, Israel 16.-20. April 2007, P3

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1.	Bedeutung und Evolution des Weizens	1
1.2.	Ährenfusariosen bei Weizen	2
1.3.	Ackerbauliche Maßnahmen und Pflanzenschutz gegen Ährenfusarium5	
1.4.	Resistenz und Resistenzzüchtung.....	6
1.5.	Molekulare Marker.....	9
1.6.	Prinzip von QTL-Analysen.....	12
1.7.	Kartierung und Validierung von Resistenz-QTL gegen Ährenfusariosen.....	14
1.8.	Problemstellungen dieser Arbeit	18
2.	Material und Methoden	20
2.1.	Pflanzenmaterial.....	20
2.1.1.	Kartierungspopulation Pelikan//Bussard/Ning8026.....	20
2.1.2.	Entwicklung und Selektion von QTL- Rückkreuzungslinien für die QTL-Validierung	20
2.2.	Feldversuche und Fusariuminokulation.....	22
2.3.	Molekularbiologische Arbeiten.....	24
2.3.1.	DNA-Isolation.....	24
2.3.2.	Genotypisierung der Pelikan//Bussard/Ning8026- Kartierungspopulation	25
2.3.3.	AFLP-Marker.....	25
2.3.4.	SSR-Marker	27
2.3.5.	STS-Marker.....	28
2.3.6.	Gelelektrophorese.....	28
2.3.7.	Anreicherung von QTL-Regionen mit molekularen Markern in der Dream/Lynx-Population	29
2.3.8.	Molekulare Marker für die Selektion der QTL-Rückkreuzungslinien	29
2.4.	Statistische Auswertung.....	30
2.4.1.	Analyse der Feldversuche: Pelikan//Bussard/Ning8026-Kartierungs- population	30
2.4.2.	Analyse der Feldversuche: QTL-Validierung in den Dream/Lynx- Rückkreuzungslinien	30
2.4.3.	Genetische Kartierung	31
2.4.4.	QTL-Analyse.....	32
2.5.	EST-Datenbankrecherche	33
3.	Ergebnisse.....	35

3.1.	Pelikan//Bussard/Ning8026-Kartierungspopulation.....	35
3.1.1.	Phänotypisierung der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population.....	35
3.1.2.	Genetische Karte der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population	38
3.1.3.	QTL-Analyse der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population	44
3.2.	Molekulargenetische Charakterisierung der QTL-Intervalle in der Dream/Lynx-Population	49
3.3.	QTL-Validierung in den Dream/Lynx-Rückkreuzungslinien.....	52
3.3.1.	QTL-Validierung – Versuchsteil I	52
3.3.2.	QTL-Validierung – Versuchsteil II	55
3.4.	ESTs für Pathogenabwehr in wichtigen QTL-Regionen	60
4.	Diskussion	64
4.1.	Pelikan//Bussard/Ning8026-Kartierungspopulation.....	64
4.1.1.	Phänotypische Daten der Population.....	64
4.1.2.	Genetische Kartierung der Population.....	65
4.1.3.	Kartierung von Resistenz-QTL gegen Ährenfusariosen und Überlappungen mit QTL für morphologische Merkmale.....	68
4.2.	Molekulargenetische Charakterisierung der QTL-Intervalle in der Dream/Lynx-Population und Markerentwicklung	72
4.3.	QTL-Verifizierung in den Dream/Lynx-Rückkreuzungslinien	74
4.4.	Züchterische Anwendbarkeit von Resistenz-QTL gegen Ährenfusarium	79
4.5.	Identifizierung, Klonierung und Funktionsaufklärung möglicher an der Fusariumresistenz beteiligter Gene	83
5.	Zusammenfassung.....	92
6.	Summary	94
7.	Literatur.....	96
8.	Anhang	113
8.1.	Abkürzungsverzeichnis.....	113
8.2.	Chemikalienverzeichnis.....	114

1. Einleitung

1.1. Bedeutung und Evolution des Weizens

Weizen (*Triticum aestivum* L.) stellt neben Mais (*Zea mays* L.) und Reis (*Oryza sativa* L.) die meistangebaute Nutzpflanze der Welt dar. Zu den größten Weizenproduzenten der Welt zählen China, Indien und die USA. In Europa gehören Frankreich und Deutschland zu den größten Weizenproduzenten (FAO, Faostat, 2006). Im Jahr 2005 wurde Weizen weltweit auf einer Fläche von 217 Millionen Hektar angebaut. Die gesamte Erntemenge betrug 618 Millionen Tonnen. Dabei lag der durchschnittliche Hektar-Ertrag weltweit bei 29 dt und in Deutschland bei 75 dt/ha (Besondere Erntermittlung 2005; <http://www.bmelv-statistik.de>).

Der heutige Kulturweizen (*Triticum aestivum* L.) ist hexaploid (Genom AABBDD, $2n = 6x = 42$ Chromosomen). Sein Genom setzt sich aus drei verschiedenen Wildweizenformen zusammen, deren Genome zueinander homöolog sind. Durch zufällige Kreuzung von wildem Einkorn (*Triticum urartu*, Genom AA, $2n = 14$ Chromosomen) mit wildem Spelzweizen (*Aegilops speltoides*, Genom BB, $2n = 14$ Chromosomen) entstand zunächst Wildemmer (*Triticum turgidum*, Genom AABB, $2n = 4x = 28$ Chromosomen). Die Herkunft des B-Genoms war lange Zeit nicht eindeutig geklärt. Petersen et al. (2006) identifizierten jedoch kürzlich *Aegilops speltoides* mit Hilfe molekularbiologischer Methoden eindeutig als Donor des B Genoms. Durch Zusammenlagerung des tetraploiden Weizens mit *Aegilops tauschii* (Genom DD, $2n = 14$ Chromosomen) entstanden vor ca. 10000 Jahren hexaploide *Triticum*-Formen.

Obwohl der Weizenertrag pro Hektar durch gezielte Züchtung in den vergangenen Jahren deutlich angestiegen ist, entstehen aufgrund von Schadorganismen immer noch beträchtliche Ertragsverluste. Ährenfusariosen zählen neben Blattseptoria (*Septoria tritici*), Spelzenbräune (*Septoria nodorum*) und den Braun- und Gelbrosten (*Puccinia recondita* und *Puccinia striiformis*) zu den bedeutendsten pilzlichen Schaderregern in den gemäßigten Klimaten Europas.

1.2. Ährenfusariosen bei Weizen

Die durch verschiedene *Fusarium*-Arten hervorgerufene partielle Weiß- oder Taubäh- rigkeit ist ein ernstes Problem in vielen Weizenanbaugebieten weltweit. Seit Beginn der 90-er Jahre konnte ein starker Anstieg der Krankheit verzeichnet werden, der zu beträchtlichen wirtschaftlichen Schäden geführt hat. Insbesondere im Osten und mitt- leren Westen der USA, in Kanada, China, Japan, in einigen Staaten Südamerikas und in Teilen Europas einschließlich Deutschland traten in den vergangenen Jahren immer wieder *Fusarium*-Epidemien auf. Die zunehmende Bedeutung der Ährenfusariosen steht eng in Zusammenhang mit einigen ackerbaulichen Entwicklungen, die die Krankheit fördern. Zu nennen sind hier beispielsweise der zunehmende Anbau kurz- strohiger Sorten, die reduzierte Bodenbearbeitung, verstärkter Maisanbau und enge Mais–Weizen Fruchtfolgen. Die Krankheit führt zu einer deutlichen Reduktion von Kornertrag und -qualität. Das größte Problem ist allerdings die mögliche Kontamina- tion der Körner von infizierten Pflanzen mit verschiedenen Mykotoxinen.

Hervorgerufen wird die Krankheit hauptsächlich durch fünf Arten: *F. culmorum*, *F. graminearum* (*G. zaeae*), *Fusarium avenaceum* (*Gibberella avenacea*), *F. poae* und *Microdochium nivale* (*Monographella nivalis*) (Parry et al., 1995). Weltweit betrach- tet haben *F. culmorum* und *F. graminearum* die größte Bedeutung, wobei *F. grami- nearum* in kontinentalen Gebieten dominiert, wie zum Beispiel in Teilen der USA und Kanada, während *F. culmorum* eher in den kühleren maritimen Gebieten Nordeuropas verbreitet ist (Parry et al., 1995; Bottalico und Perrone, 2002). In Bayern gewinnt *F. graminearum* aufgrund des verstärkten Maisanbaus und einer oftmals engen Mais– Weizen Fruchtfolge zunehmend an Bedeutung. Die verschiedenen *Fusarium*-Arten sind nicht wirtsspezifisch, d. h. sie befallen Weizen, Mais und andere Getreidearten gleichermaßen ohne eine Spezialisierung für einen bestimmten Wirt zu zeigen (van Eeuwijk et al., 1995).

F. culmorum und *F. graminearum* können aufgrund ihrer saprophytischen Natur un- günstige Bedingungen überbrücken, indem sie auf Ernteresten wie zum Beispiel Maisstoppeln überdauern. Beide Pilze können sich asexuell durch Konidien vermeh- ren, welche sich hauptsächlich bei Regen ausbreiten. Durch spritzende Regentropfen gelangen die Konidien dabei von einer Blattetage zur nächsthöheren. Es wird berich-

tet, dass sich Konidien von *F. culmorum* ca. 100 cm in horizontaler und 60 cm in vertikaler Richtung ausbreiten können (Jenkinson und Parry, 1994).

F. culmorum verbreitet sich rein asexuell während von *F. graminearum* auch eine Hauptfruchtform, *Gibberella zeae*, bekannt ist. Diese bildet auf abgestorbenem Pflanzenmaterial Perithezien, aus denen Ascosporen ausgeschleudert werden können. Die Ausbreitung der Ascosporen erfolgt vorwiegend durch den Wind, wobei sie bis zu 30 m weit verfrachtet werden können. Die Verbreitung über Ascosporen stellt die Hauptausbreitungsart von *F. graminearum* dar.

Die Infektion der Ähre erfolgt hauptsächlich während der Blüte bei ausreichend Feuchtigkeit und einer Temperatur von mindestens 15 °C und höchstens 32 °C (Sutton, 1982). Erfolgt die Infektion zu Beginn der Blüte kommt es zu einer starken Kümmerkornbildung, während sich die Körner bei einer Infektion zu Blühende oder zu Beginn der Milchreife weitestgehend normal entwickeln. Dennoch können diese Körner in der äußeren Samenschale vom Pilz durchsetzt sein und Mykotoxine enthalten. Bereits wenige Stunden nach der Infektion keimen die Makrokonidien auf der Wirtsoberfläche aus. Die Hyphen wandern entlang des Exokarps zwischen Deck- und Hüllspelze und gelangen in das sich entwickelnde Korn (Jansen et al., 2005). Nachfolgend werden die Schichten der Fruchtschale und schließlich das Endosperm zerstört. Die Pilzhyphe breiten sich inter- und intrazellulär aus, indem sie zellwandabbauende Enzyme wie Cellulasen, Xylanasen und Pektinasen abgeben (Kang und Buchenauer, 2002). Bei Abwesenheit von Trichothecen wird das weitere Wachstum des Pilzes verhindert, indem Zellwandverdickungen an der Ährenspindel gebildet werden (Jansen et al., 2005). Sie fungieren somit als Virulenzfaktoren, die die Ausbreitung der Krankheit bedingen. Auf die Funktion der Trichothecene als Virulenzfaktoren bei Ährenfusariosen im Weizen wurde bereits in früheren Studien hingewiesen (Proctor et al., 1995; Desjardins et al., 1996). Dies gilt jedoch nicht notwendigerweise für alle Wirtspflanzen (Langevin et al., 2004). Je nach Widerstand der Sorte bewegt sich der Erreger weiter basipetal in den Leitbahnen der Spindel. Durch ein massives Myzelgeflecht wird der Stofftransport in den höher gelegenen Teil der Ähre unterbrochen, was zu Kümmerkörnern oder völlig tauben Ährenteil führt. Die Körner unterhalb der Infektionsstelle entwickeln sich normal, enthalten aufgrund des *Fusarium*-Besatzes jedoch unterschiedliche Mengen an Mykotoxinen.

Durch reduzierte Kornzahlen pro Ähre sowie einem verminderten Tausendkorngewicht kann es zu Ertragsverlusten bis zu 70% kommen (Martin und Johnston, 1982). Der Befall mit *Fusarium*-Arten kann außerdem die Kornqualität negativ beeinflussen. So wird beispielsweise beschrieben, dass *Fusarium*-kontaminiertes Getreide unzufriedenstellende Backeigenschaften aufweist (Dexter et al., 1997). Pilzliche Proteasen hydrolysieren Endospermproteine während der Teigbearbeitung und führen zu geringerem Backvolumen (Nightingale et al., 1999).

Das Hauptproblem besteht allerdings darin, dass die verschiedenen *Fusarium*-Arten eine Reihe von toxischen Metaboliten bilden können. Die bedeutendsten Mykotoxine in Getreide gehören im wesentlichen zu drei Hauptgruppen: die Gruppe der Trichothecene, der Zearalenone und der Fumonisine.

Die Gruppe der Trichothecene werden nach ihrer chemischen Struktur in vier Untergruppen eingeteilt, von denen Typ A und Typ B am bedeutendsten sind. Zu Typ A zählen Toxine wie T-2 und HT-2. Die von *F. poae* und *F. sporotrichoides* gebildeten Typ A-Toxine waren verantwortlich, dass Mitte des letzten Jahrhunderts in Russland Tausende an der sogenannten Alimentären Toxischen Aleukie (ATA) erkrankten. Vertreter der Typ B-Toxine sind Deoxynivalenol (DON), seine acetylierten Derivate 3- bzw. 15- Acetyldeoxynivalenol (3-ADON bzw. 15-ADON), Nivalenol (NIV) und Fusarenon-X (Fus-X). Typ B-Toxine werden überwiegend von *F. culmorum* und *F. graminearum* gebildet, wobei NIV und Fus-X auch von *F. poae* und *F. crookwellense* synthetisiert werden können. *F. culmorum*- und *F. graminearum*-Isolate können in zwei Chemotypen unterteilt werden. Der aggressivere Chemotyp I kommt überwiegend in Europa vor und ist hauptsächlich DON-Produzent, während der NIV-bildende Chemotyp II vorwiegend in Neuseeland, Korea und Japan dominiert. Bei der Verwendung von kontaminiertem Getreide in der menschlichen bzw. tierischen Ernährung kann es zu gesundheitlichen Beeinträchtigungen kommen. So sind beim Menschen beispielsweise Erbrechen, Durchfall und Hautreaktionen die häufigsten Beschwerden nach Trichothecenaufnahme durch die Nahrung. Sie hemmen außerdem die Proteinbiosynthese (McLaughlin et al., 1977) und haben eine suppressive Wirkung auf das Immunsystem. In der Tierernährung ist die Empfindlichkeit gegenüber Trichothecenen stark abhängig von der jeweiligen Tierart. Während Monogastrier, insbesondere Schweine, sehr sensibel gegenüber den genannten Toxinen sind, zeigen

Wiederkäuer und Geflügel eine höhere Toleranz gegenüber Trichothecenen (Trenholm et al., 1984).

Das östrogen wirksame Zearalenon (ZEA) wird von *F. culmorum*, *F. graminearum* und *F. crookwellense* synthetisiert. Es führt vor allem bei Schweinen zu Fruchtbarkeitsstörungen, Hyperöstrogenismus und Totgeburten (Zinedine et al., 2006).

Fumonisine sind weltweit verbreitet und werden hauptsächlich von *F. verticilloides* und *F. proliferatum* auf Mais gebildet. Fumonisine sind sehr toxisch und werden beispielsweise für eine Schweinekrankheit verantwortlich gemacht, die zu Lungenwasser führt.

Um die Lebensmittelsicherheit zu gewährleisten, wurden zum 01. Juli 2006 EU-weite Grenzwerte für Fusarientoxine (<http://www.mykotoxin.de/Dokumente/4012006.pdf>), wie beispielsweise für DON, eingeführt:

- Andere unverarbeitete Getreide als Hartweizen, Hafer und Mais: 1250 µg/kg
- Unverarbeiteter Hartweizen und Hafer, (Mais): 1750 µg/kg
- Getreidemehl einschließlich Maismehl, Maisgrits und Maisschrot: 750 µg/kg
- Brot, feine Backwaren, Kekse, Getreide-Snacks und Frühstückscerealien: 500 µg/kg
- Teigwaren (trocken): 750 µg/kg
- Getreidebeikost und andere Beikost für Säuglinge und Kleinkinder: 200 µg/kg

Kritisch zu sehen ist allerdings die Tatsache, dass es bisher keine kostengünstigen und schnellen Analysemethoden gibt. Auch auf welche Art und Weise die Probennahme erfolgen soll, bleibt weiterhin unklar. Die Toxinverteilung im Feld ist sehr inhomogen, so dass sehr viele Proben für eine genaue Aussage nötig wären, was sich jedoch auf Erzeugerebene während der Ernte nicht realisieren lässt.

1.3. Ackerbauliche Maßnahmen und Pflanzenschutz gegen

Ährenfusarium

Um das Risiko von Ährenfusarium im Weizen zu mindern, werden zum einen verschiedene pflanzenbauliche Maßnahmen empfohlen (Parry et al., 1995; Dill-Macky und Jones, 2000; Pirgozliev et al., 2003). So sollten beispielsweise keine engen Mais-

Weizen Fruchtfolgen gewählt werden, da Mais ebenfalls dem Wirkkreis von verschiedenen *Fusarium*-Arten angehört. Außerdem sind *F. culmorum* und *F. graminearum* in der Lage auf Ernterückständen, insbesondere Maisstoppeln, ungünstige Bedingungen zu überdauern. Eine nicht wendende Bodenbearbeitung ohne Pflug sollte daher nach Möglichkeit vermieden werden, da diese zu einer Anreicherung von Inokulum führt und dadurch die Wahrscheinlichkeit einer Infektion erhöht wird. Maisrückstände sollten zerkleinert werden und zumindest in obere Bodenschichten eingemischt werden, um eine schnelle Rotte zu gewährleisten. Des Weiteren sollte die Stickstoffdüngung angepasst und der Bestand nicht zu üppig sein, um eine gleichmäßige und rechtzeitige Abreife zu gewährleisten.

Der Einsatz von Fungiziden zur Bekämpfung von Ährenfusariosen gestaltet sich oft schwierig. Das Zeitfenster für einen wirkungsvollen Fungizideinsatz beträgt nur wenige Tage nach optimalen Infektionsbedingungen (Regen bzw. hohe Feuchtigkeit) während der Blüte. Aufgrund der Abhängigkeit des Infektionsdrucks von der Witterung sind Prognosen über eine termingerechte Fungizid-Applikation meist sehr schwierig. Außerdem ist es in der Praxis oft aus technischen Problemen nicht immer machbar, die Fungizide innerhalb dieses engen Zeitfensters zu applizieren. Wirkstoffe, die bei optimalem Anwendungstermin gegen Ährenfusarium einen Wirkungsgrad zwischen 50% bis 70% aufweisen sind im Einzelnen: Tebuconazole, Spiroxamine und Metconazole. Fungizide mit dem Wirkstoff Strobilurin können sogar zu erhöhten DON-Gehalten führen (Obst und Gammel, 2000; Simpson et al., 2001). Daher sollte bei hohem Fusariumrisiko auf den Einsatz von Strobilurinen verzichtet werden.

1.4. Resistenz und Resistenzzüchtung

Die vielversprechendste Strategie in der Kontrolle von Ährenfusariosen ist die Züchtung und der Anbau von möglichst resistenten Sorten. Bei Weizen werden fünf Resistenzkomponenten beschrieben, die auf aktiven Resistenzmechanismen beruhen:

- Typ I: Resistenz gegenüber dem Eindringen bzw. der Infektion durch den Schaderreger (Schroeder und Christensen, 1963)

- Typ II: Resistenz gegenüber der Ausbreitung des Pathogens im Pflanzengewebe (Schroeder und Christensen, 1963)
- Typ III: Resistenz gegenüber einer Infektion der Körner (Mesterházy, 1995)
- Typ IV: Toleranzerscheinungen gegenüber Ährenfusariosen (Mesterházy, 1995)
- Typ V: Resistenz gegenüber Toxinen beispielsweise durch Toxinabbau (Miller, 1985)

Neben den aktiven Resistenzmechanismen werden auch einige passive Resistenzmechanismen beschrieben. So hat beispielsweise die Wuchshöhe Einfluss auf die natürliche sowie die künstliche Infektion, wobei das Befallsrisiko mit zunehmender Halmhöhe abnimmt (Mesterházy, 1995; Hilton et al., 1999). Die Distanz zwischen den Blattetagen beeinflusst die Ausbreitung des Inokulums durch spritzende Regentropfen (Zinkernagel et al., 1997). Auch die Begrannung, die Ährendichte sowie die Bestandesdichte werden zu den passiven Resistenzmechanismen gezählt. Kurze begrannete Sorten mit einer hohen Ähren- und Bestandesdichte sind dabei einem hohen Befallsrisiko ausgesetzt.

Durch die quantitative Vererbung (Snijders, 1990a) und die vor allem unter natürlichen Bedingungen vorherrschenden hohen Genotyp x Umwelt Interaktionen, gestaltet sich die Züchtung resistenter Sorten jedoch schwierig. Es existiert zwar eine große Variation für das Merkmal, jedoch sind bisher keine Genotypen bekannt, die völlig befallsfrei sind. Die genetischen Effekte sind überwiegend additiv, während Dominanz- und epistatische Effekte lediglich von untergeordneter Bedeutung sind (Snijders, 1990a). Zur Anhebung des Resistenzniveaus besteht zum einen die Möglichkeit innerhalb bestehender adaptierter Zuchtpopulationen resistenterer Genotypen als Kreuzungspartner zu verwenden oder aber exotische Resistenzträger einzukreuzen. Es existieren unterschiedliche Pools von Resistenzträgern: Sommerweizen aus China und Japan, Sommerweizen aus Brasilien und Winterweizen aus Osteuropa. Das Einkreuzen wenig adaptierter Resistenzquellen ist oft sehr arbeits- und zeitaufwendig. Die Schwierigkeit besteht darin, Nachkommen zu selektieren, die neben der Resistenz auch akzeptable agronomische Eigenschaften aufweisen. Eine weitere Möglichkeit besteht in der rekurrenten Selektion. Dabei wird in mehreren Zyklen auf eine hohe Resistenz selektiert und die besten Linien wieder miteinander kombiniert. Dadurch ist eine beträchtliche Resistenzsteigerung möglich (Snijders, 1990b; Jiang et al., 1994).

Ferner kann das Kreuzen zweier mäßig resistenter Eltern zu positiver Transgression führen, d. h. einzelne Nachkommen zeigen ein geringeres Befallsniveau als einer der beiden Eltern (Snijders, 1990b; Liu et al., 1991). Da eine enge Beziehung zwischen der Resistenz und dem DON-Gehalt besteht (Mesterházy et al., 1999; Hartl et al., 2001; Mesterházy, 2002; Miedaner et al., 2004; Wilde und Miedaner, 2006), zeichnen sich Genotypen mit geringen phänotypischen Krankheitssymptomen in der Regel auch durch niedrige DON-Gehalte aus. Eine indirekte Selektion auf geringe DON-Gehalte ist somit möglich und man kann zumeist auf die kostspieligen und zeitaufwendigen DON-Analysen verzichten.

Um zuverlässige Aussagen bezüglich der Resistenz machen zu können, ist eine künstliche Infektion in möglichst vielen Umwelten und in Generationen ab der F₄ nötig. Die künstliche Infektion kann zum einen durch eine Sprühhinokulation (Abbildung 1) zur Blüte hervorgerufen werden. Bei dieser Methode wird oft nicht zwischen Typ I- und Typ II-Resistenz unterschieden werden, so dass bei der visuellen Evaluierung der Genotypen eine kombinierte Ausprägung beider Resistenztypen erfasst wird. Um Unterschiede der einzelnen Prüfglieder bezüglich des Blühzeitpunktes auszugleichen, sollte diese mehrmalig durchgeführt werden. Um ausschließlich die Ausbreitungsresistenz (Typ II) im Pflanzengewebe zu erfassen, wird die Einzelährcheninokulation (Abbildung 2) angewandt. Ein weiteres Verfahren zur Erfassung der Resistenzeigenschaften ist die Maisstoppelmethode. Dabei werden mit *Fusarium* spp. natürlicherweise infizierte Maispflanzenreste zwischen die Reihen der zu prüfenden Genotypen gestreut. Diese Methode wird routinemäßig in Leistungsprüfungen vom Bundessortenamt angewandt, um Sorten bezüglich ihrer Anfälligkeit für Ährenfusarium beschreiben zu können. Hierbei werden natürliche Inokulationsbedingungen mit einem erhöhten Infektionspotenzial kombiniert. Diese Feldprüfungen werden in der Regel an sechs Standorten durchgeführt.



Abbildung 1: Sprühinokulation bei Weizen. Foto: Holzapfel 2005, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft.



Abbildung 2: Einzelährcheninokulation bei Weizen. Quelle: www.biologie.uni-hamburg.de.

Da die Fusariumresistenz im Weizen horizontal und nicht wirtsspezifisch ist, scheint die Verwendung von einem aggressiven Isolat einer wichtigen Art (*F. culmorum* oder *F. graminearum*) bzw. einer Mischung aus wenigen Isolaten mit bekannter Aggressivität für Feldprüfungen ausreichend zu sein. Dadurch ist es möglich, Genotypen zu selektieren, die eine Resistenz gegenüber allen Arten aufweisen (Atanasoff et al., 1994; Mesterházy et al., 2005).

1.5. Molekulare Marker

Molekulare Marker kommen bei der Erstellung von genetischen Karten zum Einsatz. Hierbei besteht der erste Schritt zunächst in der Erstellung einer spaltenden Population. Diese Kartierungspopulation wird anschließend mittels molekularer Marker genotypisiert, um Rekombinationshäufigkeiten festzustellen, welche Grundlage für die Berechnung des genetischen Abstands zwischen den einzelnen Markern sind. Der genetische Abstand wird in centi Morgan (cM) angegeben. Die Berechnung genetischer Karten erfolgt meist mit Hilfe von Computerprogrammen wie beispielsweise Mapmaker (Lander et al., 1987) oder Joinmap (van Oorijen und Voorrips, 2001). Diese Programme testen die Wahrscheinlichkeit einer freien Spaltung bzw. einer Kopplung gegen einen festgelegten Schwellenwert (Logarithm of Odds; LOD). Kartierungsfunktionen rechnen dabei die Rekombinationsfrequenzen in cM um. Die gebräuchlichsten Funktionen sind die von Haldane (1919) und Kosambi (1944).

Bei der Anwendung verschiedener Markersysteme kann es jedoch insbesondere beim Weizen zu Problemen kommen. Dies liegt an der enormen Größe des Weizengenoms (16×10^9 Basenpaare) verglichen mit Gerste ($5,4 \times 10^9$ Basenpaare) oder Reis (4×10^8 Basenpaare), der Homöologie der A-, B- und D-Genome und dem oftmals niedrigen Polymorphiegrad im Vergleich zu anderen Kulturarten (Langridge et al., 2001). Seit der Entwicklung PCR-gestützter Markertechniken gelang jedoch auch im Weizen die Entwicklung von DNA-Markern, die einen hohen Polymorphiegrad aufweisen, reproduzierbar und leicht zu handhaben sind. Seitdem wurden bereits sehr viele genetische Karten des Weizens erstellt. Zu nennen ist hier beispielsweise die auf der Synthetik (W7984)/Opata-Population basierende genetische Karte, die ständig um weitere Marker erweitert wird (Röder et al., 1998; Gupta et al., 2002; Song et al., 2005). Eine weitere Karte basiert auf einer Arina/Forno-Population und umfasst insgesamt ca. 3000 cM (Paillard et al., 2003). Somers et al. (2004) entwickelten eine Konsensuskarte, die Daten von vier Kartierungsstudien beinhaltet und eine Länge von insgesamt ca. 2500 cM aufweist. Eine Übersicht aller genannten Karten sowie eine Übersicht über weitere Kartierungsstudien ist in der öffentlich zugänglichen GrainGenes Datenbank zu finden (<http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml>).

Der Einsatz von molekularen Markern gewinnt aber auch aufgrund der genannten Schwierigkeiten bei der Züchtung resistenter Sorten, zunehmend an Bedeutung. Mit Hilfe molekulargenetischer Analysen resistenter Genotypen werden im Weizen Genombereiche identifiziert und lokalisiert, die an der Ausprägung der Fusariumresistenz beteiligt sind. Molekulare Marker, die eng an diese Bereiche gekoppelt sind, ermöglichen in markergestützten Züchtungsprogrammen die Selektion gesunder Genotypen, insbesondere in frühen Generationen, sowie die Effektivität von Züchtungsprogrammen zu erhöhen. Da die Selektion auf DNA-Ebene unabhängig von Umwelteinflüssen ist, kann die Auslese bereits zu einem sehr frühen Zeitpunkt, beispielsweise am Keimling, erfolgen, und es ist nicht notwendig, den Zeitpunkt der Merkmalsausprägung abzuwarten. Geringe Mengen an Blattmaterial oder Körnern reichen bereits aus, um die für die Analysen benötigte genomische DNA zu extrahieren. Die Selektion auf DNA-Ebene bietet zudem den Vorteil, dass sie nicht nur weniger Zeit in Anspruch nimmt, sondern auch arbeits- und platzsparend ist, da die Anzahl der zu prüfenden Linien bereits in frühen Generationen reduziert wird. Somit werden die aufwendigen Resistenzprüfungen sowie die dafür benötigten Flächen in den folgenden Gene-

rationen reduziert bzw. bei gleichbleibendem Flächenumfang kann eine höhere Zahl an Genotypen geprüft werden. Letztendlich wird also die Selektionseffizienz verbessert. Der Einsatz von molekularen Markern beschleunigt außerdem die Pyramidisierung verschiedener Resistenzgene und erleichtert die Introgression von Resistenzgenen aus exotischem Material. Je nachdem welche Markertechnik verwendet wird, können auch homo- und heterozygote Genotypen unterschieden werden. Die genannten Vorteile bestehen allerdings nur, wenn die Marker sehr eng an die jeweiligen Zielgene gekoppelt sind, so dass es zu keiner Rekombination zwischen Marker und Gen kommt. Für eine effektive Nutzung von molekularen Markern in Züchtungsprogrammen sollten diese nach Möglichkeit diagnostisch sein, d. h. dass die Nutzung in verschiedenen genetischen Hintergründen möglich ist. In der praktischen Anwendung sollten die Marker außerdem leicht handhabbar und kostengünstig sein. Die Bedeutung und Anwendbarkeit von molekularen Markern in der Getreide- bzw. Weizenzüchtung werden unter anderem von Korzun (2003) bzw. von Koebner und Summer (2002) diskutiert.

In der vorliegenden Arbeit wurden hauptsächlich die PCR-gestützten AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)- und Mikrosatelliten-Marker verwendet.

Die AFLP-Technik wurde erstmals von Vos et al. (1995) beschrieben. Es handelt sich dabei um eine äußerst effiziente und robuste Methode, um schnell eine große Zahl polymorpher DNA-Marker zu finden. Ein weiterer Vorteil der Methode besteht darin, dass vorab keinerlei Sequenzinformation nötig ist. In einem ersten Schritt wird die genomische DNA zunächst mit einer häufig und einer selten schneidenden Restriktionsendonuklease verdaut. An die so entstandenen, unterschiedlich großen doppelsträngigen DNA-Fragmente werden Adaptoren ligiert, die nachfolgend als Primerbindungsstelle fungieren. In einer Präamplifikation werden zunächst alle Restriktionsfragmente amplifiziert, indem ein zum Adapter und den jeweiligen Schnittstellen komplementäres Primerpaar eingesetzt wird. In der selektiven Amplifikation werden schließlich Primer eingesetzt, die sich aus der komplementären Nukleotidsequenz der Adaptoren und zusätzlich ein bis drei selektiven Nukleotiden am 3'-Ende zusammensetzen, so dass nicht alle Restriktionsfragmente in der PCR amplifiziert werden. Je größer die Zahl der selektiven Nukleotide ist, desto weniger Fragmente werden amplifiziert. Polymorphe AFLP-Marker entstehen, wenn auf genomischer Ebene Unter-

schiede in den Restriktionsschnittstellen vorliegen. Die Auswertung von AFLP-Markern erfolgt meist dominant.

Bei Mikrosatelliten- bzw. SSR-Markern (Simple Sequenz Repeats) handelt es sich um wiederholte kurze Sequenzmotive (zwei bis sechs Basenpaare), die gleichmäßig über das Genom verteilt vorliegen (Wang et al., 1994). Polymorphismen zwischen verschiedenen Genotypen entstehen meist aufgrund einer unterschiedlichen Anzahl an Wiederholungen. Flankiert werden diese repetitiven Motive durch stark konservierte Bereiche, welche in der PCR-Amplifikation als Primerbindungsstelle dienen. Mikrosatelliten-Marker weisen einen hohen Polymorphiegrad auf, werden meist codominant vererbt und sind oftmals locusspezifisch, so dass sie bei der Zuordnung von Koppelungsgruppen zu spezifischen Chromosomen einsetzbar sind. Röder et al. (1998) veröffentlichten die erste auf Mikrosatelliten basierende genetische Karte. Seitdem wurde bereits eine große Zahl von SSR-Markern veröffentlicht, die in der GrainGenes Datenbank zu finden sind (<http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml>).

1.6. Prinzip von QTL-Analysen

Bei Getreide zeigen viele wichtige Merkmale wie beispielsweise Ertrag, Qualität oder viele Krankheitsresistenzen in spaltenden Populationen eine quantitative Verteilung. Die einzelnen Genombereiche, die an der Ausprägung solcher quantitativer Merkmale beteiligt sind, werden als QTL (Quantitative Trait Loci) bezeichnet. Das Konzept des QTL-Nachweises wurde von Sax (1923) entwickelt. Um QTL zu identifizieren, ist es zunächst notwendig, eine spaltende Population bezüglich des Zielmerkmals zu phänotypisieren und parallel dazu mit molekularen Markern zu genotypisieren.

Verschiedene wichtige Faktoren beeinflussen dabei die Genauigkeit der QTL-Kartierung. Zu nennen sind hier beispielsweise Versuchsdesign und -umfang, Heritabilität des Merkmals, Zahl und Beitrag der einzelnen QTL zur gesamten genotypischen Varianz, Verteilung der QTL über das Genom, Markerdichte, Verlässlichkeit der Kartierung usw. (Asíns, 2002). Im Allgemeinen ist die QTL-Kartierung sowie die damit verbundene Schätzung der einzelnen QTL-Effekte präziser, je höher die Heritabilität des Zielmerkmals ist, d. h., die Genauigkeit der QTL-Analyse kann direkt über die Methode der phänotypischen Datenerhebung beeinflusst werden. Bei geringen Popu-

lationsgrößen besteht die Gefahr, dass QTL mit kleineren Effekten aufgrund von insgesamt höheren Schätzfehlern möglicherweise nicht detektiert werden, sowie dass die erklärte phänotypische Varianz identifizierter QTL überschätzt werden könnte (Melchinger et al., 1998; Utz et al., 2000). Deshalb ist es unerlässlich, Effekte detektierter QTL vor der Anwendung in markergestützten Züchtungsprogrammen zu überprüfen. Auch der Populationstyp beeinflusst die QTL-Analyse. So erlauben Populationen mit einem großen Anteil an homozygoten Linien (DHs, RILs) eine präzisere Schätzung der QTL-Effekte (Asíns, 2002).

Um eine QTL-Verrechnung durchzuführen, stehen verschiedene Algorithmen zur Verfügung. Bei der Einzelmarkerregression wird mittels linearer Regressionsanalysen überprüft, ob ein Markergenotyp einen signifikanten Zusammenhang mit der Ausprägung des Zielmerkmals aufweist. Beim Verwenden von einzelnen Markern kann jedoch nicht zwischen dem Effekt eines QTL und der Position relativ zum Marker unterschieden werden. Im Unterschied dazu werden bei der Intervallkartierung benachbarte Marker paarweise auf genetische Effekte mit Auswirkungen auf die phänotypischen Daten des zu untersuchenden Merkmals getestet. Dadurch lassen sich Rückschlüsse über die QTL-Effekte sowie über Rekombinationen zwischen QTL und Marker ziehen. Die Wahrscheinlichkeit für das Vorhandensein eines QTL wird gegen die Hypothese getestet, dass kein QTL in einem Markerintervall vorhanden ist (Maximum Likelihood Verfahren; Lander und Botstein, 1989). Im Vergleich zur Einzelmarkerregression ist die Intervallkartierung also deutlich leistungsstärker. Bei der einfachen Intervallkartierung werden jedoch weitere QTL im genetischen Hintergrund der Population nicht beachtet. Um nun diese Kovarianz im genetischen Hintergrund bei der QTL-Analyse einzubeziehen, kann eine multiple Intervallkartierung durchgeführt werden, welche QTL-Effekte von anderen Chromosomen berücksichtigt (Jansen und Stam, 1994; Zeng, 1994; Kao et al., 1999). Im Computerprogramm MultiQTL (Korol et al., 2005) werden die Chromosomen dazu nacheinander auf die Präsenz eines QTL untersucht während gleichzeitig QTL-Effekte von anderen Chromosomen in die Analyse einkalkuliert werden. Da die genauen Positionen und Effekte dieser QTL vorab unbekannt sind, handelt es sich um einen iterativen Algorithmus. Ein alternatives Verfahren dazu ist das „Composite Interval Mapping“ (CIM). Im Gegensatz zu der in MultiQTL implizierten multiplen Intervallkartierung, bei der QTL als Cofaktoren eingesetzt werden, wird hier der genetische Hintergrund über die Einführung von

einzelnen Markern als Cofaktoren in der Analyse berücksichtigt (Zeng, 1994). Aus diesem Grund ist die mittels der multiplen Intervallkartierung durchgeführte QTL-Analyse noch präziser und leistungsfähiger verglichen mit dem CIM (Kao et al., 1999).

Um den kritischen LOD-Wert zu bestimmen, ab dem ein QTL als signifikant betrachtet werden kann, wird beispielsweise ein Permutationstest (Churchill und Doerge, 1994) verwendet, wie es z. B. bei MultiQTL der Fall ist. Die QTL-Analyse wird außerdem durch die Zusammensetzung der Stichprobe stark beeinflusst, was in Abhängigkeit der Populationsgröße, der Heritabilität des Zielmerkmals sowie der Größe des QTL-Effekts zu einer erheblichen Überschätzung der QTL-Effekte führen kann (Utz und Melchinger, 1994). Um diese Verzerrungen in der Schätzung der QTL-Effekte zu eliminieren, stehen weitere Methoden zur Verfügung wie z. B. die in MultiQTL implizierte „Bootstrap-Analyse“ (Lebreton und Visscher, 1998) oder die von Utz et al. (2000) eingeführte „Cross-Validation“. Bei der Bootstrap-Analyse werden Vertrauensintervalle für die Positionen detektierter QTL bestimmt, wobei diese umso kleiner sind je sicherer der QTL ist. Bei der Cross-Validation wird dagegen mit 4/5 der Linien eine QTL-Analyse durchgeführt, während die restlichen Linien zur Validierung der identifizierten QTL verwendet werden.

1.7. Kartierung und Validierung von Resistenz-QTL gegen Ährenfusariosen

In den letzten Jahren wurden sowohl im Sommer- als auch im Winterweizen zahlreiche Resistenz-QTL gegen Ährenfusariosen kartiert. Im Sommerweizen zählen der aus China stammende resistente Genotyp Sumai 3 und davon abgeleitete Linien zu den meistgenutzten Resistenzquellen bei der Entwicklung spaltender Populationen. Dabei konnte ein Haupt-QTL auf Chromosom 3BS (*Qfhs.ndsu-3BS*) identifiziert werden, der bis zu 60% der phänotypischen Varianz (R^2) nach Einzelährcheninokulation (Typ II-Resistenz) erklärte (Waldron et al., 1999; Bai et al., 1999; Anderson et al., 2001; Buerstmayr et al., 2002; Zhou et al., 2002; Chen et al., 2006). Nach Sprüheinokulation im Feld (Typ I- und II-Resistenz kombiniert) erklärte er bis zu 20% der phänotypischen Variation (Buerstmayr et al., 2003; Chen et al., 2006). Ein weiterer QTL, der im Gegensatz zu *Qfhs.ndsu-3BS* eher mit der Typ I-Resistenz in Verbindung steht,

konnte auf Chromosom 5A (*Qfhs.ifa-5A*) identifiziert werden (Buerstmayr et al., 2002, 2003). Dieser QTL mit Effekt auf die Typ I-Resistenz wurde von Chen et al. (2006) bestätigt. Außer den genannten QTL konnten in den zitierten Studien noch weitere Genombereiche mit geringerem Einfluss auf die Resistenz identifiziert werden.

Weitere chinesische Resistenzdonoren, deren Beziehung zu Sumai 3 noch nicht eindeutig geklärt ist, wie beispielsweise Wangshuibai, Huapei 57-2 oder Ning894037 wurden ebenfalls molekulargenetisch untersucht. Dabei konnte in verschiedenen Studien jeweils ein Haupt-QTL für die Typ II-Resistenz bzw. die kombinierte Ausprägung beider Resistenztypen auf Chromosom 3BS identifiziert werden (Bourdoncle und Ohm, 2003; Shen et al., 2003a; Lin et al., 2004; Mardi et al., 2005; Jia et al., 2005; Ma et al., 2006). In einer Population, die aus einer Kreuzung zwischen Wangshuibai und Nanda2419 (anfällig) hervorging, konnten nach Sprühhinokulation auf den Chromosomen 4B und 5A wichtige QTL für die Typ I-Resistenz detektiert werden, die 18% bzw. 27% der phänotypischen Varianz erklärten (Lin et al., 2006).

Über Resistenzquellen aus Brasilien ist bisher noch wenig bekannt. In einer Frontana (resistent)/Remus (anfällig)-Population konnte nach Sprühhinokulation ein stabiler QTL auf Chromosom 3A gefunden werden (Steiner et al., 2004), der kürzlich in einer Frontana/Seri82 (anfällig)-Population bestätigt wurde (Mardi et al., 2006).

Auch im Winterweizen konnten einige Genombereiche mit einer Resistenz gegen Ährenfusariosen in Verbindung gebracht werden. In einer Population, die aus einer Kreuzung zwischen Sincron (resistent) und F1054 (anfällig) hervorging, konnte ein Haupt-QTL auf Chromosom 1B detektiert werden (Ittu et al., 2000). In einer Renan (resistent)/Recital (anfällig)-Population wurde nach Sprühhinokulation ein Haupt-QTL auf Chromosom 2BS und zwei auf Chromosom 5A identifiziert, die zwischen 9% und 14% der phänotypischen Varianz erklärten (Gervais et al., 2003), wobei es auf den Chromosomen 2BS und 5A Überlappungen mit QTL für die Wuchshöhe und/oder dem Zeitpunkt des Ährenschiebens gab. Shen et al. (2003b) untersuchten eine Population, die aus einer Kreuzung zwischen Fundulea 201R (resistent) und Patterson (anfällig) hervorging. In dieser Population konnten nach Punktinokulation zwei Haupt-QTL auf den Chromosomen 1B und 3A gefunden werden, die 19% bzw. 13% der phänotypischen Varianz erklärten. In einer Goldfield (resistent)/Patterson (anfällig)-Population konnte im selben Intervall auf Chromosom 2B ein Haupt-QTL für eine

niedrige Befallshäufigkeit sowie für geschlossenes Abblühen identifiziert werden, der 29% der phänotypischen Varianz erklärte (Gilsinger et al., 2005). In einer weiteren Kartierungspopulation, in der Arina der resistente und Forno der anfällige Kreuzungselter war, konnten nach Sprühhinokulation auf den Chromosomen 4AL, 5BL und 6DL Resistenz-QTL identifiziert werden, die zwischen 10% und 22% der phänotypischen Varianz erklärten (Paillard et al., 2004). Überlappungen mit QTL für die Wuchshöhe und/oder den Zeitpunkt des Ährenschiebens gab es auf den Chromosomen 5BL und 6DL. Zusätzlich zu den oben genannten Haupt-QTL wurde in den zitierten Studien noch von weiteren Genombereichen mit geringem Einfluss auf die Fusariumresistenz berichtet ($R^2 < 9\%$). Kürzlich identifizierten Schmolke et al. (2005) QTL für eine kombinierte Ausprägung der Typ I- und Typ II-Resistenz in der Dream (resistent)/Lynx (anfällig)-Kartierungspopulation, die aus 145 rekombinanten Inzuchtlinien bestand. Ein Haupt-QTL konnte auf Chromosom 6AL gefunden werden, der 19 % der phänotypischen Varianz erklärte, ein weiterer wurde auf Chromosom 7BS lokalisiert, der 21% der phänotypischen Varianz erklärte. Der QTL auf Chromosom 6AL überlappte mit einem QTL für Wuchshöhe und der auf Chromosom 7BS überlappte mit einem QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens. Weitere QTL, die einen geringeren Beitrag zur Resistenz leisteten, konnten auf den Chromosomen 2BL und 1B detektiert werden. In einer weiteren Winterweizenpopulation, die aus einer Kreuzung zwischen der moderat resistenten Sorte Cansas und der anfälligen Sorte Ritmo hervorging, konnten nach Sprühhinokulation folgende Chromosomenbereiche mit einer Fusariumresistenz assoziiert werden: 1BS, 1DS, 3B, 3DL, 5BL, 7AL und 7BS, die zwischen 8% und 20% der phänotypischen Varianz erklärten (Klahr et al., 2007). Überlappungen mit QTL für Halmlänge bzw. den Zeitpunkt des Ährenschiebens gab es auf den Chromosomen 5BL und 7AL.

Obwohl bereits viele Resistenz-QTL sowohl im Sommerweizen als auch im Winterweizen identifiziert wurden, beziehen sich die meisten Validierungs- und Feinkartierungsstudien auf die von Sumai 3 stammenden Resistenz-QTL. Bis jetzt wurde noch keine QTL-Validierung im europäischen Winterweizen unter Verwendung von adaptierten Resistenzdonoren durchgeführt. Zhou et al. (2003) verifizierten den QTL auf dem kurzen Arm von Chromosom 3BS, indem für diesen QTL mittels markergestützter Selektion nahisogene Linien entwickelt wurden. In ähnlicher Weise beschäftigen sich Salameh und Buerstmayr (2004) mit der Verifizierung der beiden Resis-

tenz-QTL (*Qfhs.ndsu-3BS* and *Qfhs.ifa-5A*), die in der resistenten Sommerweizenlinie CM 82036 gefunden wurden. Reynolds und Anderson (2004) bestätigten die Effekte der Resistenz-QTL auf den Chromosomen 5AS (Resistenzallel von „Wuhan 3“ stammend) und 5BL (Resistenzallel von „Fujian 5114“ stammend). In einer doppelhaploiden Population, die aus einer Kreuzung zwischen CM 82036 und Remus hervorging, konnte ein Effekt auf die DON-Resistenz nach Toxinapplikation nachgewiesen werden, der in derselben Region wie *Qfhs.ndsu-3BS* lag (Lemmens et al., 2005). Kürzlich validierten Miedaner et al. (2006) die Effekte zweier von CM 82036 stammender Resistenzallele auf den Chromosomen 3B und 5A sowie einem von Frontana stammenden Resistenzallel auf Chromosom 3A im genetischen Hintergrund eines europäischen Elitesommerweizens. Dabei führten beide von CM 82036 stammenden Allele zu einer signifikanten Befallsreduktion, und alle drei Allele hatten einen signifikanten Effekt auf den DON-Gehalt ($p < 0,05$). Yang et al. (2003) evaluierten die Effekte von Sumai 3-QTL nach Einzelährcheninokulation (Typ II-Resistenz) im genetischen Hintergrund von kanadischem Sommerweizen. Dabei erklärten die wichtigsten Mikrosatelliten-Marker auf Chromosom 3BS 12% (DH181/AC Foremost) bzw. 36% (AC Foremost/93FHB 21) der phänotypischen Varianz, der SSR-Marker GWM644 auf Chromosom 6B erklärte in der DH181/AC Foremost-DH-Population 21% der phänotypischen Varianz. Resistenzallele, die von Nyuubai (3BS, 3BSc, 5AS), Sumai 3 (3BSc, 5AS) und Wuhan-1 (2D, 4B) stammten, wurden in einen kanadischen Sommerweizen-Elitehintergrund gebracht (McCartney et al., 2007). Die Allele trugen dazu bei, dass die Feldresistenz signifikant verbessert wurde, wobei der Effekt umso größer war, je mehr Resistenzallele im Elitehintergrund vorhanden waren. Das auf Chromosom 3BS lokalisierte Hauptgen *Fhb1* (bisher bekannt als *Qfhs.ndsu-3BS*) wurde sowohl in einem fixiert resistenten (Sumai3*5/Thatcher) als auch in einem fixiert anfälligen (HC374/3*98B69-L47) genetischen Hintergrund erfolgreich feinkartiert (Cuthbert et al., 2006). In einer Studie von Liu et al. (2006) wurde *Fhb1* ebenfalls feinkartiert, wobei es in einem 1,2 cM Intervall positioniert wurde, das von zwei STS (Sequence Tagged Site)-Markern flankiert wird, welche aus Weizen-ESTs (Expressed Sequence Tag) entwickelt wurden. In einer Ning894037 (resistent)/Alondra (anfällig)-Population kartierte ein CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence)-Marker, der aus einem EST entwickelt wurde, in das QTL-Intervall auf dem kurzen Arm von Chromosom 3BS (Shen et al., 2006). Dieser EST zeichnete sich durch eine LRR (Leucine-Rich Repeats)-Domäne aus sowie durch eine

Ähnlichkeit (E-Wert < 10^{-5} ; tBLASTx) mit einer Proteinkinase-Domäne des *Rpg1* Schwarzrost-Resistenzgens von Gerste. Auch der von Sumai 3 stammende QTL auf Chromosom 6BS wurde bereits erfolgreich feinkartiert und wird nunmehr *Fhb2* genannt (Cuthbert et al., 2007).

Im Gegensatz zu den oben zitierten Studien liegen bisher noch keine Ergebnisse über QTL-Validierungen bzw. -Feinkartierungen im Winterweizen vor.

1.8. Problemstellungen dieser Arbeit

In der vorliegenden Arbeit sollte zum einen in einer an das hiesige Klima adaptierten Winterweizen-Population (Pelikan//Bussard/Ning8026) eine Kartierung weiterer Resistenz-QTL gegen Ährenfusariosen durchgeführt werden, um ergänzende genetische Erkenntnisse über die Vererbung der Resistenzgene zu gewinnen. Ferner sollte das Potenzial der identifizierten QTL für markergestützte Züchtungsprogramme beurteilt werden.

In einem weiteren Teil der Arbeit sollten die Effekte der in der Dream/Lynx-Population detektierten Resistenz-QTL (Schmolke et al., 2005) in Rückkreuzungslinien verifiziert werden. Hierbei sollte insbesondere die Genauigkeit der QTL-Lokalisierung sowie eine eventuelle Überschätzung der Effekte in der QTL-Analyse in der Dream/Lynx-Kartierungspopulation überprüft werden. Zudem sollte der Einfluss von morphologischen Merkmalen (Wuchshöhe, Zeitpunkt des Ährenschiebens) auf die Resistenzausprägung in einem homogeneren genetischen Hintergrund überprüft werden. Außerdem wird die Anwendbarkeit erfolgreich verifizierter Resistenz-QTL in markergestützten Züchtungsprogrammen beurteilt.

Mittels einer Datenbankrecherche sollten Kandidatengene aus bekannten ESTs identifiziert werden, die in wichtigen QTL-Intervallen kartieren, um Rückschlüsse auf Gene ziehen zu können, die möglicherweise an der Ausprägung der Resistenz beteiligt sind, und um diese Sequenzen zusätzlich zur Markerentwicklung zu nutzen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit sind im Rahmen des EUREKA- bzw. des GABI-Kanada-Projektes entstanden. Projektpartner waren dabei im Einzelnen:

- Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 8, 85354 Freising (EUREKA und GABI-Kanada)

-
- Landessaatzuchtanstalt, Universität Hohenheim, Fruwirthstraße 21, 70599 Stuttgart (EUREKA und GABI-Kanada)
 - Lochow-Petkus GmbH, Bollersener Weg 5, 29303 Bergen (EUREKA und GABI-Kanada)
 - Saaten Union, Eisenstr. 12, 30916 Isernhagen (GABI-Kanada)
 - Saatzucht Breun, Amselweg 1, 91074 Herzogenaurach (GABI-Kanada)
 - Technische Universität München, Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung, Am Hochanger 2, 85350 Freising (GABI-Kanada)
 - Universität für Bodenkultur Wien, Department IFA-Tulln, Konrad Lorenz Straße 20A, 3430 Tulln – Österreich (EUREKA)

2. Material und Methoden

2.1. Pflanzenmaterial

2.1.1. Kartierungspopulation Pelikan//Bussard/Ning8026

Für die Erstellung der Kartierungspopulation wurde die fusariumanfällige Sorte Pelikan mit einer resistenten DH-Linie (G93010) gekreuzt. Diese geht aus der Kreuzung zwischen der Sorte Bussard (Kranich/Maris-Huntsman//Monopol) und der chinesischen Sorte Ning8026 (Avrora/Sumai3//Yangmai2) hervor. Die seit 1990 zugelassene Winterweizensorte Bussard ist ein qualitativ hochwertiger Eliteweizen, der in der beschreibenden Sortenliste mit einer Fusariumresistenz der Ausprägungsstufe 3 geführt wird. Bei der Sorte Ning8026 handelt es sich um eine aus China stammende, moderat fusariumresistente Weizensorte. Die Kreuzungseltern Pelikan und G93010 unterscheiden sich außer in ihrer Fusariumresistenz außerdem in der Wuchshöhe und dem Zeitpunkt des Ährenschiebens. Die Ähren beider Kreuzungseltern sind unbegrannt.

Die Nachkommenschaft dieser Kreuzung wurde ab der F_2 über einen Einkornramsch bis zur $F_{6,8}$ weitergeführt, wodurch eine aus 122 rekombinanten Inzuchtlinien (RILs) bestehende Kartierungspopulation entstanden ist. Diese RILs weisen einen sehr hohen Homozygotiegrad auf ($> 96\%$).

2.1.2. Entwicklung und Selektion von QTL- Rückkreuzungslinien für die QTL-Validierung

Um die in der Dream/Lynx-Kartierungspopulationen detektierten Resistenz-QTL zu validieren, wurden Linien mit einem sehr homogenen genetischen Hintergrund mittels Rückkreuzungs- und Selbstungsgenerationen markergestützt entwickelt. Resistenzdonoren waren dabei zwei resistente F_4 -Linien aus der Kartierungspopulation, die beide für die von Dream stammenden Resistenzallele *Qfhs.lfl-6AL*, *Qfhs.lfl-7BS* sowie für einen QTL mit kleinerem Effekt auf Chromosom 2BL fixiert waren. Diese wurden mit dem anfälligen Elter Lynx gekreuzt, gefolgt von zwei weiteren Rückkreuzungsgenerationen (Abbildung 3). Die BC_1F_1 - sowie die BC_2F_1 -Individuen wurden mit den SSR-Markern GWM82 und GWM46 untersucht, um bezüglich der Resistenz-QTL *Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS* heterozygote Genotypen zu identifizieren. Sechszehn

BC₂F₁-Pflanzen wurden geselbstet und im Gewächshaus die BC₂F₂-Population erstellt.

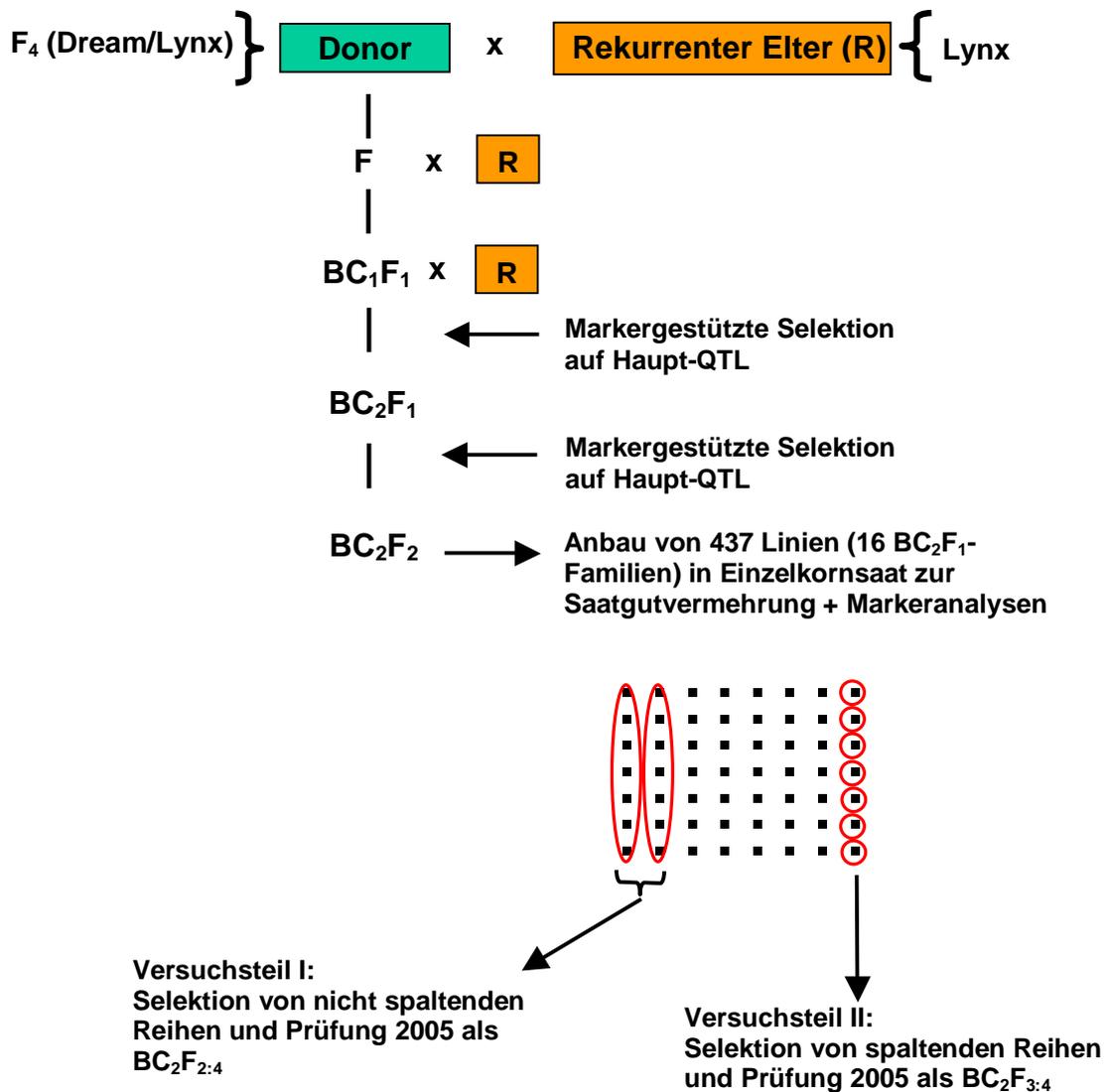


Abbildung 3. Kreuzungsschema zur Erstellung und Selektion der QTL-Rückkreuzungslinien.

Die BC₂F₂-Pflanzen (437) wurden vermehrt, um anschließend BC₂F₂-Familien zu erhalten. 2003/2004 wurden insgesamt 437 Dream/Lynx-Rückkreuzungslinien, die zu 16 BC₂F₁-Familien gehören, zur Saatgutvermehrung in Einzelkornsaat angebaut und mit SSR- und AFLP-Markern für die jeweiligen QTL-Regionen analysiert, um Genotypen zu selektieren, die 2005 auf Fusarium im Feld geprüft werden sollten. Wegen unterschiedlicher Prüfbedingungen, was die Zahl der Umwelten angeht, wurden die

Feldversuche nachfolgend in zwei Teilerperimente aufgeteilt, die im folgenden Versuchsteil I und Versuchsteil II genannt werden. Für den Versuchsteil I wurden Linien ausgewählt, die für den jeweiligen Haupt-QTL fixiert mit bzw. ohne Resistenzallel waren und 2005 als BC₂F_{2;4} im Feld geprüft wurden. Für den Versuchsteil II wurden Genotypen selektiert, die bezüglich der beiden Haupt-QTL sowie des QTL mit kleinerem Effekt auf Chromosom 2BL noch spalteten, um sowohl parallel die Effekte der einzelnen QTL schätzen zu können, als auch herauszufinden, ob sich die Fusariumresistenz durch Pyramidisierung von einzelnen QTL mit unterschiedlichen Effekten verbessern lässt. Für den Versuchsteil I wurde jeweils die komplette Reihe aus dem Vermehrungsanbau gesichert, während für den Versuchsteil II jede Pflanze einzeln geerntet wurde und 2005 im Feld als BC₂F_{3;4} geprüft wurde. Aus den beiden genannten Vorgehensweisen bei der Ernte resultiert auch die unterschiedliche Menge an Saatgut, welche für die Feldversuche zur Verfügung stand und letztendlich die Zahl der Prüfumwelten beeinflusste. Um die Zuordnung der selektierten Genotypen zur korrekten Markerklasse zu überprüfen, wurden diese 2005 erneut mit den entsprechenden molekularen Markern für die QTL-Intervalle untersucht. Linien mit Rekombinationen innerhalb einer QTL-Region wurden separat ausgewertet. Für den Versuchsteil I gingen in die Verrechnungen insgesamt 112 BC₂F_{2;4}-Linien (Dream/Lynx*4) ein, die zu 13 (*Qfhs.lfl-7BS*) bzw. 15 (*Qfhs.lfl-6AL*) BC₂F₁-Familien gehören. Für den Versuchsteil II wurden für die Verrechnungen 127 BC₂F_{3;4}-Linien (Dream/Lynx*4) berücksichtigt, die zu drei BC₂F₁-Familien gehören. Zusätzlich dazu wurden in einer kleineren Subpopulation innerhalb des Versuchsteils II noch 23 BC₂F_{3;4}-Linien (Dream/Lynx*4) berücksichtigt, die Rekombinationen im Intervall von *Qfhs.lfl-7BS* aufwiesen.

2.2. Feldversuche und Fusariuminokulation

Die Pelikan//Bussard/Ning8026-Kartierungspopulation wurde insgesamt in vier Umwelten geprüft: Freising (2005, 2006), Herzogenaurach (2006) und Eckendorf (2006) (Abbildung 4). Der Feldversuch wurde als Gitteranlage mit zwei Wiederholungen je Umwelt angelegt, wobei außer den Linien der Kartierungspopulation noch mehrfach die Kreuzungseltern Pelikan und G93010, sowie die resistenten Sorten Solitär, Impression und Petrus enthalten waren.

Für die QTL-Validierung fanden die Feldversuche 2005 im Versuchsteil I an vier Orten (Freising, Hohenheim, Seligenstadt und Wohlde) und im Versuchsteil II an drei Orten statt (Freising, Seligenstadt, Wohlde, Abbildung 4). Für den kompletten Teil der QTL-Validierung wurden die Feldversuche ebenfalls als Gitteranlage mit zwei Wiederholungen angelegt. Gemeinsam mit den selektierten Genotypen wurden die Kreuzungseltern Dream und Lynx mehrfach angebaut, sowie die fusariumresistenten Sorten Solitär und Petrus. Der Anbau erfolgte generell zweireihig (Parzellenfläche ca. 0,6 m²).

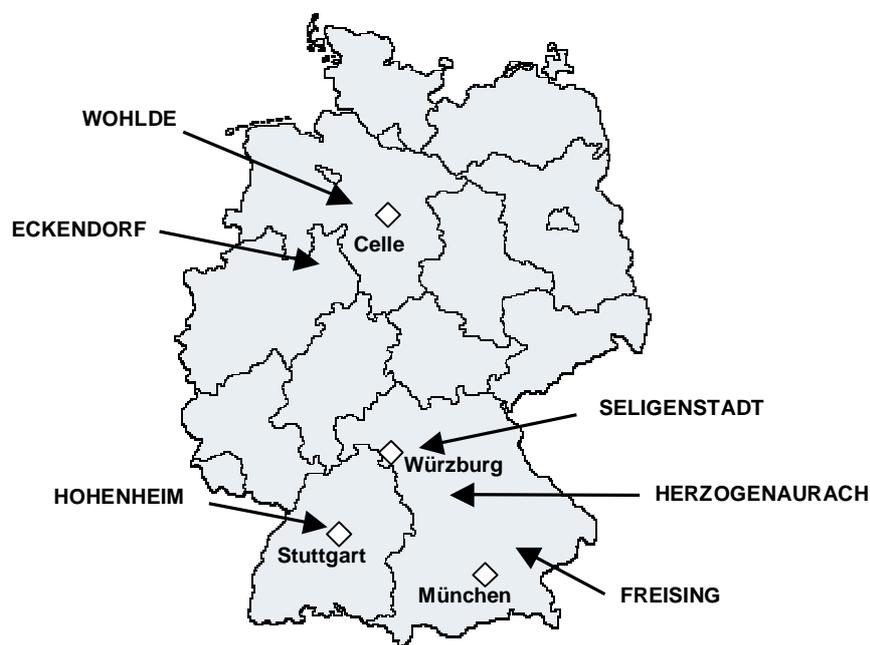


Abbildung 4. Versuchsstandorte für die Feldprüfungen 2005 und 2006.

Die Fusariuminfektion wurde für alle genannten Feldversuche mittels Sprühinokulation mit zwei hoch aggressiven *Fusarium culmorum*-Isolaten hervorgerufen, die an der Landessaatzuchtanstalt nach Miedaner et al. (1996) produziert wurden. Die Konidien suspension (Aufwandmenge 100 ml pro m²) hatte dabei eine Konzentration von 5x10⁵ Konidien pro ml und wurde mit einer Parzellenfeldspritze auf die Pflanzen gesprüht. Aufgrund von Unterschieden hinsichtlich des Blühzeitpunktes wurde die Sprühinokulation zwei- bis dreimal durchgeführt, so dass jeder Genotyp mindestens einmal zur Mitte der Blüte inokuliert wurde.

Die Erfassung der Krankheitssymptome, die visuell in Prozent befallener Ährchen erfolgte, begann mit dem Auftreten der ersten sichtbaren Symptomen ca. sieben Tage nach der letzten Inokulation und wurde je nach Standort und Befallsentwicklung in einem Abstand von drei bis fünf Tagen zwei- bis dreimal wiederholt. Für die anschließenden Verrechnungen wurde jeweils der Mittelwert aus der zweiten und dritten Bonitur gebildet, da die Differenzierung der einzelnen Genotypen bezüglich des Befalls zu diesen beiden Boniturterminen meist am größten war. Zusätzlich wurde der Zeitpunkt des Ährenschiebens in Tagen nach dem 1. Januar erfasst, sowie die mittlere Wuchshöhe als Distanz vom Boden bis zur Mitte der Ähre in cm.

2.3. Molekularbiologische Arbeiten

2.3.1. DNA-Isolation

Die Extraktion der genomischen DNA erfolgte hauptsächlich in 2 ml Eppendorf-Gefäßen mittels der CTAB-Methode nach Saghai-Marroof et al. (1984). Von jungen Weizenpflanzen wurde Blattmaterial (ca. 6 cm Blattsegment) entnommen, für 2 Tage in der Vakuum-Gefriertrocknung getrocknet und anschließend in einer Kugelmühle vermahlen. Zu dem pulverisierten Material wurde 1000 µl Extraktionspuffer gegeben und für 20 min bei 65 °C im Wasserbad inkubiert. Anschließend wurden 750 µl eines Chloroform-Isoamylalkohols-Gemisches (24:1) zugegeben und für 15 min im Überkopfschüttler inkubiert. Zur Phasentrennung diente die nachfolgende Zentrifugation (10 min bei 8000 rpm). Die wässrige Phase wurde mit abgeschnittenen Pipettenspitzen abgenommen und in neue 1,5 ml Eppendorf-Gefäße überführt. Anschließend wurde zu der gewonnenen Lösung 10 µl RNase gegeben und 30 min bei RT verdaut. Zur Fällung der DNA wurde 750 µl kaltes Isopropanol zugegeben, invertiert und zur Erhöhung der Ausbeute 30 min bei -20 °C in den Gefrierschrank gestellt. Nach der Zentrifugation (5 min bei 8000 rpm) folgte ein erster Waschschrift (Waschlösung 1). Nach einer Inkubationszeit von 30 min und einer anschließenden Zentrifugation (2 min bei 5000 rpm) folgte der zweite Waschschrift (Waschlösung 2), wobei die Waschlösungen nach jedem Waschschrift verworfen wurden. Unter Vakuum ließ man Ethanolreste verdampfen und löste das getrocknete DNA-Pellet in 50-200 µl 0,1 TE-Puffer über Nacht bei RT. Durch Auftrennung der DNA auf einem 0,8 %-igen Agaro-

segel wurde die DNA-Konzentration mit Hilfe eines Standards (Lamda/HindIII) geschätzt und anschließend auf die gewünschte Konzentration von 50 ng/μl eingestellt.

2.3.2. Genotypisierung der Pelikan//Bussard/Ning8026-Kartierungspopulation

Die Linien der Kartierungspopulation sowie die Kreuzungseltern wurden mittels AFLP- (Vos et al., 1995) und SSR-Markern, sowie einem STS-Marker genotypisiert.

2.3.3. AFLP-Marker

Der Ablauf der AFLP-Markeranalyse erfolgte hierbei wie bei Hartl et al. (1999) beschrieben mit einigen Modifikationen (Schmolke et al., 2005).

Nachfolgend sind die Reaktionsansätze für den *PstI/MseI*-Restriktionsverdau, die Adapter-Ligation, die Präamplifikation und die selektive Amplifikation aufgeführt (Tabellen 1, 2 und 3).

Tabelle 1. Ansatz für den *PstI/MseI*-Restriktionsverdau und die Adapter-Ligation.

Restriktionsverdau/Adapter-Ligation		
Reagenz	Ausgangskonz.	Menge
genomische DNA	50 ng/μl	5,500 μl
ATP	10 mM	1,250 μl
NEB2 Puffer	10 x	1,250 μl
BSA	10 x	1,250 μl
T4-DNA-Ligase	6 U/μl	0,170 μl
<i>PstI</i>	20 U/μl	0,125 μl
<i>MseI</i>	10 U/μl	0,100 μl
<i>Pst</i> -Adapter	5 μM	0,500 μl
<i>Mse</i> -Adapter	50 μM	0,500 μl
H ₂ O bidest.	-	1,855 μl
Summe		12,500 μl

Die Restriktions- /Ligationsansätze wurden im Thermocycler zunächst für 2 h bei 37°C inkubiert, gefolgt von weiteren 8 h bei 16°C. Anschließend wurden sie 1:4 mit H₂O_{bidest} auf 50 μl verdünnt.

Tabelle 2. Ansatz für die Präamplifikation.

Präamplifikation		
Reagenz	Ausgangskonz.	Menge
DNA aus der Restriktion/Ligation	50 ng/μl	3,00 μl
dNTPs	20 mM	0,40 μl
PCR Puffer	10 x	1,00 μl
MgCl ₂	50 mM	0,3 μl
<i>Pst</i> 03-Primer	10 μM	0,30 μl
<i>Mse</i> 02-Primer	10 μM	0,30 μl
Taq-Polymerase	5 U/μl	0,05 μl
H ₂ O bidest.	-	4,65 μl
Summe		10,00 μl

Die PCR-Bedingungen für die Präamplifikation waren wie folgt:

- 2 min bei 72°C
 - 30 sec Denaturierung bei 94°C
 - 1 min Primeranlagerung bei 60°C
 - 2 min Primerverlängerung bei 72°C
- } 20 Zyklen
- 4°C Lagertemperatur

Nach der Präamplifikation wurden die 10 μl Ansätze zu je 5 μl aufgeteilt und mit jeweils 195 μl H₂O_{bidest} verdünnt.

Tabelle 3. Ansatz für die selektive Amplifikation.

selektive Amplifikation		
Reagenz	Ausgangskonz.	Menge
DNA aus der Präamplifikation	50 ng/μl	3,00 μl
dNTPs	20 mM	0,40 μl
PCR Puffer	10 x	1,00 μl
MgCl ₂	50 mM	0,3 μl
<i>Pst</i> -Primer	10 μM	0,30 μl
<i>Mse</i> -Primer	10 μM	0,30 μl
Taq-Polymerase	5 U/μl	0,05 μl
H ₂ O bidest.	-	4,65 μl
Summe		10,00 μl

Die PCR-Bedingungen für die selektive Amplifikation waren folgendermaßen:

- 3 min Denaturierung bei 94°C
 - 30 sec Primeranlagerung bei 65°C(-1°C/Zyklus)
 - 2 min Primerverlängerung bei 72°C
- } 9 Zyklen
- 30 sec bei Denaturierung bei 94°C
 - 30 sec Primeranlagerung bei 56°C
 - 2 min Primerverlängerung bei 72°C
- } 23 Zyklen
- 4°C Lagertemperatur

Die Genotypisierung der Kartierungspopulation wurde mit insgesamt 39 *PstI/MseI* AFLP-Primerkombinationen unter Verwendung der Standardliste für die AFLP-Primer- Nomenklatur durchgeführt (<http://wheat.pw.usda.gov/ggppages/keygeneAFLPs.html>). Die Bezeichnung der AFLP-Marker setzte sich dabei aus der entsprechenden Primerkombination zusammen, gefolgt von der geschätzten Fragmentgröße angegeben in Basenpaaren.

Um einige der AFLP-Marker dem Weizenchromosomen zuordnen zu können, wurden außer den Linien der Kartierungspopulation zusätzlich auch nullitetrasome Linien von Chinese Spring (Sears, 1966) mit allen 39 AFLP-Primerkombinationen analysiert. Die nullitetrasomen Linien wurden freundlicherweise von Prof. F. Zeller (Technische Universität München) zur Verfügung gestellt.

2.3.4. SSR-Marker

Die Kreuzungseltern Pelikan und G93010 (Bussard/Ning8026) wurden mit insgesamt 309 Mikrosatelliten-Markern, veröffentlicht von Röder et al. (1998) bzw. beruhend auf Informationen der GrainGenes Datenbank (<http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml>) auf Polymorphie getestet. Nachfolgend schloss sich die Genotypisierung der rekombinanten Inzuchtlinien mit einer Auswahl an polymorphen SSRs an, die über das ganze Weizengenom verteilt waren. Das Resistenzlabor der Saaten Union übernahm dabei im Projektverbund einen Teil der Analysen. Die Amplifikation der Mikrosatelliten erfolgte nach Röder et al. (1998) mit einigen Modifikationen (Tabelle 4).

Tabelle 4. Ansatz für die SSR-Amplifikation.

SSR-Amplifikation		
Reagenz	Ausgangskonz.	Menge
DNA	10 ng/µl	7,50 µl
dNTPs	20 mM	0,80 µl
PCR Puffer	10 x	2,00 µl
MgCl ₂	50 mM	0,6/0,8 µl
F-Primer	10 µM	1,20 µl
R-Primer	10 µM	1,20 µl
Taq-Polymerase	5 U/µl	0,05 µl
H ₂ O bidest.	-	6,65/6,45 µl
Summe		20,00 µl

Die PCR-Bedingungen waren in der Regel folgendermaßen:

- 3 min Denaturierung bei 94°C
 - 10 sec bei Denaturierung bei 94°C
 - 30 sec Primeranlagerung bei 50, 55 bzw. 60°C
 - 50 sec Primerverlängerung bei 72°C
 - 15 min Fragmentverlängerung bei 72°C
 - 4°C Lagertemperatur
- } 35 Zyklen

2.3.5. STS-Marker

Der STS-Marker IAG95 (Mohler et al., 2001) ist diagnostisch für die Weizen-Roggen Translokationen T1AL.1RS und T1BL.1RS. Mit diesem Marker wurden sowohl die Kreuzungseltern als auch alle Linien der Kartierungspopulation auf An- bzw. Abwesenheit der Translokationen analysiert.

2.3.6. Gelelektrophorese

Bei der AFLP-Analyse waren alle verwendeten *Pst*I-Primer am 5'-Ende mit Fluorescin markiert, bei der SSR-Analyse jeweils die entsprechenden Forward-Primer. Nach Auftrennung der amplifizierten DNA-Fragmente auf einem 5%-igen denaturierenden Polyacrylamidgel folgte die Detektion der Fragmente mittels eines Fluoreszenz-Scanners (Typhoon 9200, Amersham, Braunschweig). Die Auswertung der AFLP-Marker

erfolgte mit Hilfe des Programms AFLP Quantar® 1.0 (Keygene, Wageningen, Niederlande) und wurde anschließend visuell überprüft.

2.3.7. Anreicherung von QTL-Regionen mit molekularen Markern in der Dream/Lynx-Population

Aufgrund einer nicht ausreichend hohen Markerdichte in einigen QTL-Intervallen der Dream/Lynx-Population, sollten die QTL-Regionen auf den Chromosomen 6AL, 7BS und 2BL mit zusätzlichen molekularen Markern angereichert werden. Zunächst wurden für die genannten Regionen 13 EST-abgeleitete SSR-Marker der Cornell und Kansas State Universität auf Polymorphie zwischen den Kreuzungseltern Dream und Lynx getestet: CNL70, CNL76, CNL152, KSUM23, KSUM45, KSUM52, KSUM61, KSUM67, KSUM104, KSUM128, KSUM173, KSUM220 und KSUM247 (<http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/ITMI/EST-SSR/Cornell>). Zusätzlich dazu wurden für die QTL-Region auf Chromosom 7BS folgende sieben Mikrosatelliten-Marker verwendet: WMC426, WMC546, WMC606, WMC323, WMC182, WMC335 und BARC72 (<http://wheat.pw.usda.gov>).

Um die genannten Bereiche auch mit AFLP-Markern anzureichern, wurden verschiedene Linien-Pools nach Giovannoni et al. (1991) für die Markerselektion verwendet. Dabei wurden die Pools, welche jeweils aus 6 bis 10 Genotypen der original Dream/Lynx-Kartierungspopulation bestanden, nicht aufgrund phänotypischer, sondern aufgrund genotypischer Kriterien gebildet. Sie wurden so zusammengestellt, dass sie die jeweilig entgegengesetzten Allele für einen gewünschten Genombereich (ca. 15 bis 20 cM) homozygot aufwiesen und mit ca. 100 AFLP-Primerkombinationen gescreent. AFLP-Marker, die hierbei erwartete Polymorphismen zeigten, wurden anschließend auf die gesamte Dream/Lynx-Kartierungspopulation angewandt.

2.3.8. Molekulare Marker für die Selektion der QTL-Rückkreuzungslinien

Die Selektion von Genotypen für die Validierung der Dream/Lynx-QTL wurde mit folgenden SSR- und AFLP-Markern durchgeführt: GWM82, GWM1011 und P69M51-175 für *Qfhs.lfl-6AL*, GWM46, BARC72 und P70M56-237 für *Qfhs.lfl-7BS*, P69M51-245, P69M62-295 und P67M52-120 für das QTL-Intervall auf Chromosom 2BL. Die unterstrichenen AFLP-Marker wurden bei der Analyse der genotypischen Pools gefunden. Die Analyse der BC₂F_{3,4}-Generation für den Versuchsteil II erfolgte

zusätzlich mit dem neu integrierten SSR-Marker BARC72, da sich die mit GWM46 amplifizierte Fragmente von Dream und Lynx nur in 2 bp unterschieden, weshalb sie mit der im Labor verwendeten Technik nicht immer eindeutig zuzuordnen waren. Der SSR-Marker GWM1011 wurde freundlicherweise von M. Röder zur Verfügung gestellt (Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Gatersleben).

Die Vorgehensweise für die AFLP-Marker entsprach dem oben beschriebenen Ansatz, die Amplifikation der Mikrosatelliten-Marker erfolgte nach Röder et al. (1998) mit kleineren Modifikationen.

2.4. Statistische Auswertung

2.4.1. Analyse der Feldversuche: Pelikan//Bussard/Ning8026-Kartierungspopulation

Die phänotypischen Daten der Feldversuche wurden zunächst mit Plabstat Version 2P (Utz, 2001) ausgewertet. Die adjustierten Mittelwerte wurden dabei mit der LATTICE Option für jede der vier Umwelten berechnet. Diese waren die Basis für die Berechnung der Heritabilitäten im weiteren Sinn nach Fehr (1987), der Korrelationskoeffizienten sowie der QTL-Analyse.

Die Varianzanalyse für die Verrechnung über die vier Umwelten wurde mit dem Programm SAS Version 9.1 (SAS Institute, 2004) unter Verwendung der PROC GLM Prozedur durchgeführt. Dabei wurden die nicht adjustierten Einzelwerte der einzelnen Umwelten verwendet. Varianzanalysen wurden für den Befall, die Wuchshöhe und den Zeitpunkt des Ährenschiebens durchgeführt, wobei folgende unabhängigen Variablen im statistischen Modell berücksichtigt wurden: Orte, Wiederholung innerhalb der Orte, Genotypen und Orte x Genotypen. Orte, Genotypen und ihre Interaktionen wurden dabei als zufällige Effekte definiert. Die Korrelationskoeffizienten nach Pearson wurden ebenfalls mit SAS 9.1 berechnet.

2.4.2. Analyse der Feldversuche: QTL-Validierung in den Dream/Lynx-Rückkreuzungslinien

Auch hier wurden unter Verwendung des Programms Plabstat die adjustierten Mittelwerte für die einzelnen Umwelten und die Heritabilitäten im weiteren Sinn berechnet.

Die Analyse mit der LATTICE Option ergab, dass die Effektivität der Gitteranlage bei beiden Versuchsteilen, verglichen mit einer randomisierten Blockanlage, gering war, so dass alle weiteren Berechnungen mit SAS 9.1 unter Verwendung der entsprechenden nicht adjustierten Einzelwerte jeder Umwelt erfolgten. Korrelationskoeffizienten nach Pearson wurden für die einzelnen Merkmale zwischen den Umwelten berechnet. Die weitere statistische Auswertung zeigte, dass im Versuchsteil II die Residuen der abhängigen Variable nicht normalverteilt waren. Um dies zu erreichen wurden die Daten log-transformiert, welche dann für die folgende Varianzanalyse verwendet wurden. Im Versuchsteil I waren die Residuen der abhängigen Variable hingegen normalverteilt, so dass hier keine weitere Transformation der Daten mehr nötig war.

Die Varianzanalysen beider Versuchsteile wurde mit der PROC GLM Prozedur durchgeführt. Für den Versuchsteil I waren die unabhängigen Variablen im statistischen Modell: Orte, Wiederholung innerhalb der Orte, Familien (berücksichtigen die Verwandtschaft der Rückkreuzungslinien untereinander), *Qfhs.lfl-6AL* bzw. *Qfhs.lfl-7BS*, Orte x Familien, *Qfhs.lfl-6AL* bzw. *Qfhs.lfl-7BS* x Orte und *Qfhs.lfl-6AL* bzw. *Qfhs.lfl-7BS* x Familien. Orte, Familien und die entsprechenden Interaktionen wurden dabei als zufällige Effekte definiert. Im Versuchsteil II waren folgende unabhängigen Variablen im statistischen Modell: Orte, Wiederholung innerhalb der Orte, Familien, *Qfhs.lfl-6AL*, *Qfhs.lfl-7BS*, *Qfhs.lfl-6AL* x *Qfhs.lfl-7BS*, Orte x Familien, *Qfhs.lfl-6AL* x Orte, *Qfhs.lfl-7BS* x Orte, *Qfhs.lfl-6AL* x Familien und *Qfhs.lfl-7BS* x Familien. Orte, Familien und die entsprechenden Interaktionen wurden dabei erneut als zufällige Effekte definiert. Um die Mittelwerte der verschiedenen Markerklassen zu vergleichen, wurden multiple Mittelwertvergleiche nach SCHEFFE ($p < 0,05$) durchgeführt. Die zu Versuchsteil II gehörenden rekombinanten Linien wurden getrennt ausgewertet und sollten als Vorversuch für eine spätere Feinkartierung dienen. Aufgrund der wenigen Datenpunkte wurde dabei keine Varianzanalyse, sondern lediglich ein multipler Mittelwertvergleich nach SCHEFFE ($p < 0,05$) durchgeführt.

2.4.3. Genetische Kartierung

Die bestehende genetische Karte der Dream/Lynx-Kartierungspopulation wurde unter Verwendung des Programms Mapmaker Version 3.0B (Lander et al., 1987) um zusätzliche AFLP- und einen SSR-Marker erweitert. Für die Gruppierung der Marker

wurde ein LOD-Wert von mindestens 3,0 und eine maximale genetische Distanz zwischen den Markern von 30 cM festgelegt.

Die Erstellung der genetischen Karte der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population erfolgte mit dem Programm Joinmap Version 3.0 (van Ooijen und Voorrips, 2001). Die Berechnung der Markerabstände fand dabei unter Verwendung der Haldane Funktion statt. Zur Gruppierung der einzelnen Marker wurde ein LOD-Wert von mindestens 3,0 festgelegt.

Die Zuordnung der Kopplungsgruppen zu den Weizenchromosomen erfolgte zum einen aufgrund der Analyse der nullitetrasomen Linien mit AFLP-Markern und zum anderen aufgrund von Mikrosatelliten-Markern. Die Orientierung der Kopplungsgruppen wurde anhand von veröffentlichten Chromosomenkarten festgelegt (Röder et al., 1998, GrainGenes Datenbank).

2.4.4. QTL-Analyse

Die QTL-Verrechnung wurde sowohl für die Pelikan//Bussard/Ning8026-Population als auch für die mit Markern angereicherten QTL-Intervalle der Chromosomen 6AL, 7BS und 2BL der Dream/Lynx-RIL-Kartierungspopulation mit dem Programm MultiQTL Version 2.5 durchgeführt (Korol et al., 2005). Dabei wurde die MULTIPLE ENVIRONMENT OPTION verwendet, welche die Verrechnung über mehrere Umwelten durchführt, was letztendlich die Aussagekraft der QTL-Analyse erhöht. Es wurde jeweils ein SIMPLE INTERVAL MAPPING (SIM) als auch ein MULTIPLE INTERVAL MAPPING (MIM) durchgeführt. Der letztgenannte Algorithmus reduziert die Variation im genetischen Hintergrund in dem QTL-Effekte von anderen Chromosomen berücksichtigt werden (Kao et al., 1999).

Mittels eines Permutationstests (Churchill und Doerge, 1994) mit 1000 Permutationen wurde separat für jede Kopplungsgruppe der LOD-Schwellenwert, bei denen ein QTL als signifikant angenommen wurde, bestimmt. Alle im SIM zu mindestens 95% signifikanten QTL wurden für das MIM berücksichtigt. Dieses wurde jeweils unter Ausschluss nicht signifikanter QTL so oft fortgeführt bis nur noch zu mindestens 99,9% signifikante QTL übrig waren. Im MIM wurde außerdem für alle detektierten QTL die phänotypische Varianz des Gesamtmodells kalkuliert.

2.5. EST-Datenbankrecherche

Um ESTs (Expressed Sequences Tag) zu finden, die im Bereich von einigen in dieser Arbeit identifizierten und validierten Resistenz-QTL kartierten, und um diese anschließend für die Markerentwicklung verwenden zu können, wurde eine Datenbankrecherche durchgeführt. Dafür wurde zunächst unter Verwendung der GrainGenes Datenbank die Lokalisierung der SSR-Marker in einer Deletionskarte des Weizens (*Triticum aestivum*, Sorte „Chinese Spring“) für das von Dream stammende Resistenzallel *Qfhs.lfl-7BS* (GWM46, BARC72) sowie für die von Ning8026 stammenden Allele auf den Chromosomen 5BL/7BS (GWM335, BARC72) und 6BS (GWM88) ermittelt. GWM46 lag dabei in der Region 7BS1-0,27-1,00, BARC72 in der Region 7BL2-0,33-0,63, GWM335 im Bereich 5BL6-0,29-0,55 und GWM88 im Bereich 6BL3-0,36. Anschließend wurden ESTs, die in diesen genannten Bereichen kartierten, identifiziert (http://wheat.pw.usda.gov/wEST/binmaps/wheat5_rice.html) und deren Sequenzen für eine BLASTX-Abfrage am NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) verwendet, um eine Ähnlichkeit auf Aminosäureebene mit Proteinen festzustellen, die möglicherweise an Stress- und Abwehrreaktionen beteiligt sein könnten sowie Ähnlichkeiten zu bekannten Resistenzgenen haben (E-Wert < 10^{-5}).

Um aus interessanten EST-Sequenzen Marker entwickeln zu können, wurden für insgesamt elf ESTs Primer konstruiert (Tabelle 5), für die eine standardisierte PCR mit Temperaturgradient zwischen 50°C und 60°C mit den Kreuzungseltern (Dream, Lynx, Pelikan, G93010) durchgeführt wurde. Der Ansatz der PCR-Reaktionen sowie die PCR-Bedingungen entsprachen dabei im Wesentlichen den oben genannten für die SSR-Analyse. Ergaben sich dabei eindeutige Fragmente, wurden diese mit den entsprechenden Primern (Tabelle 5) mehrfach von beiden Richtungen her sequenziert (Firma MWG Biotech), um SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) zwischen den Kreuzungseltern identifizieren zu können.

Tabelle 5. Übersicht der ESTs, für die Primer bestellt wurden inklusive Lokalisierung, Primersequenzen und Primeranlagerung (in °C).

Chromosom	SSR	Lokalisierung	EST-Akzession	F-Primer (5' – 3')	R-Primer (5' – 3')	Primeranlagerung (°C)
7B	GWM46	7BS1-0,27-1,00	BE422954	TGCCCTCCTCAGTATCCT	GCCTGACTGACAAGAGCA	50
7B	GWM46	7BS1-0,27-1,00	BG314518	GGAGGAGCTCAAGGAGAAGT	ATGTCCGTGTCAGCCTCA	50
7B	GWM46	7BS1-0,27-1,00	BE590566	GGTTCTTGTAGTTGGTGGCA	GCAAAGCAGTTAGCGGAA	50
7B	GWM46	7BS1-0,27-1,00	BE591190	TTGATATGGAGGTGGGTTGC	TTCAGGGCTGCCACAATT	50
7B	BARC72	7BL2-0,33-0,63	BF474746	GACACAAGAAGAGATGCTCT	TAGAATGTTACCCGGCTA	50
7B	BARC72	7BL2-0,33-0,63	BF201560	GTTACCTATTAAGAAGAGA	CTTCTTCTTCTTCTTCTT	50
5B	GWM335	5BL6-0,29-0,55	BE499843	CTTTCCCCACTCTTCTCAA	CATTCATCGCCTGCTTGA	50
5B	GWM335	5BL6-0,29-0,55	BE423964	CGCTCTACCCCGGTAAGGAA	CTTCATTTTCTCAAGCTGCAAC	55
5B	GWM335	5BL6-0,29-0,55	BF145701	CTGCGACAAGTGGGGCTGAA	TCTGCGGCTGCTGATGGGTA	60
6B	GWM88	6BL3-0,36	BE494381	TCGTTCCCTGACGAAGGTCGCAA	TTCACGGACGAGGGCAGAGA	50
6B	GWM88	6BL3-0,36	BE498480	AGGTTTGGCATTGTTGAGGG	TGTGACGGATGAGGTCGACC	60

3. Ergebnisse

3.1. Pelikan//Bussard/Ning8026-Kartierungspopulation

3.1.1. Phänotypisierung der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population

Die Kreuzungseltern Pelikan und G93010 (Bussard/Ning8026) differenzierten an allen Standorten deutlich bezüglich des Fusariumbefalls, wobei der Mittelwert der Eltern in etwa dem Populationsmittel für den entsprechenden Versuchsstandort entsprach (Tabelle 6). Dabei lag das Befallsniveau in Freising 2005 (44%) sowie in Eckendorf 2006 (42%) über dem in Freising 2006 (24%) und Herzogenaurach 2006 (16%).

Tabelle 6. Kenngrößen der Population und der Kreuzungseltern für den erfassten Fusariumbefall aufgeteilt nach Versuchsstandorten.

Umwelt	<i>Fusariumbefall in %</i>					
	Pelikan	G93010	Elternmittel	Populationsmittel	Min	Max
Freising 05	68	12	40	44	14	71
Freising 06	41	6	23	24	10	46
Herzogenaurach 06	21	5	13	16	9	31
Eckendorf 06	71	11	41	42	9	73

Die Korrelationskoeffizienten für den erfassten Befall zwischen den vier Umwelten lagen zwischen 0,60 und 0,75 ($p < 0,01$), für die Wuchshöhe zwischen 0,68 und 0,93 ($p < 0,01$), und für den Zeitpunkt des Ährenschiebens zwischen 0,68 und 0,88 ($p < 0,01$).

Die Heritabilität im weiteren Sinn war ebenfalls für alle Merkmale hoch. Sie lag für den Befall bei $H^2 = 0,84$ (0,77-0,88 bei $p = 0,95$), für die Wuchshöhe bei $H^2 = 0,96$ (0,95-0,97), und für den Zeitpunkt des Ährenschiebens bei $H^2 = 0,92$ (0,89-0,95).

Die Varianzanalysen der Einzelwerte für den erfassten Befall, die Wuchshöhe und den Zeitpunkt des Ährenschiebens ergaben für die Umwelten, Wiederholung innerhalb der Orte, Genotypen sowie Umwelten x Genotypen hochsignifikante Varianzen (Tabelle 7).

Tabelle 7. Varianzanalysen für die erfassten Merkmale in der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population. Die Daten basieren auf den nicht adjustierten Einzelwerten der Umwelten.

	<u>Fusariumbefall</u>				<u>Wuchshöhe</u>				<u>Ährenschieben</u>			
	FG ^a	VK ^b	F-Wert	p-Wert	FG ^a	VK ^b	F-Wert	p-Wert	FG ^a	VK ^b	F-Wert	p-Wert
Umwelten (U)	2	181	916	< 0,01	2	17	100	< 0,01	1	14	338	< 0,01
Wdh (Umwelt)	4	2	9	< 0,01	3	2	10	< 0,01	2	-3	14	< 0,01
Genotypen (G)	242	31	7	< 0,01	242	57	7	< 0,01	242	4	3	< 0,01
U x G	242	63	2	< 0,01	242	8	3	< 0,01	121	-2	5	< 0,01
Fehler	484	29			363	20			242	2		

^a Freiheitsgrade, ^b Varianzkomponente

Alle im Folgenden dargestellten Ergebnisse basieren auf den Mittelwerten über die vier Umwelten. Die Kreuzungseltern Pelikan und G93010 (Bussard/Ning8026) differenzierten deutlich zwischen allen erfassten Merkmalen. Pelikan hatte einen durchschnittlichen Befall von 50% während der resistente Elter G93010 einen mittleren Befall von 9% aufwies. Pelikan war dabei deutlich kürzer im Vergleich zu G93010 und kam 6 Tage früher zum Ährenschieben (Tabelle 8). Der Mittelwert der Eltern entsprach in etwa dem Populationsmittel für das entsprechende Merkmal. Die Linien der Population variierten bezüglich des Fusariumbefalls von 12-52%, bezüglich der Wuchshöhe von 87-129 cm und bezüglich des Ährenschiebens von 160-167 Tage ab dem 1. Januar (Tabelle 8).

Tabelle 8. Kenngrößen der Population und der Kreuzungseltern für die erfassten Merkmale. Die Daten basieren auf den Mittelwerten über die vier Umwelten.

Merkmal	Pelikan	G93010	Elternmittel	Populationsmittel	Min	Max
Fusariumbefall in %	50	9	29	31	12	52
Wuchshöhe in cm	100	120	110	109	87	129
Zeitpunkt des Ährenschiebens in Tagen ab dem 1. Jan.	161	167	164	164	160	167

Die Linien der Kartierungspopulation zeigten eine kontinuierliche Verteilung hinsichtlich des Fusariumbefalls (Abbildung 5). Keine Linie erreichte das Resistenzniveau des Elters G93010, jedoch zeigten zwei Linien eine etwas höhere Anfälligkeit als der Elter Pelikan.

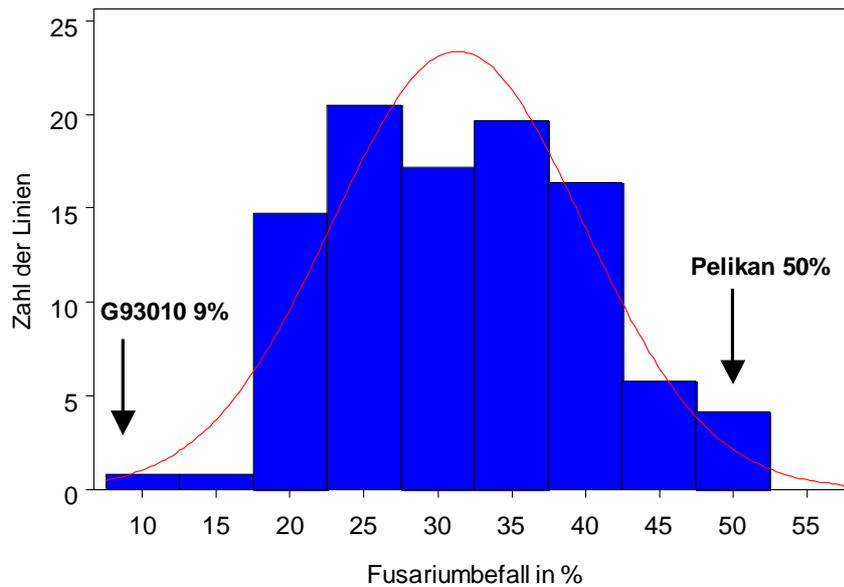
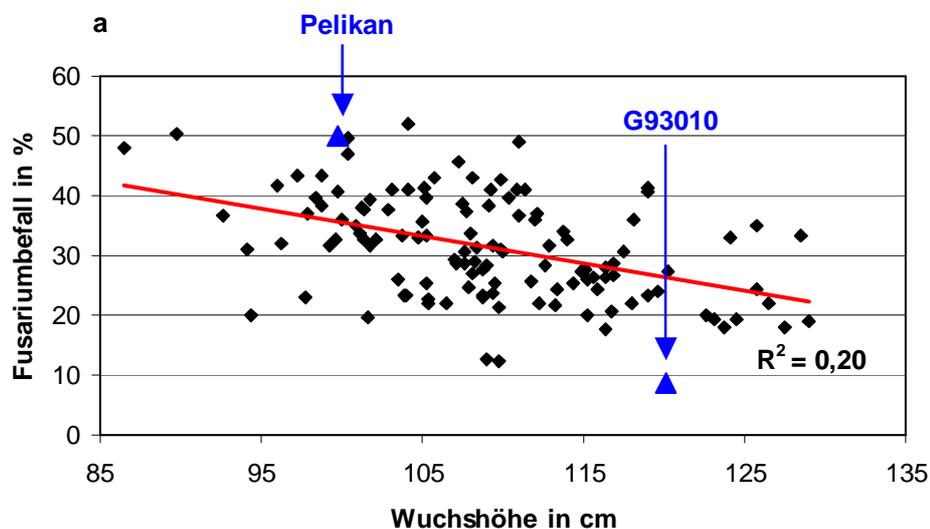


Abbildung 5. Häufigkeitsverteilung der 122 Linien der Kartierungspopulation für die Befallsmittelwerte über die vier Umwelten. Das Befallsniveau der Eltern ist durch Pfeile gekennzeichnet.

Für die Linienmittelwerte ergab sich eine Korrelation ($r = 0,28$; $p < 0,01$) zwischen dem Zeitpunkt des Ährenschiebens und der Wuchshöhe. Hochsignifikant negative Korrelationen ergaben sich sowohl zwischen dem Zeitpunkt des Ährenschiebens und dem Befall ($r = -0,62$; $p < 0,01$) als auch zwischen der Wuchshöhe und dem Befall ($r = -0,45$; $p < 0,01$). Dabei zeigten Linien mit größerer Wuchshöhe und einem späteren Ährenschieben tendenziell einen geringeren Befall (Abbildung 6).



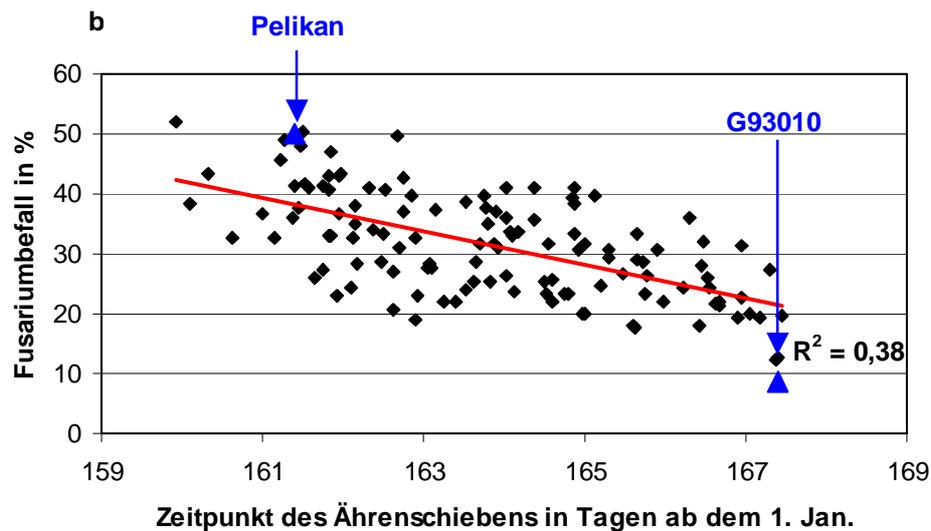


Abbildung 6. Beziehung zwischen dem Befall und der Wuchshöhe (a) bzw. zwischen dem Befall und dem Zeitpunkt des Ährenschiebens (b). Die Daten basieren auf den Mittelwerten über die vier Umwelten. Die Kreuzungseltern sind durch Pfeile gekennzeichnet und bei der Berechnung der Regressionsgeraden nicht berücksichtigt.

3.1.2. Genetische Karte der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population

Die Pelikan//Bussard/Ning8026-Kartierungspopulation wurden mit insgesamt 39 AFLP-Primerkombinationen analysiert. Daraus resultierten 337 Marker, so dass im Durchschnitt 8,6 Polymorphismen pro Primerkombination detektiert werden konnten. Das Markergerüst der genetischen Karte wurde unter Verwendung von 196 AFLP-Markern erstellt. 127 Marker wurden aufgrund von sehr engen Kopplungen, geringer Qualität bzw. extrem schiefer Spaltung nicht berücksichtigt. Nur 14 der 337 AFLP-Marker konnten keiner Kopplungsgruppe zugeordnet werden. Von den 309 auf Pelikan und G93010 (Bussard/Ning8026) getesteten Mikrosatelliten-Markern waren 136 polymorph. Dies entspricht einem Polymorphigrad von 44%. Die Linien der Kartierungspopulation wurden mit 79 SSR-Markern genotypisiert, die über das gesamte Weizengenom verteilt waren. In der resultierenden genetischen Karte wurden 74 Mikrosatelliten-Marker verrechnet, 5 der 79 SSR-Marker lagen ungekoppelt vor (CFD31, CFD37, CFD38, GWM241 und WMC417). Zusätzlich zu den 196 AFLP- und den 74 SSR-Markern wurde für die Kartierung außerdem der STS-Marker IAG95 berücksichtigt.

Die genetische Karte, auf der auch die anschließende QTL-Analyse basierte, bestand aus 54 Kopplungsgruppen und umfasste insgesamt 1064 cM. Das A-Genom wurde

durch 16 Gruppen mit einer Gesamtlänge von 319 cM (74 Marker) repräsentiert, das B-Genom durch 21 Gruppen mit einer Länge von 442 cM (134 Marker) und das D-Genom durch 16 Gruppen mit einer Länge von 283 cM (55 Marker). Die Zuordnung der Kopplungsgruppen zu spezifischen Chromosomen erfolgte mittels SSR-Markern, nullitetrasomer Linien sowie durch Markervergleiche mit anderen an der LfL kartierten Populationen. Die Zuordnung der Gruppen zu den Chromosomenbereichen 6A, 7A, 2B/5B, 5B, 6B, 1D und 5D erfolgte ausschließlich mit Hilfe der nullitetrasomen Analyse. Drei weitere Gruppen (Chromosomen 4B, 7B und 6D) konnten durch AFLP-Markervergleiche zugeordnet werden, die in den ebenfalls an der LfL (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft) untersuchten Apache/Biscay- und Romanus/Pirat-Populationen eindeutig in den entsprechenden Chromosomenbereichen kartierten (Holzapfel, LfL, pers. Mitteilung). Mit Ausnahme der Gruppe 1 konnten alle weiteren Kopplungsgruppen mit Hilfe der Mikrosatelliten-Marker den verschiedenen Chromosomenbereichen zugewiesen werden. Dabei bildeten die Chromosomenarme 5BL und 7BS eine Kopplungsgruppe. Bei zwei Gruppen gelang keine eindeutige Zuordnung zu einem spezifischen Chromosom (3A/5AS/7AS und 2B/5B). Insgesamt waren alle Chromosomen durch mindestens eine Kopplungsgruppe vertreten (Abbildung 7).

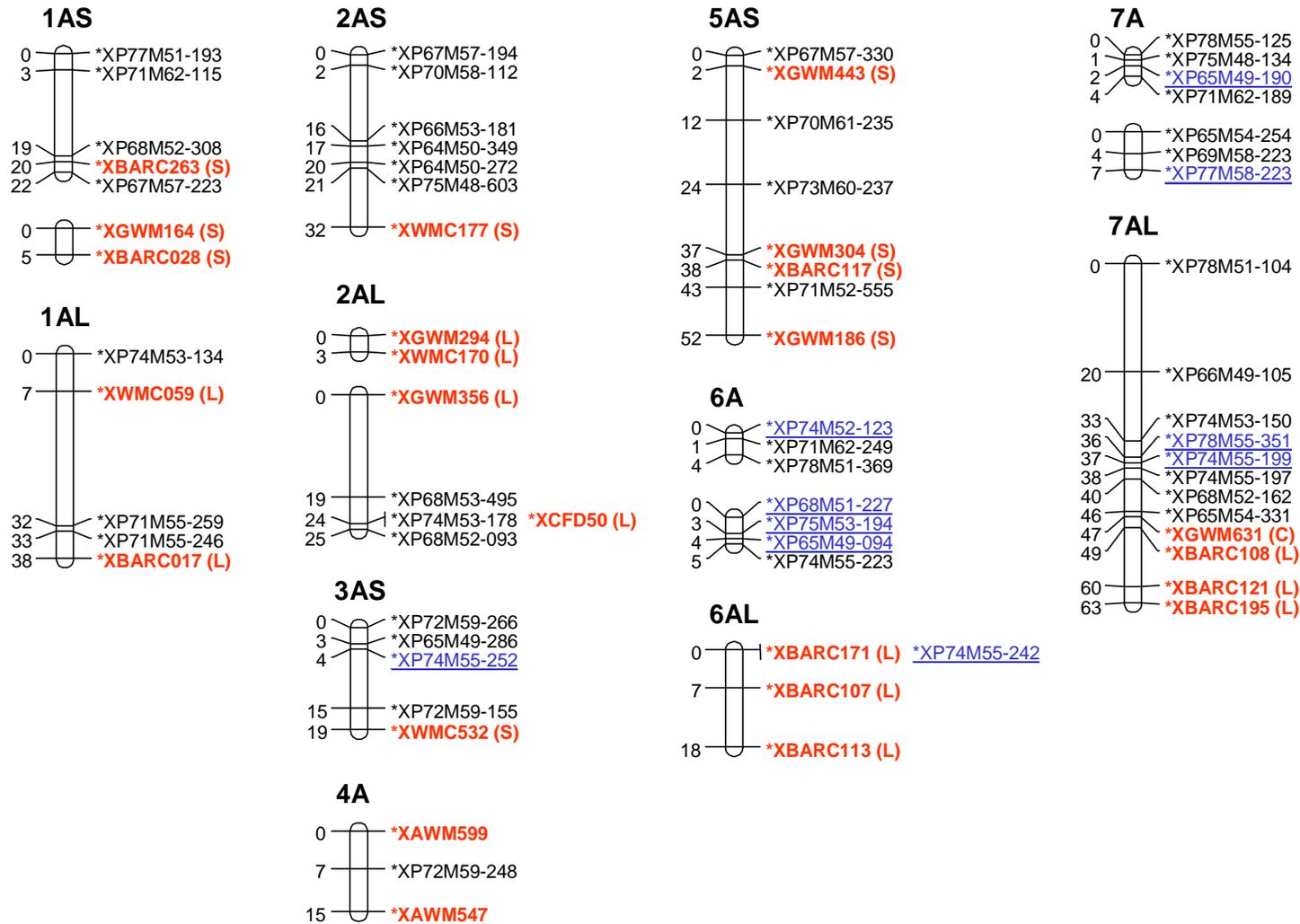
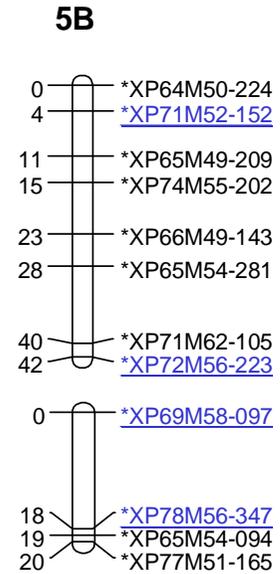
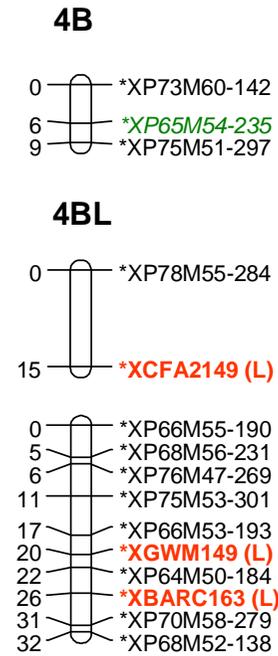
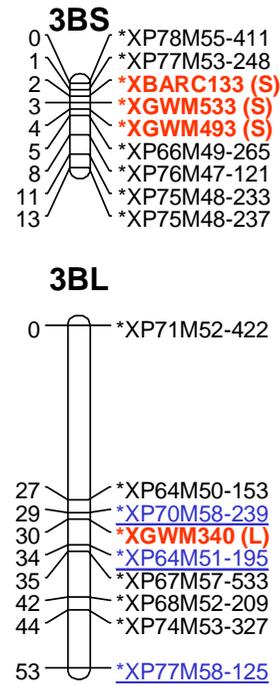
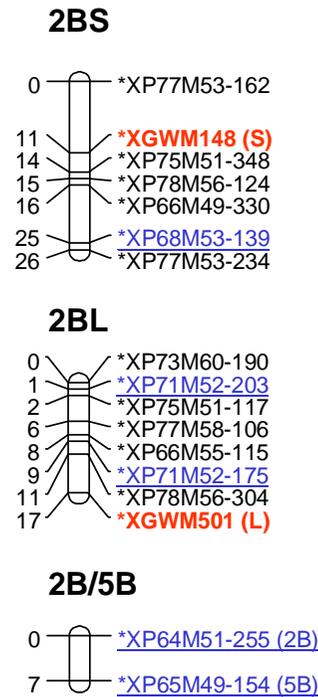
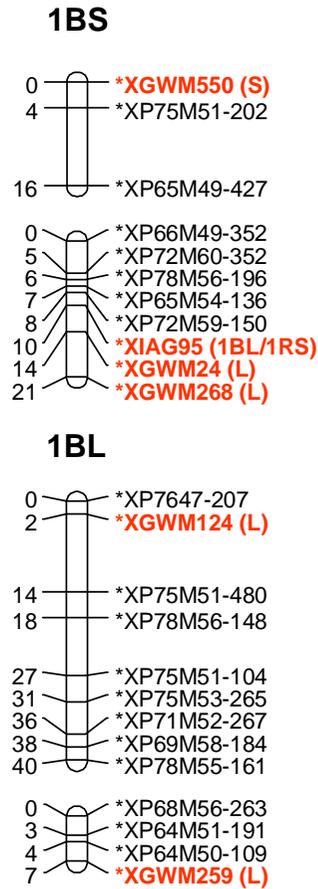
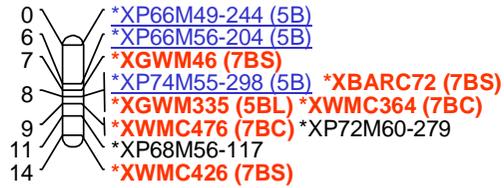


Abbildung 7. Die genetische Karte der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population. **Fett:** SSR-Marker (S: kurzer Arm, C: am Centromer, L: langer Arm). Unterstrichen: AFLP-Marker, die nach der nullitetrasomen Analyse den Chromosomen zugeordnet wurden. *Kursiv:* AFLP-Marker, die durch Vergleiche mit Markern zugeordnet werden konnten, die in anderen an der LfL untersuchten Populationen kartierten.

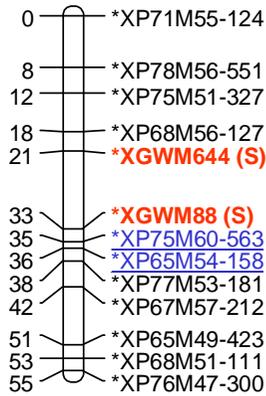


Fortsetzung Abbildung 7.

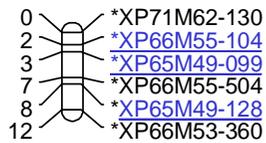
5BL/7BS



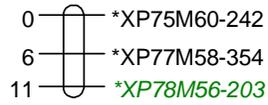
6BS



6B



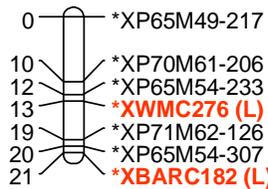
7B



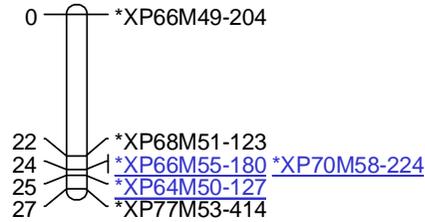
7BS



7BL



1D



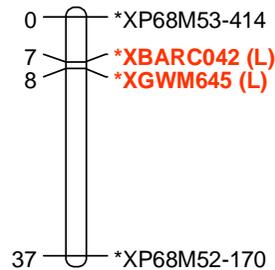
2D



2DL



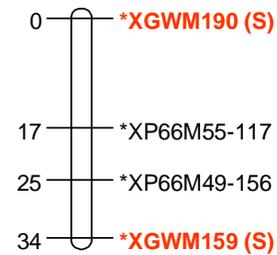
3DL



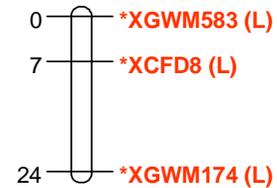
4DS



5DS

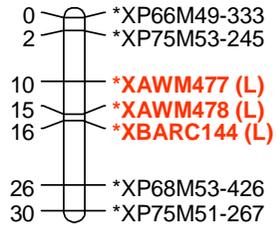


5DL



Fortsetzung Abbildung 7.

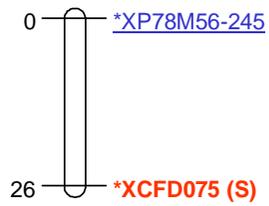
5DL_2



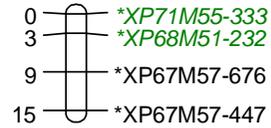
5D



6DS



6D



7DS



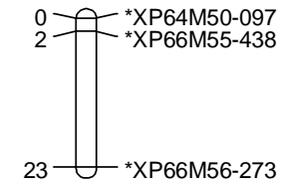
7D



7DL



Grx_1



3A/5AS/7AS



Fortsetzung Abbildung 7.

3.1.3. QTL-Analyse der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population

Im SIM (Simple Interval Mapping) wurden für den Fusariumbefall insgesamt 23 signifikante QTL detektiert, für die Wuchshöhe 21 und für den Zeitpunkt des Ährenschiebens 10 (Daten nicht gezeigt).

Im anschließenden MIM (Multiple Interval Mapping) konnten für den Fusariumbefall insgesamt sieben signifikante QTL gefunden werden, die zusammen 57% der phänotypischen Varianz erklärten. Zwei Haupt-QTL lagen dabei auf den Chromosomen 5BL/7BS und 6BS, die 21% bzw. 18% der phänotypischen Varianz erklärten (Tabelle 9; Abbildung 8). Die Effekte beider Haupt-QTL kamen dabei vom resistenten Kreuzungselter G93010 (Bussard/Ning8026), wobei Ning8026 mittels Markeranalysen als Donor beider QTL bestimmt werden konnte (Abbildung 9). Die in den QTL-Intervallen liegenden Marker wurden außerdem auf eine Auswahl an Sorten getestet, welche an der LfL ebenfalls bezüglich Fusarium molekulargenetisch untersucht werden. Diese Sortenauswahl beinhaltete neben Dream und Lynx außerdem noch Piko, Euris, Apache, Biscay, Contra, Charger, History, Rubens, Romanus, Pirat, Solitär, Travix, und Excellent. Dabei zeigte sich, dass beide analysierten Marker des QTL5BL/7BS (GWM335, P74M55-298) sowie ein Marker des QTL6BS (P65M54-158) im genannten Sortenspektrum diagnostisch waren (Abbildung 9). Ebenfalls diagnostisch war der im Bereich von QTL6BS kartierte SSR-Marker GWM88 (Daten nicht gezeigt). Weitere Resistenz-QTL konnten auf den Chromosomen 1AS, 2AL, 5B, 6A und 7AL detektiert werden, die zwischen 2% und 8% der phänotypischen Varianz erklärten (Tabelle 9), wobei der Donor der Resistenzallele auf den Chromosomen 1AS, 5B und 6A jeweils der anfällige Elter Pelikan war.

Für die Wuchshöhe konnten im MIM elf signifikante QTL gefunden werden, die zwischen 2% und 28% der phänotypischen Varianz erklärten, und für den Zeitpunkt des Ährenschiebens konnten vier signifikante QTL mit einer erklärten phänotypischen Varianz zwischen 5% und 25% identifiziert werden (Tabelle 9). Auf Chromosom 5BL/7BS wurden neben einem Resistenz-QTL auch QTL für die Wuchshöhe und den Zeitpunkt des Ährenschiebens detektiert, diese lagen jedoch nicht im selben Intervall wie der Resistenz-QTL (Abbildung 8a). Die erklärte phänotypische Varianz für das Gesamtmodell betrug für die Wuchshöhe 72% und für den Zeitpunkt des Ährenschiebens 42% (Tabelle 9).

Tabelle 9. In der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population identifizierte QTL für die Fusariumresistenz (FUS), die Wuchshöhe (WH) sowie den Zeitpunkt des Ährenschiebens (AES) unter Verwendung der multiplen Intervallkartierung innerhalb der MULTIPLE ENVIRONMENT OPTION.

Merkmal	Chromosom	Markerintervall	LOD-Wert	R² (%)	Additiver Effekt	*Donor
FUS	5BL/7BS	XBarc72 - XGWM335	40	21	-9	Ning8026
FUS	6BS	XP75M60-563 - XP65M54-158	32	18	-7,5	Ning8026
FUS	1AS	XGWM164 - XBARC28	18	8	5	Pelikan
FUS	6A	XP65M49-094 - XP74M55-223	8	3	3	Pelikan
FUS	7AL	XP78M51-104 - XP66M49-105	8	3	-3	G93010
FUS	5B	XP65M54-094 - XP77M51-165	5	2	2	Pelikan
FUS	2AL	XGWM294 - XWMC170	5	3	-3	G93010
Erklärte phänotypische Varianz des Gesamtmodells für den Fusariumbefall R ² = 57%						
WH	6AL	XBARC171 - XP74M55-242	80	28	9	Pelikan
WH	5BL/7BS	XP68M56-117 - XWMC426	40	16	7	Pelikan
WH	3BL	XP67M57-533 - XP68M52-209	19	7	4	Pelikan
WH	4BL_2	XP76M47-269 - XP75M53-301	17	6	4	Pelikan
WH	2BL	XP78M56-304 - XGWM501	11	2	-2	G93010
WH	1BS	XP75M51-202 - XP65M49-427	11	3	3	Pelikan
WH	7AL	XBARC121 - XBARC195	10	3	3	Pelikan
WH	5DS	XP66M49-156 - XGWM159	8	2	2	Pelikan
WH	2AL	XCFD50 - XP68M52-093	8	2	2	Pelikan
WH	1BL	XP75M53-265 - XP71M52-267	6	2	-2	G93010
WH	7BS	XWMC76 - XGWM537	6	2	2	Pelikan
Erklärte phänotypische Varianz des Gesamtmodells für die Wuchshöhe R ² = 72%						
AES	5BL/7BS	XP68M56-117 - XWMC426	22	25	2	Pelikan
AES	3A/5AS/7AS	XP76M47-219 - XWMC388	8	6	1	Pelikan
AES	7BS	XGWM537 - XP67M57-337	7	6	1	Pelikan
AES	7BL	XP75M53-361 - XP74M55-237	7	5	1	Pelikan
Erklärte phänotypische Varianz des Gesamtmodells für den Zeitpunkt des Ährenschiebens R ² = 42%						

R²: Anteil an der erklärten phänotypischen Varianz. *Donorallel führt zu geringeren Befallssymptomen, kürzeren Pflanzen und früherem Ährenschieben.

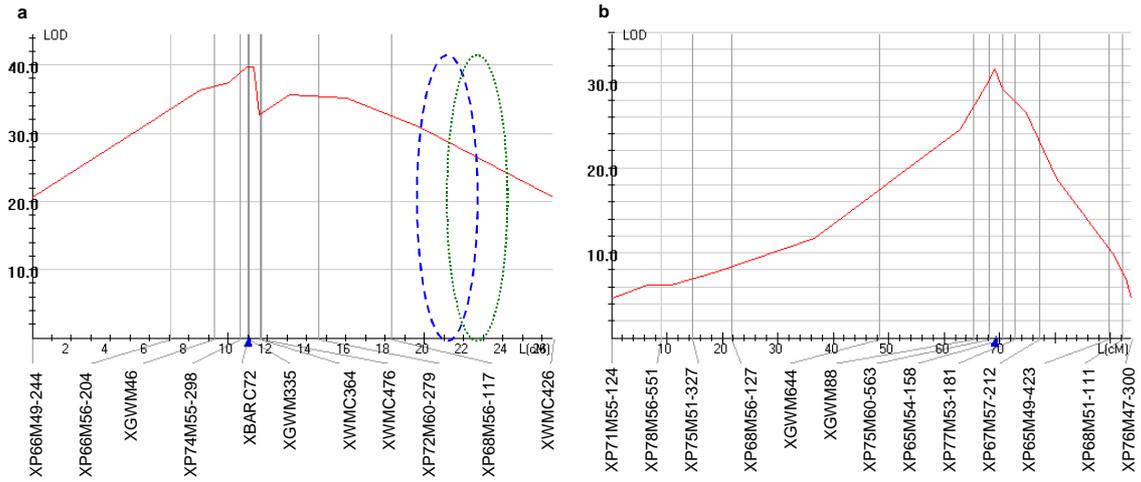
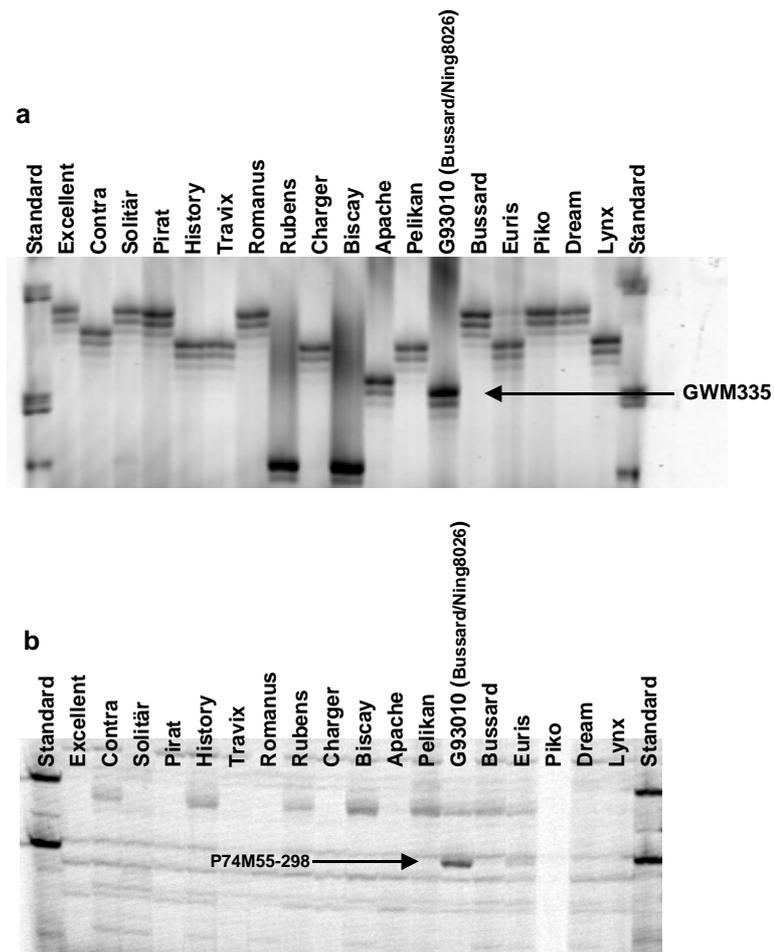


Abbildung 8. LOD-Kurven der Chromosomen 5BL/7BS (a) und 6BS (b) für den Fusariumbefall. Überlappungen der Resistenz-QTL mit QTL für die Wuchshöhe bzw. den Zeitpunkt des Ährenschiebens sind durch die gestrichelten bzw. gepunkteten Kreise dargestellt.



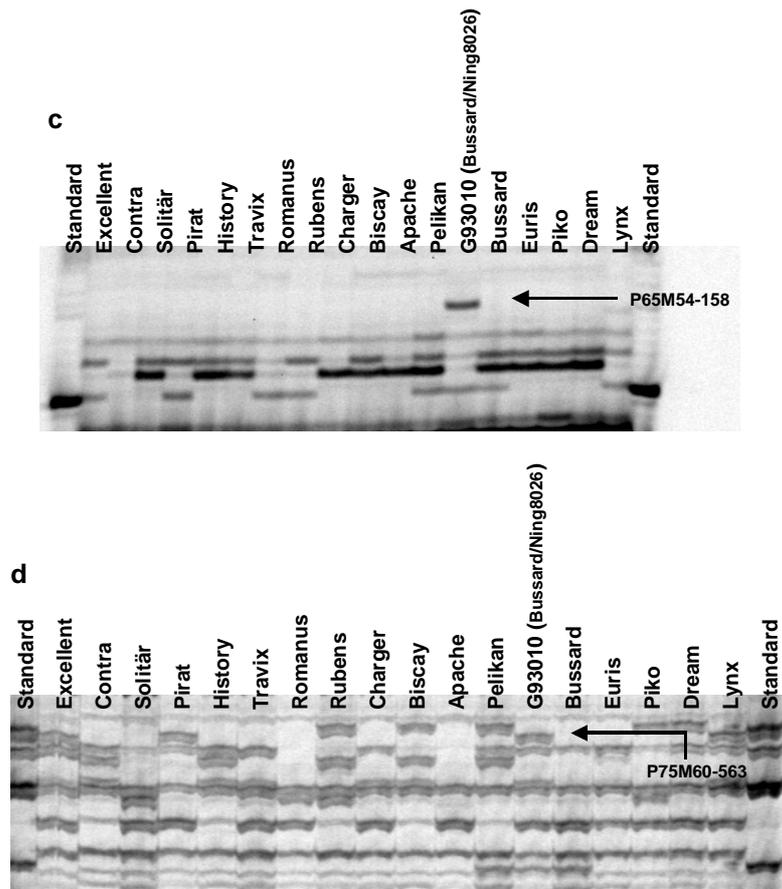
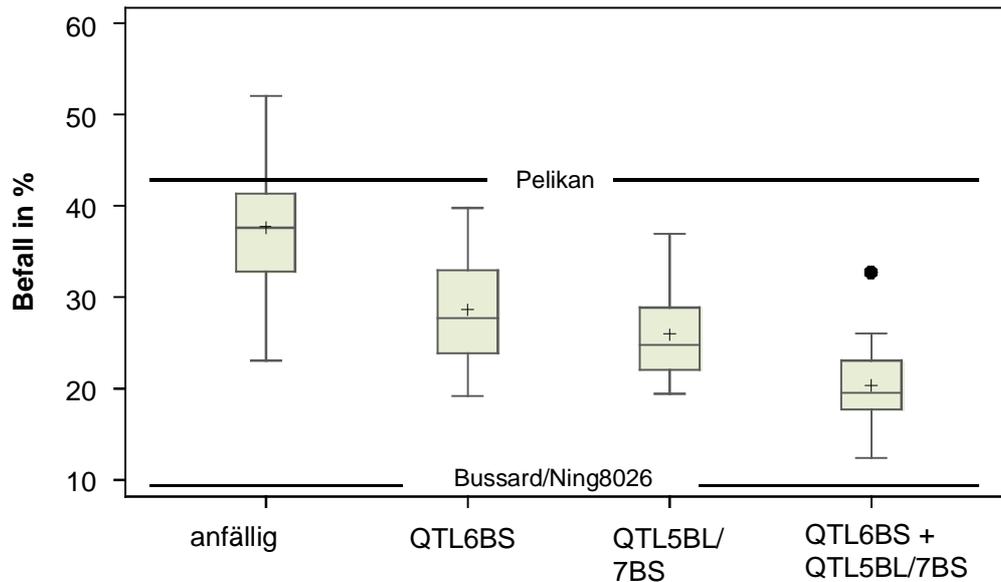


Abbildung 9. In den beiden Haupt-QTL 5BL/7BS (a: GWM335, b: P74M55-298) und 6BS (c: P65M54-158, d: P75M60-563) liegende Marker, die auf eine Auswahl von 18 Sorten getestet wurden. Die jeweiligen kartierten Fragmente sind durch Pfeile gekennzeichnet.

In Abbildung 10 sind die Verteilungen des Befalls nach den Genotypenklassen für die beiden Haupt-QTL dargestellt. Die anfällige Markerklasse ohne Resistenzallele hatte einen durchschnittlichen Befall von 38%. Verglichen dazu reduzierte QTL6BS den absoluten Befall signifikant um 9%, QTL5BL/7BS um 12% und beide QTL in Kombination um 18%. Die phänotypische Variation innerhalb der Markerklassen war dabei relativ hoch (Abbildung 10). QTL6BS hatte kaum einen Einfluss auf die Wuchshöhe und den Zeitpunkt des Ährenschiebens. QTL5BL/7BS führte zu durchschnittlich 7 cm längeren Pflanzen und verzögerte den Zeitpunkt des Ährenschiebens um zwei Tage im Vergleich zur anfälligen Markerklasse ohne Resistenzallele.



Befall in %	38	29	26	20
Wuchshöhe in cm	106	108	113	116
Ährenschieben in Tagen ab 1.1.	163	164	165	166
Zahl der Linien	55	28	27	12
	*a	b	b	c

Abbildung 10. Boxplot-Verteilungen der vier Markerklassen mit den anfälligen und/oder resistenten Allelen der QTL-Regionen auf den Chromosomen 6BS und 5BL/7BS. Die Daten basieren auf den Mittelwerten über die vier Umwelten. Durchgezogene Linien: Median, +: Mittelwerte. * Verschiedene Buchstaben weisen auf signifikante Unterschiede nach einem multiplen Mittelwertvergleich hin (SCHEFFE-Test, $p < 0,05$).

Auch beim Auftragen des Befalls in Abhängigkeit der Wuchshöhe – aufgeteilt entsprechend der vier Markerklassen – zeigte sich die deutliche Befallsreduktion bei Anwesenheit von mindestens einem der beiden Resistenzallele (Abbildung 11). Zudem war innerhalb der vier Markerklassen eine relativ hohe phänotypische Variation bezüglich der Wuchshöhe vorhanden, so dass auch Genotypen darunter waren, die neben einem guten Resistenzniveau gleichzeitig eine akzeptable Halmlänge aufwiesen. Diese Linien lagen bezüglich ihrer Fusariumresistenz und ihrer Wuchshöhe im Bereich der zugelassenen Sorten Impression, Solitär und Petrus (Abbildung 11).

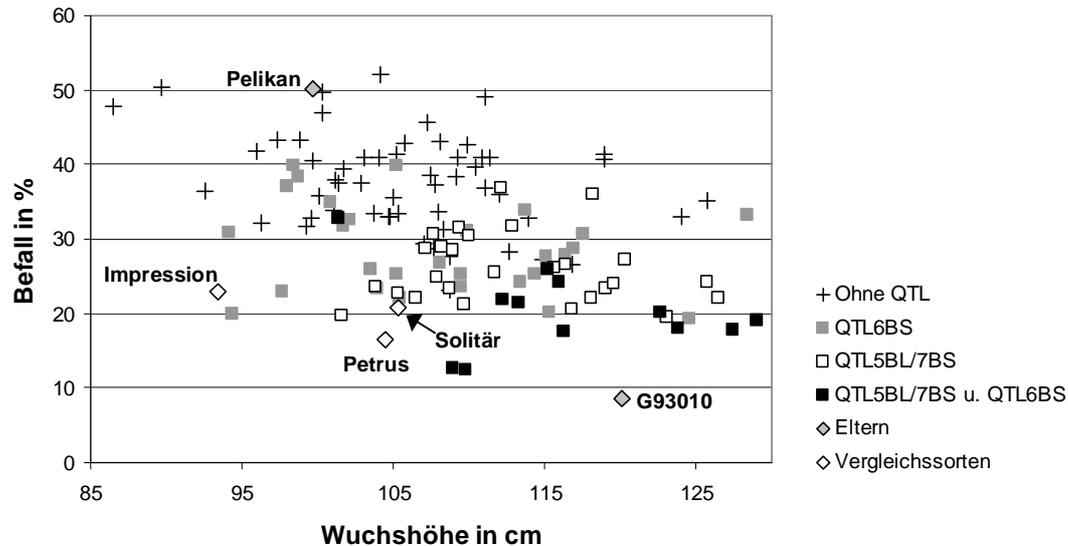


Abbildung 11. Fusariumbefall in Abhängigkeit der Wuchshöhe aufgeteilt entsprechend der vier Markerklassen mit den anfälligen und/oder resistenten Allelen der QTL-Regionen auf den Chromosomen 5BL/7BS und 6BS inklusive Kreuzungseltern und Vergleichssorten (Impression, Solitär, Petrus). Die Daten basieren auf den Mittelwerten über die vier Umwelten.

3.2. Molekulargenetische Charakterisierung der QTL-Intervalle in der Dream/Lynx-Population

Basierend auf einem Screening von verschiedenen genotypischen Pools, die jeweils entgegengesetzte Allele für einen gewünschten Genombereich (ca. 15 bis 20 cM) homozygot aufwiesen, wurden die QTL-Regionen *Qfhs.lfl-6AL*, *Qfhs.lfl-7BS* sowie der QTL auf Chromosom 2BL mit zusätzlichen AFLP-Markern angereichert, so dass jeweils die kompletten QTL-Intervalle mit molekularen Markern charakterisiert werden können. Die AFLP-Marker P70M56-237 und P70M56-235 erweiterten die Kopplungsgruppe von *Qfhs.lfl-7BS* und ermöglichten die Lokalisierung des Peaks der LOD-Kurve (Abbildung 12). Auf ähnliche Weise konnte die Kopplungsgruppe *Qfhs.lfl-6AL* mit weiteren acht AFLP-Markern angereichert werden: P18M47-110, P18M47-140, P69M54-140, P69M56-560, P78M50-330, P70M58-135, P70M50-145 und P69M51-175 (Abbildung 13), und die von Chromosom 2BL mit den folgenden vier AFLP-Markern: P69M51-245, P78M53-182, P69M62-295 and P67M52-120

(Abbildung 14). Der Anteil an der erklärten phänotypischen Varianz sowie der Effekt der einzelnen QTL unterschied sich nur marginal im Vergleich zur vorherigen QTL-Analyse von Schmolke et al. (2005). Durch die komplette Kartierung des QTL-Intervalls konnten einige Rückkreuzungslinien, die Rekombinationen im QTL-Intervall aufwiesen, identifiziert und separat ausgewertet werden. Der SSR-Marker BARC72 war polymorph zwischen den Kreuzungseltern und kartierte auf Chromosom 7BS in der Nähe von GWM46 (Abbildung 12). Für die weiteren Marker-Analysen wurde BARC72 anstelle von GWM46 verwendet, da sich die mit GWM46 amplifizierten Fragmente von Dream und Lynx nur in 2 bp unterschieden, weshalb sie mit der im Labor verwendeten Technik nicht immer eindeutig zuzuordnen waren. Keiner der anderen geprüften SSR- und EST-SSR-Marker war polymorph zwischen Dream und Lynx.

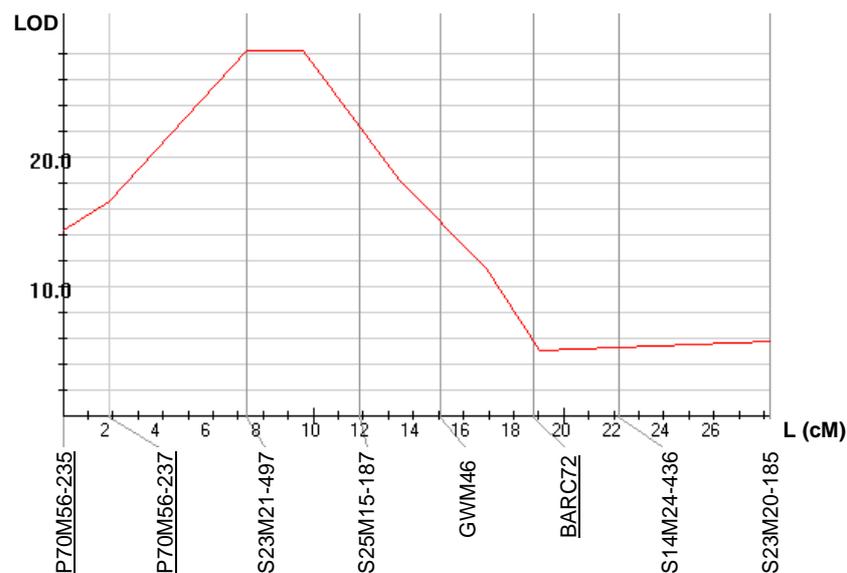


Abbildung 12. LOD-Kurve des Resistenz-QTL *Qfhs.lfl-7BS* mit zwei zusätzlichen im Pool-Screening identifizierten AFLP-Markern (unterstrichen) und dem neu integrierten SSR-Marker BARC72 (unterstrichen). Für die Verrechnung wurde die ursprüngliche Kartierungspopulation verwendet.

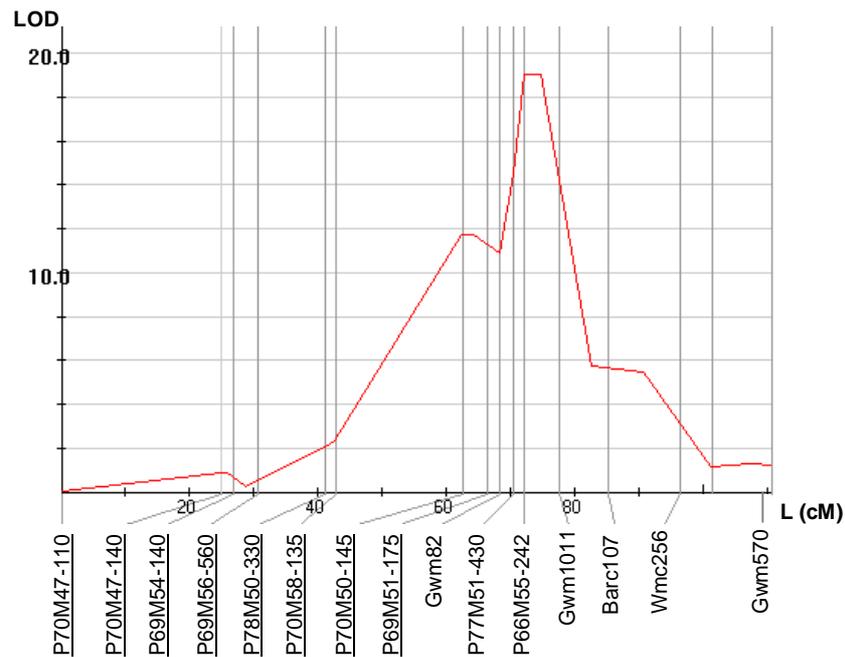


Abbildung 13. LOD-Kurve des Resistenz-QTL *Qfhs.lfl-6AL* mit acht zusätzlichen im Pool-Screening identifizierten AFLP-Markern (unterstrichen). Für die Verrechnung wurde die ursprüngliche Kartierungspopulation verwendet.

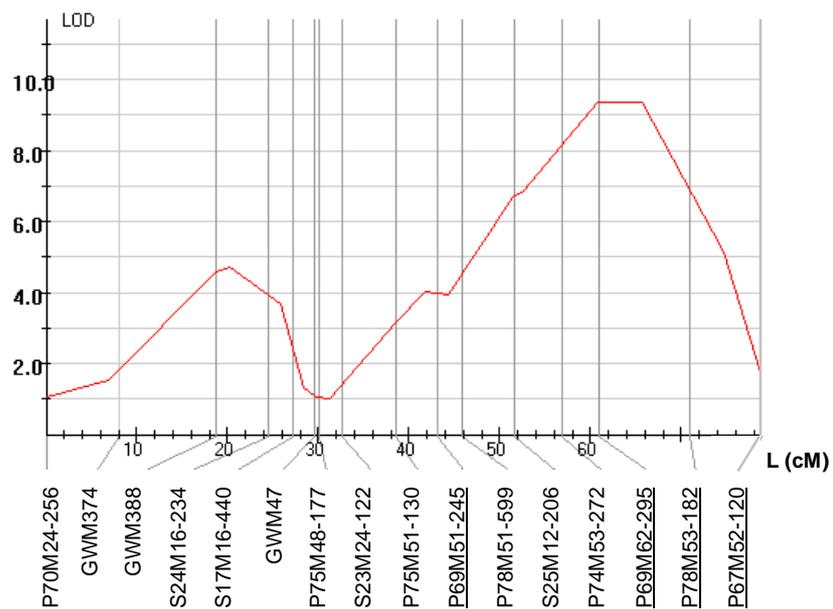


Abbildung 14. LOD-Kurve des Resistenz-QTL auf Chromosom 2BL mit vier zusätzlichen im Pool-Screening identifizierten AFLP-Markern (unterstrichen). Für die Verrechnung wurde die ursprüngliche Kartierungspopulation verwendet.

3.3. QTL-Validierung in den Dream/Lynx-Rückkreuzungslinien

3.3.1. QTL-Validierung – Versuchsteil I

Im Versuchsteil I ergaben die Varianzanalysen für den erfassten Befall für beide Haupt-QTL (*Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS*) signifikante Varianzen (Tabelle 10). Signifikante Varianzen ergaben sich außerdem für Orte, Wiederholung innerhalb der Orte sowie der Interaktion zwischen QTL x Familie. Nicht signifikant waren dagegen die Varianzen bei den Familien sowie der Interaktion zwischen Orte x Familie bzw. Orte x QTL.

Tabelle 10. Varianzanalysen der selektierten Rückkreuzungslinien (Versuchsteil I) aufgeteilt nach *Qfhs.lfl-6AL* (a) und *Qfhs.lfl-7BS* (b) für den erfassten Befall nach Sprühhinokulation mit *Fusarium culmorum*. Die Daten basieren auf den nicht adjustierten Einzelwerten der vier Umwelten 2005.

a	Fusariumbefall			
	FG ^a	M.S. ^b	F-Wert	p-Wert
Orte	3	10412	56	0,01
Wdh (Orte)	4	516	4	0,01
<i>Qfhs.lfl-6AL</i>	1	8963	11	0,02
Familie	14	1927	2	0,29
Orte x Familie	42	122	1	0,51
<i>Qfhs.lfl-6AL</i> x Familie	6	952	8	< 0,01
<i>Qfhs.lfl-6AL</i> x Orte	3	39	0,3	0,81
Fehler	446	125		

b	Fusariumbefall			
	FG ^a	M.S. ^b	F-Wert	p-Wert
Orte	3	11584	72,6	0,01
Wdh (Orte)	4	444,0	3,2	0,01
<i>Qfhs.lfl-7BS</i>	1	9327,6	13,3	0,02
Familie	12	2129,8	1,9	0,25
Orte x Familie	36	143,0	1,0	0,40
<i>Qfhs.lfl-7BS</i> x Familie	5	847,5	6,2	< 0,01
<i>Qfhs.lfl-7BS</i> x Orte	3	41,0	0,3	0,83
Fehler	471	136,9		

^a Freiheitsgrade, ^b mittleres Fehlerquadrat

Die Korrelationskoeffizienten für den erfassten Befall zwischen den vier Umwelten lagen zwischen 0,68 und 0,80 ($p < 0,01$), für die Wuchshöhe zwischen 0,87 und 0,90 ($p < 0,01$), und für den Zeitpunkt des Ährenschiebens zwischen 0,77 und 0,79 ($p < 0,01$).

Die Heritabilität im weiteren Sinn war für alle erfassten Merkmale hoch. Sie lag für den Befall bei $H^2 = 0,91$ (95%-iges Konfidenzintervall 0,86-0,93), für die Wuchshöhe bei $H^2 = 0,97$ (0,95-0,98), und für den Zeitpunkt des Ährenschiebens bei $H^2 = 0,94$ (0,92-0,96).

Alle im Folgenden dargestellten Ergebnisse basieren auf den Mittelwerten über die vier Umwelten. Die Kreuzungseltern Dream und Lynx differenzierten deutlich bezüglich des Fusariumbefalls und der Halmlänge. Dream hatte einen durchschnittlichen Befall von 13% während der anfällige Elter Lynx einen mittleren Befall von 63% aufwies. Lynx hatte eine Wuchshöhe von 68 cm und war damit im Vergleich zu Dream um 26 cm kürzer. Lynx kam lediglich einen Tag früher zum Ährenschieben als Dream. Keine der Rückkreuzungslinien erreichte das Resistenzniveau von Dream (Abbildung 15). Zwei Linien ohne Resistenzallel zeigten ein Befallsniveau, das in etwa dem anfälligen Elter Lynx entsprach. Jedoch wies keiner der selektierten Genotypen einen stärkeren Befall als Lynx auf. Die Rückkreuzungslinien variierten bezüglich des Fusariumbefalls von 18-63%, bezüglich der Wuchshöhe von 68-98 cm und bezüglich des Ährenschiebens von 155-163 Tage ab dem 1. Januar.

Die beiden von Dream stammenden Resistenzallele hingen signifikant mit einem niedrigeren Befallsniveau zusammen im Vergleich zur Markerklasse mit den von Lynx stammenden anfälligen Allelen. *Qfhs-lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS* reduzierten den relativen Befall um jeweils 16% im Vergleich zur anfälligen Markerklasse ohne Resistenzallel (Abbildung 15). Beide QTL hatten außerdem einen Einfluss auf die Wuchshöhe. *Qfhs-lfl-6AL* führte zu durchschnittlich 8 cm höheren Pflanzen, *Qfhs.lfl-7BS* steigerte die Halmlänge um 6 cm. Ein Effekt der beiden QTL auf den Zeitpunkt des Ährenschiebens konnte nicht festgestellt werden. Die phänotypische Variation innerhalb der Markerklassen war relativ hoch (Abbildung 15). Außerdem zeigte der Großteil der Rückkreuzungslinien mit einem der beiden Resistenz-QTL eine deutlich niedrigere Anfälligkeit als der rekurrente Elter Lynx.

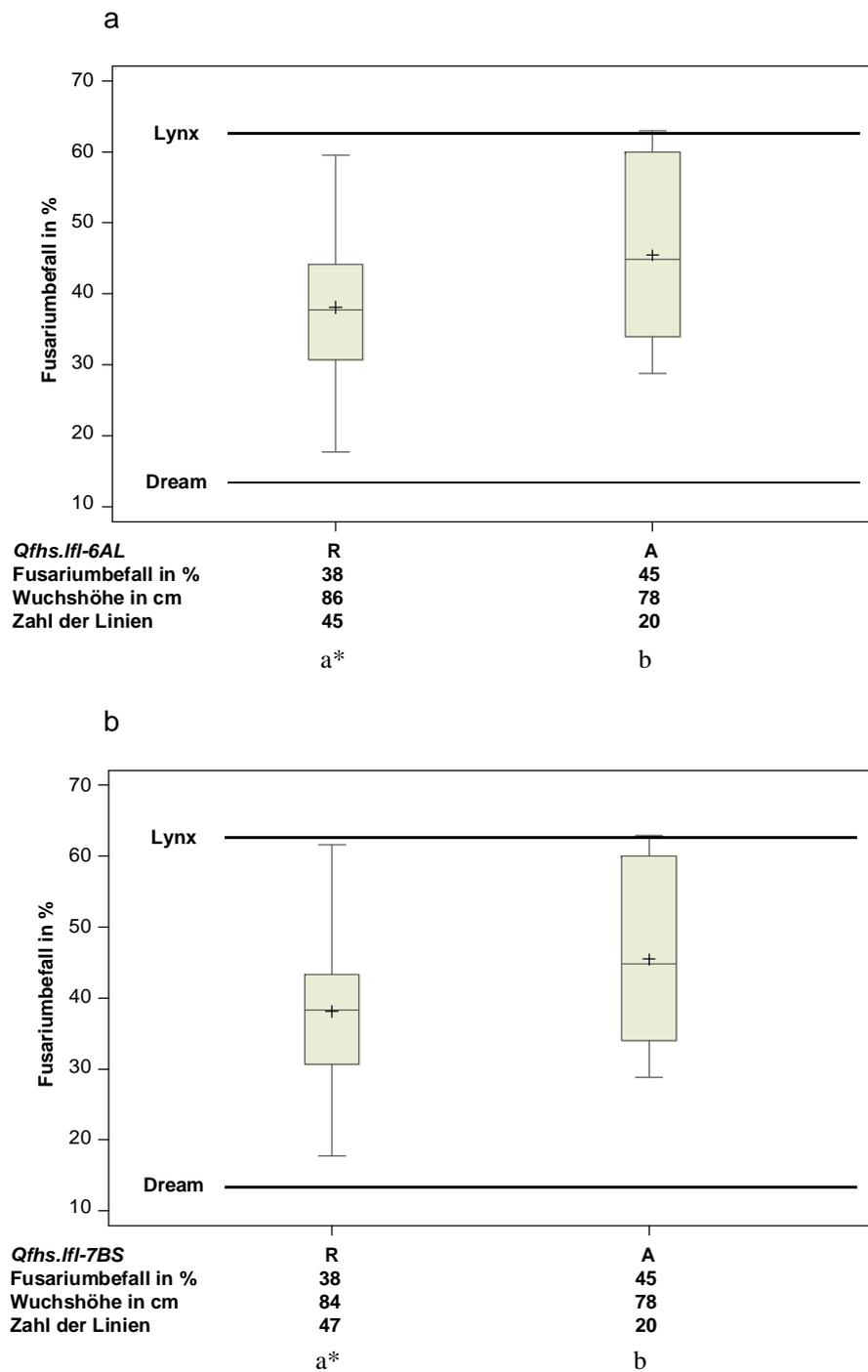


Abbildung 15. Boxplot-Verteilungen der zwei Markerklassen mit den anfälligen (A) oder den resistenten (R) Allelen von *Qfhs.lfl-6AL* (a) und *Qfhs.lfl-7BS* (b). Die Daten basieren auf den Mittelwerten über die vier Umwelten 2005. Durchgezogene Linien: Median, +: Mittelwerte. * Verschiedene Buchstaben weisen auf signifikante Unterschiede nach einem multiplen Mittelwertvergleich hin (SCHEFFÉ-Test, $p < 0,05$).

3.3.2. QTL-Validierung – Versuchsteil II

Im Folgenden werden zunächst die Ergebnisse der Rückkreuzungslinien ohne Rekombinationen im QTL-Intervall dargestellt.

Die Varianzanalyse für den erfassten Befall bestätigte die signifikanten Effekte der beiden Haupt-QTL *Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS* (Tabelle 11). Der QTL auf Chromosom 2BL hatte keinen signifikanten Effekt auf den Befall und wurde deshalb im Weiteren von der Varianzanalyse ausgeschlossen. Signifikante Varianzen wurden außerdem für Orte, Wiederholung innerhalb der Orte, Familien sowie für die Interaktionen *Qfhs.lfl-6AL* x *Qfhs.lfl-7BS*, Orte x Familie und Orte x *Qfhs.lfl-7BS* gefunden. Für die Interaktionen *Qfhs.lfl-6AL* x Familie, *Qfhs.lfl-7BS* x Familie bzw. Orte x *Qfhs.lfl-6AL* ergaben sich dagegen keine signifikanten Varianzen.

Tabelle 11. Varianzanalyse der selektierten Rückkreuzungslinien (Versuchsteil II) für den erfassten Befall nach Sprühinokulation mit *Fusarium culmorum*. Die Daten basieren auf den nicht adjustierten, log-transformierten Einzelwerten der drei Umwelten 2005.

Fusariumbefall				
	FG ^a	M.S. ^b	F-Wert	p-Wert
Orte	2	13	10	0,01
Wdh (Orte)	3	1	6	0,01
<i>Qfhs.lfl-6AL</i>	1	4	13	0,02
<i>Qfhs.lfl-7BS</i>	1	3	5	0,03
<i>Qfhs.lfl-6AL</i> x <i>Qfhs.lfl-7BS</i>	1	1	6	0,02
Familie	2	4	9	0,03
Orte x Familie	4	1	4	0,01
<i>Qfhs.lfl-6AL</i> x Familie	2	0,2	1	0,34
<i>Qfhs.lfl-7BS</i> x Familie	2	0,4	2	0,17
Orte x <i>Qfhs.lfl-6AL</i>	2	0,4	2	0,12
Orte x <i>Qfhs.lfl-7BS</i>	2	1	4	0,03
Fehler	709	0,2		

^a Freiheitsgrade, ^b mittleres Fehlerquadrat

Die Korrelationskoeffizienten für den erfassten Befall zwischen den drei Umwelten lagen zwischen 0,70 und 0,79 ($p < 0,01$), für die Wuchshöhe zwischen 0,85 und 0,92 ($p < 0,01$), und für den Zeitpunkt des Ährenschiebens bei 0,90 ($p < 0,01$).

Die Heritabilität im weiteren Sinn war für alle erfassten Merkmale hoch. Sie lag für den Befall bei $H^2 = 0,82$ (0,78-0,85 bei $p = 0,95$), für die Wuchshöhe bei $H^2 = 0,94$ (0,93-0,95), und für den Zeitpunkt des Ährenschiebens bei $H^2 = 0,91$ (0,88-0,93).

Alle im Folgenden dargestellten Ergebnisse basieren auf den Mittelwerten über die drei Umwelten. Die Kreuzungseltern differenzierten auch in diesem Versuchsteil deutlich bezüglich des Fusariumbefalls und der Halmlänge. Dream hatte einen durchschnittlichen Befall von 10% während der anfällige Elter Lynx einen mittleren Befall von 60% aufwies. Lynx hatte eine Wuchshöhe von 70 cm und war damit im Vergleich zu Dream um 27 cm kürzer. Außerdem kam Lynx zwei Tage früher zum Ährenschieben als Dream.

Die Rückkreuzungslinien zeigten hinsichtlich des Fusariumbefalls eine kontinuierliche Verteilung, die jedoch stark linksschief war (Abbildung 16). Eine Linie mit beiden positiven QTL-Allelen (*Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS*) erreichte das Resistenzniveau des Kreuzungselters Dream. Zwei Linien (eine ohne QTL-Allel und eine mit QTL-Allel *Qfhs.lfl-6AL*) zeigten ein höheres Befallsniveau verglichen mit dem anfälligen Elter Lynx. Die Rückkreuzungslinien variierten in diesem Versuchsteil bezüglich des Fusariumbefalls von 8-68%, bezüglich der Wuchshöhe von 69-114 cm und bezüglich des Ährenschiebens von 157-166 Tagen ab dem 1. Januar.

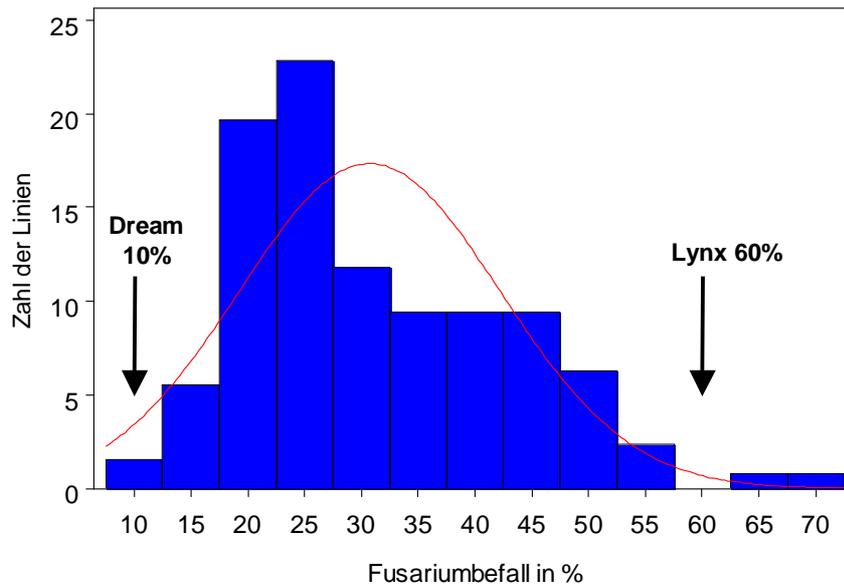


Abbildung 16. Häufigkeitsverteilung der Befallsmittelwerte der Rückkreuzungslinien für den Versuchsteil II der QTL-Validierung. Das Befallsniveau der Eltern ist durch Pfeile gekennzeichnet.

Die beiden von Dream stammenden Resistenzallele hingen signifikant mit einem niedrigeren Befallsniveau zusammen im Vergleich zur Markerklasse mit den von Lynx stammenden anfälligen Allelen. In diesem Versuchsteil reduzierten *Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS* den relativen Befall um jeweils 27% im Vergleich zur anfälligen Markerklasse ohne Resistenzallele, beide QTL in Kombination führten zu einem durchschnittlich 36% niedrigeren Befall (Abbildung 17). Außerdem führte die Kombination beider Resistenzallele zu einer signifikant höheren Resistenz als das Resistenzallel *Qfhs.lfl-6AL* alleine. Beide Resistenzallele hatten einen Einfluss auf die Wuchshöhe. Dabei führte *Qfhs.lfl-6AL* zu durchschnittlich 14 cm höheren Pflanzen, während *Qfhs.lfl-7BS* die Wuchshöhe um durchschnittlich 9 cm vergrößerte. Genotypen, die beide Resistenzallele kombiniert aufwiesen, waren im Vergleich zur anfälligen Markerklasse um durchschnittlich 16 cm höher (Abbildung 17). Bezüglich dem Zeitpunkt des Ährenschiebens konnte kein Unterschied zwischen den vier Markerklassen gefunden werden. Die phänotypische Variation innerhalb der vier Markerklassen war relativ hoch (Abbildung 17). Der Befall von Linien mit *Qfhs.lfl-6AL* war über den gesamten Bereich zwischen den beiden Eltern Dream und Lynx verteilt.

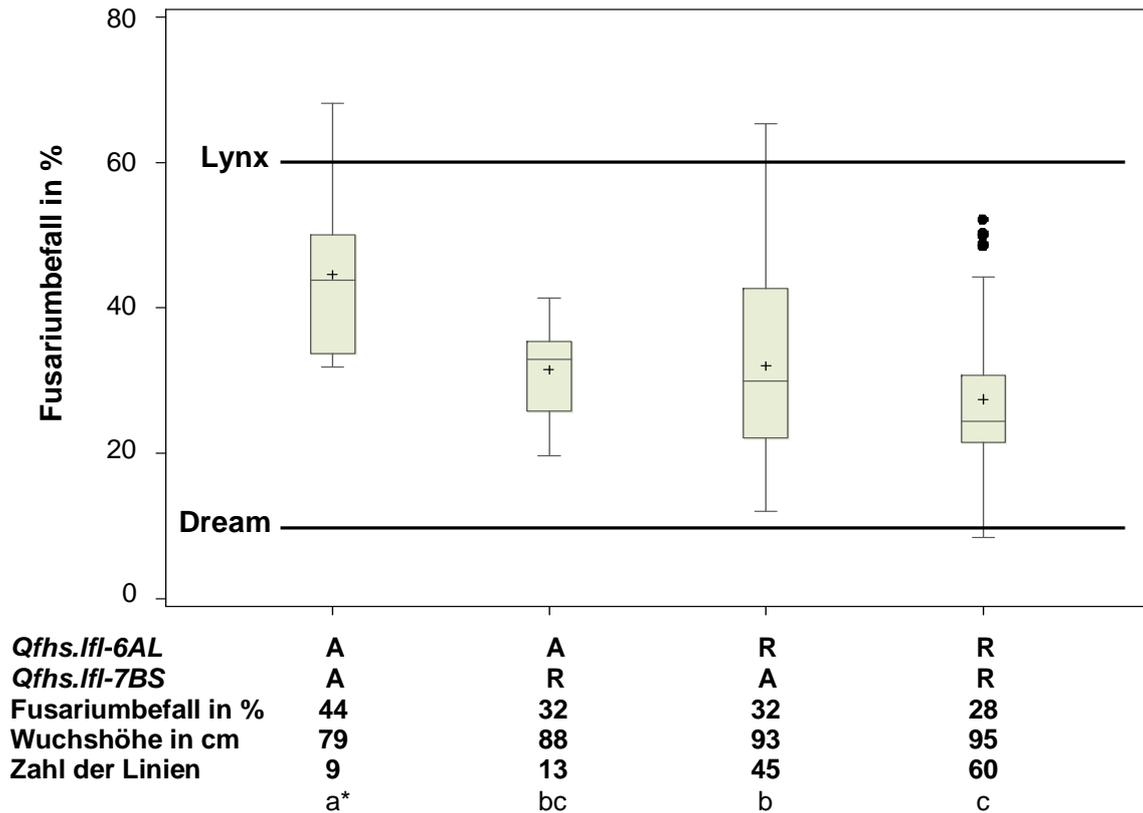


Abbildung 17. Boxplot-Verteilungen der vier Markerklassen mit den anfälligen (A) und/oder den resistenten (R) Allelen von *Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS*. Die Daten basieren auf den Mittelwerten über die drei Umwelten 2005. Durchgezogene Linien: Median, +: Mittelwerte. * Verschiedene Buchstaben weisen auf signifikante Unterschiede nach einem multiplen Mittelwertvergleich hin (SCHEFFÉ-Test, $p < 0,05$).

Der Großteil der Rückkreuzungslinien mit mindestens einem der beiden Resistenz-QTL zeigte eine deutlich niedrigere Anfälligkeit als der Kreuzungselter Lynx (Abbildungen 17 und 18). Beim Auftragen des Befalls in Abhängigkeit der Wuchshöhe zeigte sich, dass unter den Rückkreuzungslinien auch Genotypen mit mindestens einem der beiden Resistenz-QTL waren, die sich durch eine gute Fusariumresistenz bei gleichzeitig akzeptabler Halmlänge auszeichneten (Abbildung 18, markierte Linien). Außerdem waren auch einige Linien darunter, die bezüglich ihres Befalls und ihrer Wuchshöhe im Bereich der zugelassenen Sorten Solitär und Petrus lagen.

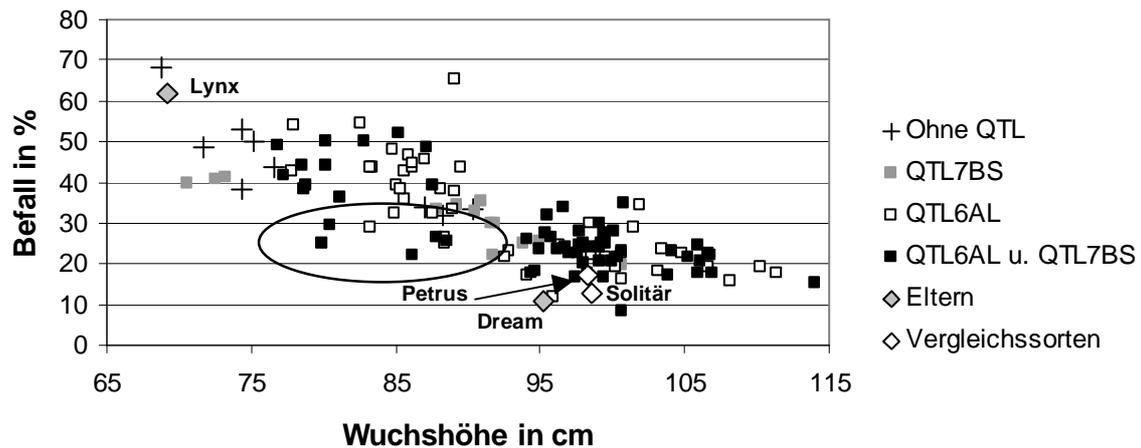


Abbildung 18. Fusariumbefall in Abhängigkeit der Wuchshöhe aufgeteilt entsprechend der vier Markerklassen mit den anfälligen und/oder resistenten Allelen von *Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS* inklusive Kreuzungseltern und Sorten als Vergleich (Solitär, Petrus). Linien, die bei guter Fusariumresistenz gleichzeitig eine akzeptable Halmlänge aufweisen, sind durch einen schwarzen Kreis markiert. Die Daten basieren auf den Mittelwerten über die drei Umwelten 2005.

Unter den Rückkreuzungslinien des Versuchsteils II waren auch 23 Linien, die innerhalb des QTL-Intervalls von *Qfhs.lfl-7BS* Rekombinationen aufwiesen. Diese wurden im Folgenden separat ausgewertet. Von den 23 Linien entsprachen sieben Linien bezüglich Marker P70M56-237 dem resistenten Elter Dream und bezüglich der Marker GWM46 und BARC72 dem anfälligen Elter Lynx (Abbildung 19). Diese werden im Folgenden als R – A Rekombinante bezeichnet. Bei weiteren 16 Linien entsprach dagegen P70M56-237 dem anfälligen Elter Lynx, und GWM46 sowie BARC72 dem resistenten Elter Dream, weshalb sie als A – R Rekombinante bezeichnet werden. Neben dem bereits oben genannten signifikanten Unterschied zwischen der anfälligen Gruppe ohne Resistenzallel und der Gruppe mit Resistenzallel auf Chromosom 7BS, zeigten sich auch bei den beiden Gruppen rekombinanter Linien Abstufungen bezüglich des Fusariumbefalls. So wies die Gruppe der R – A Rekombinanten einen durchschnittlichen Befall von 38% und die der A – R Rekombinanten einen durchschnittlichen Befall von 31% auf (Abbildung 19). Allerdings waren diese Abstufungen weder untereinander noch im Vergleich mit der anfälligen und/oder der resistenten Markerklasse signifikant.

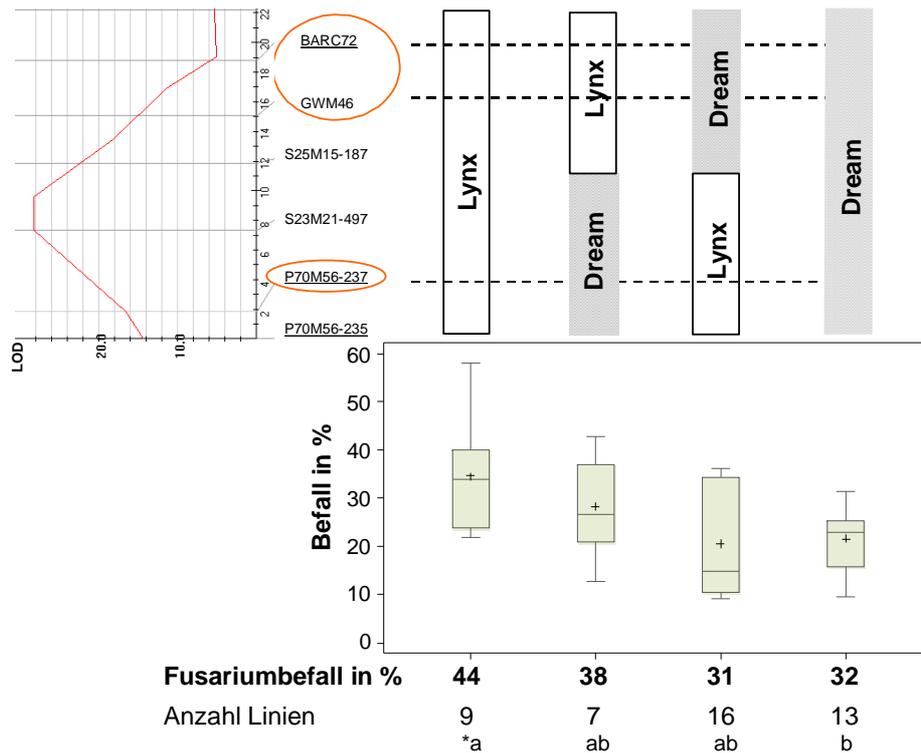


Abbildung 19. Subpopulation von Linien, die im QTL-Intervall *Qfhs.lfl-7BS* Rekombinationen aufweisen. Oben: LOD-Kurve von Chromosom 7BS (für die Selektion verwendete Marker sind markiert) und schematische Darstellung der vier Markerklassen. Unten: Boxplot-Verteilungen der beiden Gruppen rekombinanter Linien (R – A bzw. A – R) im Vergleich mit der anfälligen (A) und resistenten (R) Markerklasse. Die Daten basieren auf den Mittelwerten über die drei Umwelten 2005. Durchgezogene Linien: Median, +: Mittelwerte. * Verschiedene Buchstaben weisen auf signifikante Unterschiede nach einem multiplen Mittelwertvergleich hin (SCHEFFE-Test, $p < 0,05$).

3.4. ESTs für Pathogenabwehr in wichtigen QTL-Regionen

Für das von Dream stammende Resistenzallel *Qfhs.lfl-7BS* (GWM46, BARC72) sowie für die von Ning8026 stammenden Allele auf den Chromosomen 5BL/7BS (GWM335, BARC72) und 6BS (GWM88) wurde unter Verwendung der GrainGenes Datenbank die Lokalisierung der genannten SSR-Marker in einer Deletionskarte des Weizens ermittelt. Es konnten in allen vier Bereichen (7BS1-0,27-1,00; 7BL2-0,33-0,63; 5BL6-0,29-0,55; 6BL3-0,36) der „Chinese Spring“ basierten Deletionskarte

ESTs identifiziert werden, die auf Aminosäureebene Ähnlichkeit mit Proteinen zeigten, die mit der Stress- und Krankheitsabwehr sowie mit der Aktivierung von Proteinen in Verbindung gebracht werden könnten (Tabelle 12). So konnten beispielsweise im Bereich 7BS1-0,27-1,00 (XGWM46) zwei ESTs gefunden werden, die in der BLASTX-Abfrage eine Homologie (E-Werte $1 \times e^{-81}$ bzw. $3 \times e^{-67}$) zum Hitzeschockprotein 80 von Weizen (*Triticum aestivum*) aufwiesen. Im selben Bereich lag auch ein EST, der Ähnlichkeit ($3 \times e^{-61}$) mit einem Isoflavon-Reduktase Homolog hatte, sowie ein weiterer EST, welcher Homolog ($6 \times e^{-29}$) zu einem putativen Mla1 aus *Sorghum bicolor* war. Außerdem kartierte in derselben Region ein EST, der mit einem putativen ribosomalen Protein L28 vergleichbar war ($4 \times e^{-54}$). Im Bereich 7BL2-0,33-0,63 (XBARC72) kartierten zwei ESTs, die Homologie ($1 \times e^{-68}$ bzw. $2 \times e^{-28}$) zum „Stress responsive Gene 6“ aus Gerste (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*) zeigten, sowie ein EST, der auf Aminosäureebene einem cytoplasmatischen ribosomalen Protein L18 aus Reis ähnlich war ($9 \times e^{-32}$). ESTs im Bereich 5BL6-0,29-0,55 (XGWM335) zeigten Ähnlichkeiten zu einem HR-induzierten (Hypersensitive Reaktion) Protein 3 ($2 \times e^{-91}$) aus Gerste (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*), einem ribosomalen Protein L3 ($8 \times e^{-83}$) sowie zu einem putativen Myb-Faktor aus Reis ($1 \times e^{-62}$). Auch in der Region 6BL3-0,36 lag ein EST, der einem ribosomalen Protein L6 ähnlich war. Zudem konnte eine cytosolische Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (GAPDH, $1 \times e^{-91}$) gefunden werden. In den genannten Bereichen kartierten außerdem noch einige ESTs, die auf Aminosäureebene Ähnlichkeiten zu verschiedenen Proteinkinasen zeigten (Tabelle 12).

Von den insgesamt elf ESTs, die untersucht wurden (Tabelle 5), ergaben sich nach Gradienten-PCRs mit den Kreuzungseltern (Dream, Lynx, Pelikan, G93010) für sechs ESTs (BG314518, BE591190, BE499843, BE423964, BE494381, BE498480; Tabelle 12) eindeutige Fragmente, die nachfolgend sequenziert wurden. Nach einem Vergleich mit den ursprünglichen EST-Sequenzen stellte sich heraus, dass bei drei ESTs (BE499843, BE423964, BE498480) jeweils falsche Bereiche amplifiziert wurden, die nicht mit den Sequenzen der Datenbank übereinstimmten. Bei den verbleibenden drei ESTs (BG314518, BE591190, BE494381) ergab sich eine fast 100%-ige Übereinstimmung mit den ursprünglichen EST-Sequenzen, wobei zwischen den genannten Kreuzungseltern keine SNPs detektiert werden konnten (Daten nicht gezeigt), sodass

letztendlich keine ESTs kartiert werden konnten. Die Länge der sequenzierten Bereiche betrug bei BG314518 450 bp, bei BE591190 444 bp und bei BE494381 448 bp.

Tabelle 12. EST-Datenbankrecherche. Angegeben ist die Lokalisierung der SSR-Marker in der „Chinese Spring“ basierten Deletionskarte sowie die Akzessionen der in diesen Bereichen kartierten ESTs. Die Sequenzen der ESTs wurden für eine BLASTX-Abfrage verwendet, um eine Ähnlichkeit auf Aminosäureebene mit Proteinen festzustellen, die möglicherweise in Stress- und Abwehrreaktionen sowie in die Aktivierung von Proteinen involviert sein könnten (E-Wert < 10^{-5}).

Chromosom	SSR	Lokalisierung	EST-Akzession	BLASTX E-Wert	BLASTX Kandidat
7B	GWM46	7BS1-0,27-1,00	BE422954	1 x e ⁻⁸¹	Hitzeschockprotein 80 (<i>Triticum aestivum</i>)
7B	GWM46	7BS1-0,27-1,00	BF474966	9 x e ⁻⁹²	Proteinkinase cdc2 Homolog (<i>Oryza sativa</i>)
7B	GWM46	7BS1-0,27-1,00	BG314518	3 x e ⁻⁶⁷	Hitzeschockprotein 80 (<i>Triticum aestivum</i>)
7B	GWM46	7BS1-0,27-1,00	BE405060	6 x e ⁻⁵⁸	Proteinkinase Homolog (<i>Oryza sativa</i>)
7B	GWM46	7BS1-0,27-1,00	BE405059	2 x e ⁻⁵⁸	Putative Serine/Threonin-Kinase (<i>Sorghum bicolor</i>)
7B	GWM46	7BS1-0,27-1,00	BE399570	2 x e ⁻⁴⁷	Serin/Threonin Protein Phosphatase PP1
7B	GWM46	7BS1-0,27-1,00	BE590566	3 x e ⁻⁶¹	Isoflavon Reduktase Homolog
7B	GWM46	7BS1-0,27-1,00	BG314331	3 x e ⁻²⁹	Putative Proteinkinase (<i>Oryza sativa</i>)
7B	GWM46	7BS1-0,27-1,00	BE591190	6 x e ⁻²⁹	Putatives Mla1 (<i>Sorghum bicolor</i>)
7B	GWM46	7BS1-0,27-1,00	BF423133	4 x e ⁻⁵⁴	Putatives ribosomales Protein L28 (<i>Oryza sativa</i>)
7B	BARC72	7BL2-0,33-0,63	BF474746	1 x e ⁻⁶⁸	Stress Responsive Gene 6 Protein (<i>Hordeum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>)
7B	BARC72	7BL2-0,33-0,63	BF201560	2 x e ⁻²⁸	Stress Responsive Gene 6 Protein (<i>Hordeum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>)
7B	BARC72	7BL2-0,33-0,63	BE498538	2 x e ⁻⁸⁹	Serin/Threonin Protein Phosphatase PP2A-3
7B	BARC72	7BL2-0,33-0,63	BF429451	7 x e ⁻²⁴	Putative Glucosyl-Transferase (<i>Oryza sativa</i>)
7B	BARC72	7BL2-0,33-0,63	BE423275	9 x e ⁻³²	Cytoplasmatisches ribosomales Protein L18 (<i>Oryza sativa</i>)
5B	GWM335	5BL6-0,29-0,55	BE405060	6 x e ⁻⁵⁸	Proteinkinase Homolog (<i>Oryza sativa</i>)
5B	GWM335	5BL6-0,29-0,55	BE499843	2 x e ⁻⁹¹	Hypersensitive Reaktion induziertes Protein 3 (<i>Hordeum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>)
5B	GWM335	5BL6-0,29-0,55	BE423964	8 x e ⁻⁸³	Ribosomales Protein L3
5B	GWM335	5BL6-0,29-0,55	BF145701	1 x e ⁻⁶²	Putativer Myb-Faktor (<i>Oryza sativa</i>)
6B	GWM88	6BL3-0,36	BE494381	6 x e ⁻⁶⁷	Prohibitin (<i>Zea mays</i>)
6B	GWM88	6BL3-0,36	BE425967	3 x e ⁻⁸⁸	Putative Proteinkinase (<i>Arabidopsis thaliana</i>)
6B	GWM88	6BL3-0,36	BE498480	1 x e ⁻⁹¹	Cytosolische Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase GAPDH (<i>Triticum aestivum</i>)
6B	GWM88	6BL3-0,36	BE489896	2 x e ⁻⁸²	Proteinkinase MK5 (<i>Mesembryanthemum crystallinum</i>)
6B	GWM88	6BL3-0,36	BE518064	3 x e ⁻⁴⁸	Ribosomales Protein L6

4. Diskussion

4.1. Pelikan//Bussard/Ning8026-Kartierungspopulation

4.1.1. Phänotypische Daten der Population

Eine Fragestellung der vorliegenden Arbeit bestand darin, weitere genetische Erkenntnisse über die Vererbung der an der Fusariumresistenz beteiligten Gene in einer an das hiesige Klima adaptierten Winterweizenpopulation zu gewinnen. Die Häufigkeitsverteilung der Linien (Abbildung 5) spricht für eine quantitative Vererbung der Resistenz, an der mehrere Gene mit vergleichsweise geringen Effekten beteiligt sind. Von einer kontinuierlichen Häufigkeitsverteilung der Krankheitssymptome wurde auch in anderen Studien berichtet (Gervais et al., 2003; Shen et al., 2003a; Paillard et al., 2004; Schmolke et al., 2005). Diese deuten darauf hin, dass die Resistenz in europäischem Winterweizen von mehreren QTL mit geringerer Wirkung vererbt wird. Im Gegensatz dazu wird die Resistenz bei exotischen Resistenzquellen aus Asien (Sumai 3, Wangshuibai) von wenigen Loci mit vergleichsweise großen Effekten und einigen Genorten mit geringeren Effekten hervorgerufen (Buerstmayr et al., 2000; Jia et al., 2005). Transgression in Richtung resistenterer Genotypen wurde in der vorliegenden Population nicht gefunden. Lediglich zwei Linien zeigten eine höhere Anfälligkeit als der Elter Pelikan. Eine transgressive Spaltung der Linien in Richtung anfälligerer Genotypen wurde beispielsweise auch in der Renan/Recital (Gervais et al., 2003), der Arina/Forno (Paillard et al., 2004) sowie der Dream/Lynx-Population (Schmolke et al., 2005) beobachtet.

Die Feldversuche wurden in vier Umwelten durchgeführt, wobei die Fusariuminfektion mittels Sprühinokulation mit einem Gemisch aus zwei hoch aggressiven *Fusarium culmorum*-Isolaten hervorgerufen wurde, was in hohen Heritabilitäten sowie hohen Korrelationskoeffizienten für den Befall zwischen den Umwelten resultierte. Dies deutet insgesamt auf eine gute Reproduzierbarkeit der phänotypischen Daten hin. Ähnlich hohe Befalls-Heritabilitäten wie die in der vorliegenden Arbeit, wurden auch in anderen Studien nach Sprühinokulation gefunden (El-Badawy, 2001; Schmolke et al., 2005; Klahr et al., 2007).

Es ergaben sich in der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population hochsignifikante negative Korrelationen zwischen dem Zeitpunkt des Ährenschiebens und dem Befall sowie zwischen der Wuchshöhe und dem Befall. Signifikante Korrelationen zwischen dem Befall und dem Zeitpunkt des Ährenschiebens bzw. dem Befall und der Wuchshöhe nach Sprühinokulation wurde in zahlreichen Arbeiten festgestellt (Hilton et al., 1999; El-Badawy, 2001; Gervais et al., 2003; Somers et al., 2003; Paillard et al., 2004; Schmolke et al., 2005). Dagegen wurde beispielsweise in der Wangshuibai/Nanda2419-Population (Lin et al., 2006) nur in einer von vier Umwelten eine schwache Korrelation zwischen dem Befall und dem Zeitpunkt des Ährenschiebens gefunden. In der Cansas/Ritmo-Population (Klahr et al., 2007) ergaben sich ebenfalls nur in einzelnen Umwelten Korrelationen zwischen dem Befall und dem Zeitpunkt des Ährenschiebens bzw. dem Befall und der Wuchshöhe, die, verglichen mit der vorliegenden Arbeit, deutlich geringer ausfielen. Ob zwischen einzelnen Merkmalen Korrelationen auftreten, hängt aber auch davon ab, wie stark sich die Eltern und somit auch die Nachkommen bezüglich der erfassten Merkmale unterscheiden. So war der resistente Elter G93010 durchschnittlich 20 cm länger und blühte 6 Tage später als der anfällige Elter Pelikan (Tabelle 8). Dagegen unterschieden sich beispielsweise Cansas und Ritmo bezüglich der Halmlänge lediglich um 7 cm und bezüglich des Blühzeitpunktes um einen Tag (Klahr et al., 2007).

4.1.2. Genetische Kartierung der Population

Das Grundgerüst der genetischen Karte wurde mittels AFLP-Markern erstellt. Diese zeichnen sich durch einen hohen Polymorphiegrad aus, wodurch ohne vorherige Sequenzinformation eine schnelle Absättigung der Kopplungsgruppen ermöglicht wird. Mikrosatelliten-Marker erlauben dagegen die Zuordnung der Kopplungsgruppen zu spezifischen Chromosomen, da diese oftmals genortspezifisch sind. Bei mehreren SSR-Markern pro Kopplungsgruppe kann zudem anhand von veröffentlichten Chromosomenkarten (Röder et al., 1998, GrainGenes Datenbank) die Orientierung der entsprechenden Gruppe festgelegt werden. Aber auch die AFLP-Analysen der nullitetrasomen Linien sowie die Vergleiche mit AFLP-Markern, die in den genetischen Karten der ebenfalls an der LfL untersuchten Populationen Apache/Biscay und Romanus/Pirat aufgrund von Kopplungen mit Mikrosatelliten-Markern bestimmten Chromosomenbereichen eindeutig zuzuordnen waren (Holzapfel, LfL, pers. Mitteilung), trugen dazu bei, dass lediglich eine der 54 Kopplungsgruppe keinem Chromo-

som zugewiesen werden konnte. Der Polymorphiegrad der getesteten Mikrosatelliten-Marker betrug 44% und lag somit im mittleren Bereich verglichen mit den Ergebnissen aus anderen Studien (Röder et al., 1995; El-Badawy, 2001; Paillard et al., 2003; Schmolke et al., 2005). Dies lässt sich dadurch erklären, dass der genetische Hintergrund der RILs zu 75% aus Sorten (Pelikan, Bussard) besteht, die aufgrund der Selektion unter ähnlichen klimatischen Bedingungen im Laufe des Züchtungsprozesses oftmals eine enge genetische Basis und somit einen niedrigen Polymorphiegrad aufweisen.

Dass für die Berechnung der genetischen Karte von den 337 polymorphen AFLP-Markern letztendlich nur 196 verwendet wurden, lag unter anderem an der Bildung von Markerclustern auf einigen Kopplungsgruppen. Marker, die in einem engen Bereich clustern, liefern keine zusätzliche genotypische Information, so dass in der Regel die Berücksichtigung eines Markers pro Cluster ausreicht. Hierzu zählte neben den Centromerregionen der Chromosomen, in denen sich Marker tendenziell häufen (Gale et al., 1995; Blanco et al., 1998), vor allem die Kopplungsgruppe von Chromosom 1B mit der T1BL.1RS-Weizen-Roggen-Translokation (Abbildung 7). Die 1BL.1RS-Translokation wurde vom resistenten Elter G93010 (Bussard/Ning8026) vererbt, wobei der Marker IAG95 und alle eng gekoppelten Marker signifikant vom erwarteten Spaltungsverhältnis von 1:1 abwichen. Nur etwa 38% der Linien trugen die Translokation. Dies stimmt mit den Beobachtungen von Schmolke (2004) überein. In dieser Arbeit war der anfällige Elter Lynx Träger der 1BL.1RS-Translokation. Die Linien der Dream/Lynx-Kartierungspopulation spalteten bezüglich dem Marker IAG95 ebenfalls schief, wobei auch dort nur etwa 1/3 der Genotypen die Translokation aufwiesen. Ein weiteres Markercluster bildete sich auf Chromosom 5BL/7BS. Da die beiden Chromosomenarme 5BL und 7BS eine Kopplungsgruppe formten (Abbildung 7), ist davon auszugehen, dass es sich hier ebenfalls um eine Translokation handelt. Miura et al. (1992) erläutern, dass in vielen europäischen Winterweizensorten Chromosom 5B oftmals in Form einer Translokation vorliegt (5BL/7BL, 5BL/7BS). Auch bei der von El-Badawy (2001) untersuchten Kartierungspopulation (Apollo x Sagvari/NobeokaBozu//MiniMano/ Sumai3) scheint die 5BL/7BS-Translokation vorzuliegen. In den genannten Bereichen mit hoher Markerdichte wurden jeweils nur die qualitativ besten AFLP-Marker für die Erstellung der genetischen Karte sowie für die anschließende QTL-Analyse berücksichtigt.

Der Umfang der genetische Karte betrug in der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population ungefähr 1100 cM. Klahr et al. (2007) erstellten in der Cansas/Ritmo-Population eine genetische Karte, die insgesamt etwa 1200 cM umfasste und somit in einer vergleichbaren Größenordnung liegt. Zahlreiche genetische Karten umfassen jedoch fast das komplette Weizengenom. Zu nennen ist hier beispielsweise die ITMI (International Triticeae Mapping Initiative)-Karte (<http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml>), die 3000 cM umfassende Arina/Forno-Karte (Paillard et al., 2003) oder die von Somers et al. (2004) entwickelte Konsensuskarte, die einen Gesamtumfang von ca. 2500 cM aufweist. Quarrie et al. (2005) veröffentlichten eine Karte, die auf einer Chinese Spring/SQ1-Population basiert und ca. 3500 cM umfasst. Der geringere Umfang der vorliegenden Karte im Vergleich mit den oben genannten Karten lässt sich auch dadurch erklären, dass bei der Markerverrechnung der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population aufgrund einer hohen Zahl an anonymen AFLP-Markern eine relativ konservative Strategie gewählt wurde. In anderen Karten wurden teilweise größere Lücken, insbesondere zwischen SSR-Markern, mit Hilfe von Referenzkarten überbrückt und in die Verrechnung miteinbezogen, was den Gesamtumfang der Karte insgesamt erhöht. Anders als in einigen früheren Studien (El-Badawy, 2001; Schmolke et al., 2005; Klahr et al., 2007) waren in der vorliegenden Arbeit alle Chromosomen zumindest teilweise durch mindestens eine Kopplungsgruppe vertreten (Abbildung 7). Dabei hatte das D-Genom annähernd die gleiche Länge wie das A-Genom, jedoch war die Zahl der Marker für das D-Genom (55) deutlich niedriger als die für das A-Genom (74). Am besten war das B-Genom mit einer Länge von 442 cM und 134 kartierten Markern abgedeckt. Diese Beobachtungen stimmen sehr gut mit denen von anderen Autoren überein (El-Badawy, 2001; Quarrie et al., 2005).

Der Einzug neuer Markertechnologien (z. B. Diversity Arrays Technology; DArT) wird dafür sorgen, dass Kartierungspopulationen zukünftig innerhalb kürzester Zeit genotypisiert sein werden. Ursprünglich wurde DArT für Reis entwickelt, jedoch erfolgte nach und nach die Ausdehnung auf insgesamt 19 Pflanzenarten inklusive Gerste. Akbari et al. (2006) demonstrierten, dass diese Technologie auch bei polyploiden Arten mit großem Genom wie es beim Weizen der Fall ist, sehr effektiv zur Genotypisierung eingesetzt werden kann. Dabei schnitt DArT im Vergleich mit anderen Markersystemen, was den Informationsgehalt sowie die Qualität betrifft, genauso gut ab wie eine Kombination aus SSR-, RFLP- und AFLP-Markern.

4.1.3. Kartierung von Resistenz-QTL gegen Ährenfusariosen und Überlappungen mit QTL für morphologische Merkmale

In der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population konnten in der multiplen Intervallkartierung sieben signifikante Resistenz-QTL identifiziert werden (Tabelle 9). Zwei Haupt-QTL lagen dabei auf den Chromosomen 5BL/7BS und 6BS, die 21% bzw. 18% der phänotypischen Varianz erklärten (Tabelle 9; Abbildung 8). Der QTL5BL/7BS kartierte im Markerintervall XBARC72 – XGWM335, wobei XBARC72 auf Chromosom 7BS und XGWM335 auf Chromosom 5BL lokalisiert ist. Wie bereits erwähnt, handelt es sich bei dieser Kopplungsgruppe vermutlich um eine relativ häufig vorkommende Translokation (Miura et al., 1992). Aufgrund der geringen Linienzahl der Population (122) und der sehr geringen Rekombinationsrate in diesem Bereich (Abbildung 7), wird es mit dem vorliegenden Material schwierig sein, zu bestimmen auf welchem Chromosomenarm (5BL oder 7BS) der QTL tatsächlich liegt. Auch in der von El-Badawy (2001) untersuchten Kartierungspopulation (Apollo x Sagvari/NobeokaBozu// MiniMano/Sumai3) fand sich ein QTL auf Chromosom 5BL/7BS, der nach Sprühhinokulation mit *F. culmorum* etwa 9% der phänotypischen Varianz erklärte. Dieser QTL kartierte in die Nähe des Markers GWM573 (Chromosom 7BS). Es könnte sich dabei um denselben QTL wie in der vorliegenden Arbeit handeln, da GWM573 vermutlich etwa 18 cM vom SSR-Marker GWM46 in Richtung des distalen Endes des kurzen Schenkels entfernt ist. Auch in der Dream/Lynx-Population konnte auf Chromosom 7BS ein Resistenz-QTL detektiert werden, der nach Sprühhinokulation 21% der phänotypischen Varianz erklärte (Schmolke et al., 2005). Dieser liegt von den SSR-Markern GWM46 und BARC72 ungefähr 8 cM bzw. 12 cM in distaler Richtung des kurzen Arms von Chromosom 7B entfernt (Abbildung 12), weshalb es sich hierbei ebenfalls um Allele eines Locus handeln könnte. Ein weiterer QTL, der einen wichtigen Beitrag zur Fusariumresistenz leistete ($R^2 = 20\%$), wurde in einer Cansas/Ritmo-Population von Klahr et al. (2007) auf Chromosom 5BL gefunden. Aufgrund der vorliegenden Daten ist allerdings keine Aussage möglich, ob sich dieser in der Nähe des Markers GWM335 befindet. Jia et al. (2005) identifizierten in einer Wangshuibai/Alondra-Population einen QTL auf Chromosom 5B (Markerintervall XGWM335 – XGWM371), der für die kombinierte Typ I/Typ II-Resistenz 11% der phänotypischen Varianz erklärte. Da der aus China stammende Ning8026 mittels Markeranalysen eindeutig als Donor des QTL5BL/7BS bestimmt werden konnte (Ab-

bildungen 9a und b), könnte es sich um denselben QTL wie in der Studie von Jia et al. (2005) handeln, da der Resistenzdonor Wangshuibai ebenfalls chinesischen Ursprungs ist.

Der zweite Haupt-QTL kartierte im Markerintervall XP75M60-536 – XP65M54-158 nahe bei XGWM88 (Abbildung 8b). Resistenzallele zuvor in ähnlichen Bereichen detektierter QTL stammten von Ning894037 bzw. Sumai 3 (Shen et al., 2003a; Yang et al., 2003). Dabei erklärte das von Ning894037 vererbte Resistenzallel auf Chromosom 6BS (Markerintervall XGWM88 – XGWM644) lediglich 4% der phänotypischen Varianz, während das von Sumai 3 kommende Allel (Marker GWM644) in kanadischem Sommerweizen (DH181/AC Foremost) nach Einzelährcheninokulation 21% der phänotypischen Varianz erklärte. Da dies in der Größenordnung der vorliegenden Arbeit liegt ($R^2 = 18\%$) könnte man vermuten, dass der hier detektierte QTL6BS ebenfalls eher mit der Typ II-Resistenz in Verbindung gebracht werden kann. Der Sumai 3-QTL auf Chromosom 6BS wurde kürzlich erfolgreich feinkartiert und wird nunmehr *Fhb2* genannt (Cuthbert et al., 2007). Bei dem von El-Badawy (2001) identifizierten QTL auf Chromosom 6BS ($R^2 = 8\%$) handelt es sich dagegen vermutlich um einen anderen QTL, da dieser in etwa 30 cM vom SSR-Marker GWM88 entfernt war. Die mögliche Übereinstimmung des QTL6BS mit den von Ning894037 und Sumai 3 stammenden Resistenzallelen auf Chromosom 6BS wird auch durch die Tatsache unterstrichen, dass das in der vorliegenden Arbeit detektierte Resistenzallel auf Chromosom 6BS eindeutig von Ning8026 vererbt wird (Abbildungen 9c und d). Yang et al. (2006) evaluierten die genetische Diversität von 36 ostasiatischen Weizenakzessionen mittels mehrerer SSR-Marker, die eng mit den beiden von Sumai 3 stammenden Resistenzallelen auf den Chromosomen 3BS und 6BS gekoppelt waren. Dabei besaß Ning8026 für die Markerloci XGWM644 und XGWM88 (Chromosom 6BS) dieselben Allele wie Sumai 3, was die höchstwahrscheinliche Übereinstimmung beider QTL abermals bestätigt. Ferner zeigte sich, dass beide in der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population detektierten Haupt-QTL entscheidend für ein gutes Resistenzniveau sind, da alle Linien, die eine geringe Anfälligkeit aufwiesen mindestens eines der beiden Resistenzallele besaßen (Abbildung 10). Somit wurde die Wirkung der QTL5BL/7BS und QTL6BS in europäischem Winterweizen bestätigt.

Neben den genannten Haupt-QTL konnten außerdem noch fünf QTL mit geringeren Effekten detektiert werden, die zwischen 2% und 8% der phänotypischen Varianz

erklärten (Tabelle 9). Davon wurden die Resistenzallele auf den Chromosomen 1AS, 5B und 6A vom anfälligen Elter Pelikan vererbt. Dass auch der anfällige Elter einen Beitrag zur Resistenz leisten kann, ist nicht ungewöhnlich und wurde auch in zahlreichen anderen Arbeiten beobachtet. Bei der von Klahr et al. (2007) evaluierten Canas/Ritmo-Population kamen die Effekte von insgesamt drei QTL vom anfälligen Elter Ritmo. Diese lagen auf den Chromosomen 1DS ($R^2 = 8\%$), 3B ($R^2 = 11\%$) und 7AL ($R^2 = 11\%$). Auch in den Dream/Lynx- und G16-92/Hussar-Populationen (Schmolke, 2004; Schmolke et al., 2005) kam der Effekt von jeweils einem Resistenz-QTL vom anfälligen Elter Lynx (Chromosom 1B-1) bzw. Hussar (Chromosom 1A-1). Schmolke (2004) vermutete, dass sich der QTL mit Resistenzallel vom anfälligen Elter Hussar wahrscheinlich auf dem kurzen Arm von Chromosom 1A befindet. Es wäre also möglich, dass es sich dabei um dieselben Allele des in der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population kartierten QTL auf Chromosom 1AS handeln könnte. Aufgrund von fehlenden gemeinsamen Markern können die beiden Kopplungsgruppen jedoch nicht miteinander verglichen werden, so dass letztendlich offen bleibt, ob es tatsächlich Allele eines Locus sind. Der Effekt des auf Chromosom 5B kartierten QTL kam ebenfalls vom anfälligen Elter Pelikan (Tabelle 9). Auch Bourdoncle und Ohm (2003) sowie Paillard et al. (2004) identifizierten auf Chromosom 5B(L) QTL, bei denen die positiven Effekte auf die Fusariumresistenz jeweils von den anfälligen Eltern Patterson bzw. Forno stammten. Auf Chromosom 7A wurden bereits zahlreiche QTL-Allele veröffentlicht (Jia et al., 2005; Klahr et al., 2007; Mardi et al., 2006), die jedoch aufgrund der vorliegenden Daten vermutlich nicht mit dem von G93010 (Bussard/Ning8026) vererbten Resistenzallel übereinstimmen. Ob es sich bei dem QTL auf Chromosom 2AL, bei dem der positive Effekt auf die Resistenz ebenfalls von G93010 herrührte, um den gleichen Locus wie bei dem von Anderson et al. (2001) identifizierten QTL handelt, bleibt aufgrund von fehlenden gemeinsamen Markern in der Karte weiter unklar.

Die erklärte phänotypische Varianz des Gesamtmodells für den Fusariumbefall betrug 57%. Von einer ähnlichen Größenordnung wird auch in zahlreichen anderen Studien berichtet (Steiner et al., 2004; Paillard et al., 2004; Schmolke et al., 2005; Klahr et al., 2007).

Zu Überlappungen von Resistenz-QTL mit QTL für die Wuchshöhe und/oder den Zeitpunkt des Ährenschiebens kam es in drei Fällen, wobei Pflanzen mit den entspre-

chenden Allelen zu einer höheren Halmlänge und einem späteren Blühzeitpunkt tendierten. So wurden beispielsweise auf Chromosom 5BL/7BS QTL für die Wuchshöhe und den Zeitpunkt des Ährenschiebens identifiziert, die allerdings in ein anderes Intervall wie der Resistenz-QTL kartierten (Tabelle 9; Abbildung 8a). Die Pflanzen waren bei Anwesenheit des Fusarium-QTL durchschnittlich 7 cm höher und kamen 2 Tage später zum Ährenschieben (Abbildung 10). Auch bei El-Badawy (2001) überlappte der Resistenz-QTL auf Chromosom 5BL/7BS jeweils mit einem QTL für die Wuchshöhe und den Zeitpunkt des Ährenschiebens. Jedoch führte die Anwesenheit dieser Allele zu einem früheren Blühzeitpunkt und einer geringeren Halmlänge, da der resistente Elter Sagvari/NobeokaBozu//MiniMano/Sumai3 kürzer war und früher blühte als der anfällige Elter Apollo. Der von Klahr et al. (2007) identifizierte QTL auf dem langen Arm von Chromosom 5B kolokalisierte ebenfalls partiell mit QTL für die Halmlänge ($R^2 = 6\%$) sowie den Zeitpunkt des Ährenschiebens ($R^2 = 11\%$). Zu einer weiteren Überlappung eines Resistenz-QTL mit einem QTL für den Blühzeitpunkt kam es in der Dream/Lynx-Kartierungspopulation auf Chromosom 7BS (Schmolke et al., 2005). Auch auf den beiden Chromosomen 2AL und 7AL kartierten sowohl QTL für Fusariumresistenz als auch für Wuchshöhe. Jedoch scheint es sich hierbei vermutlich um verschiedene Loci zu handeln, da diese jeweils in unterschiedlichen Bereichen der genannten Chromosomen lagen (Tabelle 9; Abbildung 7). In zahlreichen weiteren Studien wurde ebenfalls von Colokalisierungen zwischen Resistenz-QTL und QTL für morphologische Merkmale berichtet (Gervais et al., 2003; Schmolke et al., 2005; Klahr et al., 2007). Generell stellt sich also die Frage, ob dieses Phänomen auf einer sehr engen Kopplung zwischen verschiedenen Loci beruht oder durch pleiotrophe Effekte verursacht wird. Um dies herauszufinden, sind die im Allgemeinen für eine QTL-Kartierung verwendeten Populationen mit einer Linienzahl zwischen 100 und 300 Individuen zu klein. Es müsste also eine wesentlich größere Linienzahl untersucht werden bzw. gezielt Linien mit Rekombinationen in den QTL-Regionen entwickelt werden, um dieser Fragestellung genauer nachzugehen. In der vorliegenden Arbeit wurden jedoch auch QTL für die Halmlänge bzw. den Blühzeitpunkt detektiert, die unabhängig von der Fusariumresistenz wirken (Tabelle 9), was darauf hindeutet, dass die jeweiligen Merkmale grundsätzlich von unterschiedlichen Genen gesteuert werden. So wurde beispielsweise ein bedeutender Wuchshöhen-QTL auf dem langen Arm von Chromosom 6A identifiziert, der 28% der phänotypischen Varianz erklärte und keinerlei Einfluss auf das Resistenzniveau hatte (Tabelle 9). Au-

ßerdem zeigten die Linien mit dem Resistenzallel auf 5BL/7BS hinsichtlich der Wuchshöhe eine relativ starke Variation (Abbildung 11), so dass auch Genotypen vorhanden sind, die eine geringe Anfälligkeit mit einer akzeptablen Halmlänge kombinieren. Dies legt den Schluss nahe, dass hinsichtlich dieses QTL beide Merkmale durch eng gekoppelte Loci vererbt werden und pleiotrophe Effekte eher ausgeschlossen werden können. Diese Beobachtungen werden auch von Hilton et al. (1999) und Buerstmayr et al. (2000) bestätigt, die in ihren Studien zwar eine negative Korrelation zwischen dem Befall und der Wuchshöhe finden konnten, jedoch war es ihnen trotzdem möglich, relativ kurze resistente Genotypen zu selektieren. Zudem verzögerte der QTL 5BL/7BS den Zeitpunkt des Ährenschiebens um 2 Tage (Tabelle 9; Abbildung 10). Dies ist jedoch ein vergleichsweise geringer Effekt, wenn man bedenkt, dass alle Linien der Population eine Variation von 7 Tagen aufweisen, und der Elter G93010 (Bussard/Ning8026) im Vergleich zu Pelikan 6 Tage später blüht (Tabelle 8).

4.2. Molekulargenetische Charakterisierung der QTL-Intervalle in der Dream/Lynx-Population und Markerentwicklung

Um die QTL-Regionen auf den Chromosomen 6AL, 7BS und 2BL genauer charakterisieren zu können, wurde die bestehende genetische Karte in den genannten Bereichen erfolgreich mit zusätzlichen molekularen Markern angereichert (Abbildungen 12, 13 und 14). Dies ermöglichte die Selektion von Genotypen ohne Rekombinationen innerhalb der QTL-Regionen für die beiden Hauptexperimente der QTL-Validierung, um nachfolgend eine präzisere Schätzung der QTL-Effekte durchführen zu können. In der ursprünglichen Karte waren die drei genannten QTL-Regionen jeweils am Ende der Kopplungsgruppen lokalisiert (Schmolke et al., 2005), was eine genaue Lokalisierung des Peaks der LOD-Kurve verhinderte. Die Autoren schlussfolgerten, dass die Position der Resistenz-QTL am Ende der Kopplungsgruppen die Konsequenz der phänotypischen Selektion während des Züchtungsprozesses der resistenten Sorte Dream war, was letztendlich wenig polymorphe Regionen um die QTL-Regionen herum zur Folge hatte. Dennoch konnten alle drei oben genannten Chromosomenbereiche mittels genotypischer Pools mit mindestens zwei AFLP-Markern angereichert werden. Zusätzlich dazu konnte der SSR-Marker BARC72 in die Kopplungsgruppe von Chromosom 7BS integriert werden. Das Fehlen von polymorphen SSR-Markern

für die gewünschten Genombereiche könnte damit zusammenhängen, dass die meisten getesteten Mikrosatelliten-Marker von ESTs abgeleitet waren. EST-abgeleitete SSR-Marker zeigen im Allgemeinen einen geringeren Polymorphiegrad. Außerdem handelt es sich bei Dream und Lynx um europäische Sorten, die wiederum hauptsächlich europäische Sorten als Eltern haben und unter ähnlichen klimatischen Bedingungen selektiert wurden. Die genetische Basis beider Sorten ist also relativ eng, was auch den geringen Polymorphiegrad (30%) aller insgesamt getesteten Mikrosatelliten-Markern erklärt (Schmolke et al., 2005). Zudem waren für die genannten Regionen zum Zeitpunkt der Analysen keine weiteren öffentlich zugänglichen Mikrosatelliten-Marker verfügbar. Die Zusammenstellung der entsprechenden genotypischen Pools nach Giovannoni et al. (1991) und das anonyme AFLP-Markersystem stellten also eine geeignete Methode dar, um die Genombereiche mit weiteren Markern anzureichern.

Dass sich die beiden adaptierten Sorten Dream und Lynx auch innerhalb der QTL-Regionen auf Sequenzebene sehr ähnlich sind, zeigte auch der Versuch zwei im QTL *Qfhs.lfl-7BS* befindliche AFLP-Marker in die leichter handhabbaren STS-Marker umzuwandeln. Dafür wurden die Markerfragmente der beiden dominanten AFLP-Marker P70M56-237 und S23M21-497 (Abbildung 12) kloniert und sequenziert. Anschließend wurden Primer gelegt und die nachfolgenden PCR-Reaktionen ergaben im Falle beider AFLP-Marker monomorphe Fragmente zwischen den Eltern Dream und Lynx. Nach einer erneuten Sequenzierung resultierte aus dem erstgenannten AFLP-Marker eine 200 bp lange Sequenz und aus dem letztgenannten AFLP-Marker eine 433 bp lange Sequenz (Daten nicht gezeigt). Beide Sequenzen waren zwischen beiden Eltern vollständig monomorph und es konnten keine SNPs detektiert werden. Es wird angenommen, dass bei den beiden ursprünglichen AFLP-Markern Polymorphismen in den *PstI/MseI*- bzw. *Sse8387I/MseI*-Restriktionsstellen vorhanden gewesen sein müssen. Es besteht die Möglichkeit, mit Hilfe molekularbiologischer Methoden wie beispielsweise der TAIL-PCR (Thermal Asymmetric InterLaced) (Michiels et al., 2003) oder den entsprechenden Kits (z. B. APAGene™ Genome Walking Kit, Clontech Genome Walking Kit usw.) von bereits bekannten Sequenzen über die Restriktionsschnittstellen hinweg in die bisher unbekannt Bereiche zu gelangen. Damit könnten mögliche Sequenzunterschiede in den *PstI/MseI*- bzw. *Sse8387I/MseI*-Restriktionsstellen erfasst und zur Markerentwicklung (z. B. STS-, CAPS- oder SNP-Marker) genutzt werden.

Auch bei den sequenzierten ESTs (BG314518, BE591190, BE494381), die laut Datenbankinformationen in einer Deletionskarte des Weizens in wichtigen QTL-Regionen (7BS, 6BS) lagen, konnten auf einer Länge zwischen 444-450 bp keine SNPs zwischen den Kreuzungseltern (Dream, Lynx, Pelikan, G93010) identifiziert werden (Daten nicht gezeigt). In Mais findet man ungefähr ein bis zwei SNPs pro 100 bp (Tenailon et al., 2001), während dagegen in Reis je nach Chromosomenbereich nur drei bis vier SNPs pro 1000 bp vorkommen (Feng et al., 2002; Yu et al., 2005). Trotz der genannten Schwierigkeiten bei der Markerentwicklung für die genannten QTL-Regionen konnten für das von Sumai 3 stammende *Fhb1* (bisher bekannt als *Qfhs.ndsu-3BS*) jedoch bereits erfolgreich AFLP-Marker in STS-Marker umgewandelt werden (Guo et al., 2003; Xu und Ban, 2004). Auch auf Basis der zahlreich veröffentlichten ESTs konnten STS- oder CAPS-Marker entwickelt werden. So gelang Liu et al. (2006) die Entwicklung von mehreren STS-Markern für *Fhb1*, indem sie sich Homologien auf EST-Sequenzebene in dieser Region zwischen Weizen, Reis und Gerste zunutze machten. Die Synthese einiger Genombereiche zwischen den Arten der Familie der Gräser könnte man auch für die Markerentwicklung für die in dieser Arbeit kartierten und validierten QTL nutzen. In einer Ning894037 (resistent)/Alondra (anfällig)-Population kartierte ein CAPS-Marker, der aus einem EST entwickelt wurde, in das QTL-Intervall auf dem kurzen Arm von Chromosom 3BS (Shen et al., 2006). Dieser EST zeichnete sich durch eine LRR-Domäne aus sowie durch eine Ähnlichkeit (E-Wert < 10^{-5} ; tBLASTx) mit einer Proteinkinase-Domäne des *Rpg1* Schwarzrost-Resistenzgens von Gerste.

4.3. QTL-Verifizierung in den Dream/Lynx-Rückkreuzungslinien

Im Allgemeinen werden QTL-Analysen mit Kartierungspopulationen durchgeführt, die aus einer limitierten Anzahl von Linien (meist < 200 Linien) bestehen, weshalb eine Validierung detektierter QTL vor deren Einsatz in markergestützten Züchtungsprogrammen empfohlen wird. Aufgrund von geringen Populationsgrößen kann es zur Überschätzung der genetischen Effekte sowie zu einer Ungenauigkeit in der QTL-Lokalisierung kommen. Außerdem können QTL mit kleineren Effekten möglicherweise nicht detektiert werden (Utz et al., 2000). In einer vorangegangenen Arbeit

wurden zwei wichtige Resistenz-QTL in einer aus 145 RILs bestehenden Dream/Lynx- Kartierungspopulation identifiziert (Schmolke et al., 2005).

Um Effekte von Resistenz-QTL sowie deren Einfluss auf die Wuchshöhe und den Zeitpunkt des Ährenschiebens präziser schätzen zu können, scheint die Entwicklung von Linien mit einem homogenen genetischen Hintergrund mittels Rückkreuzungs- und Selbstungsgenerationen kombiniert mit markergestützter Selektion geeignet. Dadurch wird der Einfluss des genetischen Hintergrundes reduziert und die Pflanzen für die Feldversuche sind homogener, was letztendlich eine genauere Schätzung der phänotypischen Effekte einzelner QTL ermöglicht. Für QTL-Validierungs- und Feinkartierungsstudien im Sommerweizen wurden ebenfalls nahisogene Linien für spezifische QTL-Regionen entwickelt (Zhou et al., 2003; Salameh and Buerstmayr, 2004; Reynolds and Anderson, 2004; Cuthbert et al., 2006).

Die Heritabilitäten sowie die Korrelationskoeffizienten für den Befall zwischen den Umwelten lagen in einem hohen Bereich, so dass auch bei der QTL-Verifizierung von einer guten Reproduzierbarkeit der phänotypischen Daten ausgegangen werden kann.

Die kontinuierliche Befallsverteilung der Rückkreuzungslinien war im Fall von Versuchsteil I leicht (Daten nicht gezeigt), im Fall von Versuchsteil II stark Richtung resistenterer Genotypen verschoben (Abbildung 16). Nach zwei Rückkreuzungsgenerationen entspricht der genetische Hintergrund theoretisch bereits zu 87,5% dem rekurrenten Elter (Becker, 1993). Dass die Verteilungen jedoch Richtung resistenterer Genotypen nach links verschoben sind, ist eine Folge der markergestützten Selektion auf die beiden genannten Haupt-QTL und deutet bereits hier auf die Wirksamkeit dieser Resistenz-QTL hin. Ohne markergestützte Selektion sollten die Verteilungen nämlich eher in Richtung anfälliger Elter Lynx verschoben sein.

Obwohl das Risiko besteht, dass Effekte in QTL-Analysen überschätzt werden sowie QTL-Lokalisierungen ungenau sind (Utz et al., 2000), stimmt das Ergebnis der vorliegenden Arbeit im genetischen Hintergrund des rekurrenten Elters Lynx bezüglich der beiden Haupt-QTL gut mit den Ergebnissen der ursprünglichen Kartierungspopulation überein. *Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS* hatten in der Dream/Lynx-Kartierungspopulation einen additiven Effekt von jeweils 9% und in der vorliegenden Arbeit einen absoluten Effekt von 7% (Versuchsteil I) bzw. 12% (Versuchsteil II) im Vergleich zur anfälligen Markerklasse ohne Resistenzallele. Für den Versuchsteil II

konnte eine signifikante QTL x QTL Interaktion gefunden werden (Tabelle 11), die zeigte dass die Wirkung beider Resistenz-QTL (*Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS*) nicht vollständig additiv war. Eine ähnliche aber nicht signifikante Interaktion von Resistenz-QTL konnte in einem Pyramidierungsexperiment von Miedaner et al. (2006) gefunden werden. Die nicht signifikanten Orte x QTL Interaktionen zeigen (Tabellen 10 und 11), dass die Wirkung der QTL weitgehend unabhängig von der jeweiligen Prüfumwelt ist. Eine Ausnahme bildete *Qfhs.lfl-7BS* im Versuchsteil II (Tabelle 11), für den eine signifikante Orte x QTL Interaktion gefunden werden konnte. Dies könnte daran liegen, dass sich in diesem Versuchsteil in der entsprechenden Markerklasse nur 13 Genotypen befanden. Da die Markerklasse *Qfhs.lfl-7BS* im Versuchsteil I jedoch mit 47 Genotypen vertreten war und hier keine entsprechende Orte x QTL Interaktion vorlag, ist davon auszugehen, dass die Wirkung von *Qfhs.lfl-7BS* nicht von der jeweiligen Prüfumwelt abhängig ist.

Qfhs.lfl-6AL hatte sowohl in der Kartierungspopulation als auch in der Rückkreuzungspopulation einen starken Einfluss auf die Wuchshöhe. Wie oben bereits erwähnt, beruht dieses Phänomen entweder auf einer engen Kopplung zwischen verschiedenen Loci oder es wird durch pleiotrophe Effekte verursacht. *Qfhs.lfl-7BS* hatte keinen Einfluss auf die Wuchshöhe in der Dream/Lynx-Kartierungspopulation, jedoch führten die Dream-Allele in der Rückkreuzungspopulation zu durchschnittlich 6 cm (Versuchsteil I) bzw. 9 cm (Versuchsteil II) längeren Pflanzen. *Qfhs.lfl-7BS* hatte einen leichten Einfluss auf den Zeitpunkt des Ährenschiebens, der jedoch in der Rückkreuzungspopulation nicht bestätigt werden konnte. Der QTL auf Chromosom 2BL hatte in der Rückkreuzungspopulation keinen Effekt auf die Resistenz. Möglicherweise war der relativ geringe Effekt dieses QTL durch die im Vergleich dazu starken Effekte von *Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS* überdeckt.

Die Ergebnisse zeigen, dass Haupt-QTL auch in mittleren Populationen (100-300 Individuen) zuverlässig detektiert werden können. Dennoch wird eine Verifizierung von Resistenz-QTL empfohlen, bevor sie in markergestützten Züchtungsprogrammen eingesetzt werden. Dies gilt vor allem für QTL mit vergleichsweise kleinen Effekten. Durch eine Überprüfung von QTL in einem homogenen genetischen Hintergrund und der damit verbundenen präziseren Schätzung von QTL-Effekten wird eine gute Basis gelegt, dass die entsprechenden QTL in Rückkreuzungsprogrammen verwendet werden können. Die Anwesenheit beider Resistenzallele *Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS*

reduzierte den relativen Befall um 36%, weshalb es sich bei den in dieser Arbeit validierten QTL um vielversprechende Kandidaten für markergestützte Züchtungsprogramme handelt.

Nur im Versuchsteil II erreichte ein Genotyp mit Dream-Allelen an beiden QTL das Resistenzniveau von Dream, was darauf hindeutet, dass zusätzliche nicht identifizierte Genombereiche mit moderaten bis kleinen Effekten an der Fusariumresistenz im Winterweizen beteiligt sind. Diese Aussage wird auch von verschiedenen anderen Gruppen unterstützt (Gervais et al., 2003; Shen et al., 2003a; Paillard et al., 2004; Schmolke et al., 2005), die darauf hinweisen, dass an der Fusariumresistenz in europäischem Winterweizen mehrere QTL mit geringeren Effekten beteiligt sind. Im Gegensatz dazu wird die Fusariumresistenz in von Sumai 3 abstammendem Sommerweizen von nur wenigen Haupt-QTL wie *Qfhs.ndsu-3BS* kontrolliert. Dieser QTL wurde kürzlich feinkartiert (Cuthbert et al., 2006; Liu et al., 2006) und wird nunmehr *Fhb1* genannt, ein Haupt-Gen, welches für die Typ II-Resistenz verantwortlich ist. Die höhere Anzahl an QTL, die im Winterweizen an der Fusariumresistenz beteiligt sind und die damit verbundenen geringeren Effekte der einzelnen QTL verglichen mit *Fhb1* könnte erklären, dass sich die meisten Validierungs- und Feinkartierungsstudien hauptsächlich mit den von Sumai 3 stammenden QTL befassen. Jedoch sind solche Ansätze auch für die im Winterweizen identifizierten QTL empfehlenswert, und zwar nicht nur für die Anwendung der QTL in markergestützten Züchtungsprogrammen, sondern auch für nachfolgende Ansätze, die sich mit der kartengestützten Klonierung beschäftigen, um letztendlich die Gene zu identifizieren, die für die Resistenz verantwortlich sind.

Die genotypische Variation innerhalb der Markerklassen war relativ hoch (Abbildungen 15 und 17). Auch dies deutet auf zusätzliche unbekannte spaltende Loci hin. Aufgrund der hohen Korrelationen der einzelnen Genotypen zwischen den Umwelten ist anzunehmen, dass die Phänotypisierung sehr verlässlich war. Rekombinationseignisse zwischen Marker und QTL können weitgehend ausgeschlossen werden, da die QTL-Bereiche durch molekulare Marker charakterisiert wurden, die jeweils beide Seiten der QTL-Peaks flankierten (Abbildungen 12 und 13). Die bezüglich der Fusariumresistenz besten Genotypen trugen mindestens eines der beiden Resistenz-Allele *Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS*, wodurch ihre Bedeutung für ein gutes Resistenzniveau unterstrichen wird (Abbildungen 15 und 17). Außerdem zeigte der Großteil der Linien

mit mindestens einem der beiden QTL eine deutlich niedrigere Anfälligkeit als Lynx, obwohl mit diesem bei der Entwicklung der Rückkreuzungslinien dreimal gekreuzt wurde. Zudem waren unter den Genotypen mit QTL auch einige Linien, die ein gutes Resistenzniveau mit einer akzeptablen Halmlänge kombinierten (Abbildung 18). Dies bestätigt noch einmal die Ergebnisse der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population (Abbildung 11), dass es trotz einer Colokalisierung von Resistenz-QTL mit QTL für Wuchshöhe möglich ist, Linien mit einer geringen Anfälligkeit bei gleichzeitig akzeptabler Halmlänge zu selektieren. McCartney et al. (2007) brachten Resistenzallele von Nyuubai, Sumai 3 und Wuhan-1 in einen kanadischen Sommerweizen-Elitehintergrund und evaluierten ihre Effekte auf verschiedene Merkmale (FHB Index, FDK, DON, Wuchshöhe, Ährenschieben, sowie relevante Qualitätsparameter). Dabei führte das effektivste Resistenzallel (Wuhan-1; Chromosom 4B) zu durchschnittlich 9,3 cm höheren Pflanzen. Dennoch gehen die Autoren auch hier davon aus, dass dieses Phänomen von einer engen Kopplung zweier Loci herrührt und nicht auf pleiotrophe Effekte zurückzuführen ist.

Die getrennte Auswertung der 23 Linien, die innerhalb des QTL-Intervalls von *Qfhs.lfl-7BS* Rekombinationen aufwiesen, ergab zwischen den beiden Gruppen rekombinanter Linien Abstufungen bezüglich des Fusariumbefalls. Diese Unterschiede waren jedoch – vermutlich aufgrund der geringen Linienanzahl von nur 7 bzw. 16 rekombinanten Linien – weder untereinander noch im Vergleich mit der anfälligen und/oder resistenten Markerklasse signifikant (Abbildung 19). Tendenziell kann man aber sagen, dass der Fusarium-QTL vermutlich näher bei den Markern GWM46 und BARC72 als bei dem AFLP-Marker P70M56-237 liegt. Um dies jedoch statistisch abzusichern, ist die phänotypische Evaluierung einer weitaus höheren Zahl an rekombinanten Linien nötig. Dessen ungeachtet sind diese ersten Ergebnisse vielversprechend, so dass es lohnenswert erscheint, eine Feinkartierung von *Qfhs.lfl-7BS* mit mehr rekombinanten Linien anzuschließen. Das von Sumai 3 stammende und auf Chromosom 3BS lokalisierte Hauptgen *Fhb1* (bisher bekannt als *Qfhs.ndsu-3BS*) wurde sowohl in einem fixiert resistenten (Sumai3*5/Thatcher) als auch in einem fixiert anfälligen (HC374/3*98B69-L47) genetischen Hintergrund erfolgreich feinkartiert (Cuthbert et al., 2006). Dafür wurden 66 bzw. 51 rekombinante Linien verwendet. Auch der von Sumai 3 stammende QTL auf Chromosom 6BS wurde unter Verwendung von insgesamt 89 rekombinanten Linien erfolgreich feinkartiert und

wird nunmehr *Fhb2* genannt (Cuthbert et al., 2007). Dabei wurden die beiden genannten Resistenzgene qualitativ als Mendelscher Faktor ausgewertet, da jeweils eine eindeutige Aufteilung in resistente und anfällige Phänotypen möglich war. Um dies zu gewährleisten, wurde mittels Markeranalysen sichergestellt, dass alle anderen bekannten QTL im genetischen Hintergrund fixiert anfällig vorlagen.

4.4. Züchterische Anwendbarkeit von Resistenz-QTL gegen Ährenfusarium

Brennan et al. (2005) geben einen allgemeinen Überblick über den möglichen Nutzen von molekularen Markern in Züchtungsprogrammen und stellen ihn den Einschränkungen bei der praktischen Anwendung von Markern gegenüber. So kann der Einsatz molekularer Marker beispielsweise zu einer rascheren Entwicklung von neuen Sorten führen, indem Genotypen mit gewünschten Eigenschaften schneller als mit Hilfe der phänotypischen Selektion identifiziert werden können. Auch der gesamte Selektionsgewinn kann beträchtlich erhöht werden, dadurch dass gleichzeitig mehrere erwünschte Eigenschaften in einer Sorte vereinigt werden können. Dazu zählt auch die Pyramidisierung von mehreren Genen oder das Einkreuzen von Genen aus exotischem Material. Auch bei Merkmalen, die phänotypisch schwierig oder nur sehr aufwendig zu erfassen sind, bietet der Einsatz von molekularen Markern klare Vorteile. Brennan et al. (2005) zählen dazu beispielsweise die Frost- und Trockentoleranz oder Eigenschaften, für die in der jeweiligen Region, in der die Züchtung durchgeführt wird, keine geeigneten Bedingungen vorliegen. Ein weiterer Punkt ist, dass interessante Gene bzw. Genombereiche in potentiellen Kreuzungseltern vorab identifiziert werden können, so dass letztendlich zu Beginn des Züchtungsprogramms eine möglichst große genetische Variabilität vorhanden ist und diese im Züchtungsverlauf erhalten werden kann. Dem gegenüber stehen die mit Markeranalysen oftmals verbundenen hohen Kosten, welche nicht den ökonomischen Nutzen der Marker in der praktischen Züchtung übersteigen dürfen. Marker sollten zudem sehr eng an das entsprechende Merkmal gekoppelt sein oder sogar im Gen liegen („Perfekte Marker“). Perfekte Marker beruhen auf einer funktionalen Variation in einer Gensequenz. Da sie direkt im Gen liegen, das für das gewünschte Merkmal verantwortlich ist, sind somit keine Rekombinationen zwischen Marker und Gen möglich. Liegt dagegen keine enge

Kopplung vor, kann es zu Rekombinationen zwischen Marker und Zielmerkmal kommen, was bei ausschließlicher markergestützter Selektion im schlimmsten Fall sogar zu einer Selektion gegen die gewünschte Eigenschaft führen kann (Brennan et al., 2005). Diese Gefahr besteht vor allem dann, wenn über mehrere Generationen hinweg markergestützt selektiert wird, ohne zwischendurch eine phänotypische Kontrolle einzuschalten. Auch sollten Marker über ein breites Sortenspektrum hinweg verwendet werden können, d.h. diagnostisch sein.

Bei der Züchtung fusariumresistenter Sorten könnte der Einsatz von molekularen Markern durchaus sinnvoll sein. Im Züchtungsprozess finden die ersten Resistenzprüfungen nämlich in der Regel erst ab der F₄-Generation statt. Diese sind zudem sehr aufwendig, da sie aufgrund der vor allem unter natürlichen Bedingungen vorherrschenden hohen Genotyp x Umwelt Interaktionen meist mehrortig mittels Sprühinokulation oder der Maisstoppelmethode durchgeführt werden. Eine frühere Selektion ist aufgrund von vielen spaltenden Merkmalen inklusive der Fusariumresistenz, dem Mangel an ausreichend Saatgut für spezielle Prüfungen sowie der sehr geringen Keimfähigkeit von Saatgut aus infizierten Parzellen nicht möglich (Snijders, 2004). Wären für die Fusariumresistenz molekulare Marker verfügbar, könnte die Selektion bereits in früheren Generationen und somit auf einer größeren Anzahl von Genotypen durchgeführt werden. Damit wäre gewährleistet, dass keine Elitelinien mit verbesserten Resistenzeigenschaften schon in frühen Generationen verloren gingen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass die in der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population kartierten QTL auf den Chromosomen 5BL/7BS und 6BS sowie die in den Dream/Lynx-Rückkreuzungslinien validierten QTL *Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS* gewinnbringend in markergestützten Züchtungsprogrammen verwendet werden können. So führten beispielsweise beide von Ning8026 stammenden Resistenzallele auf den Chromosomen 5BL/7BS und 6BS in Kombination zu einer relativen Befallsreduktion von 53%, die von Dream stammenden Resistenzallele *Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS* zeigten in den Rückkreuzungslinien zusammen eine relative Befallsreduktion von 36%. Außerdem trugen alle Linien der Populationen, die eine sehr geringe Anfälligkeit aufwiesen, mindestens einen der genannten Resistenz-QTL (Abbildungen 10, 11, 15 und 17). Mit den entsprechenden Markern wäre es also möglich, bereits in frühen Generationen Genotypen mit sehr hoher Anfälligkeit zu eliminieren, so dass der Prüf- und Flächenaufwand bezüglich

Fusarium in den nachfolgenden Generationen geringer wäre bzw. dass bei gleichbleibendem Aufwand noch mehr Ausgangsmaterial berücksichtigt werden könnte. Die Colokalisierung der QTL5BL/7BS (Ning8026), *Qfhs.lfl-6AL* (Dream) und *Qfhs.lfl-7BS* (Dream) mit QTL für Halmlänge scheint aus züchterischer Sicht ebenfalls nicht allzu problematisch zu sein, da sowohl die Linien der Kartierungspopulation als auch die Rückkreuzungslinien mit den entsprechenden Resistenzallelen eine relativ hohe Variabilität bezüglich der Wuchshöhe zeigen. Dies ermöglicht die Selektion von Linien mit gutem Resistenzniveau bei gleichzeitig akzeptabler Halmlänge (Abbildungen 11 und 18). Da sowohl der Resistenzdonor (G93010) als auch der anfällige Elter Pelikan relativ lang sind (Tabelle 8), steht die Überprüfung der QTL auf den Chromosomen 5BL/7BS und 6BS in kürzerem Material noch aus. Die beiden von Ning8026 stammenden Resistenzallele sind sehr wahrscheinlich Komponenten, die im europäischen Zuchtmaterial bisher noch nicht eingesetzt wurden. Sie könnten also die bisher vorhandenen Resistenzen ergänzen und in markergestützten Rückkreuzungsprogrammen das Resistenzniveau weiter erhöhen. Das Ziel besteht jedoch nicht immer darin, völlig resistente Sorten zu entwickeln, sondern solche, die bei kurzer Halmlänge sehr ertragreich sind und gleichzeitig bezüglich ihrer Fusariumanfälligkeit im mittleren Bereich liegen (APS 4-5), um so die Sortenzulassung durch das Bundessortenamt und die Aufnahme in die Landessortenversuche aufgrund eines zu hohen Befallsniveaus nicht zu gefährden. Genotypen, die dieses Kriterium erfüllen könnten, wurden ebenfalls mit Hilfe der Resistenz-QTL identifiziert. So gab es beispielsweise drei Rückkreuzungslinien mit *Qfhs.lfl-7BS*, die bezüglich der Wuchshöhe dem anfälligen Elter Lynx entsprachen, jedoch im Vergleich dazu eine relative Befallsreduktion von ungefähr 33% aufwiesen (Abbildung 18).

Ein Anspruch, der an züchterisch nutzbare Marker gestellt wird, ist die Einsetzbarkeit in einem möglichst großen Sortenspektrum. Dies scheint nach bisherigen Ergebnissen in einem 18 Sorten umfassenden Sortiment bei den Markern GWM335 (Abbildung 9a), P74M55-298 (Abbildung 9b), P65M54-158 (Abbildung 9c) und GWM88 (Daten nicht gezeigt) der Fall zu sein, wobei die beiden Mikrosatelliten-Marker auch die Identifizierung von heterozygoten Individuen erlauben. Eine Umwandlung der genannten AFLP-Marker in leichter handhabbare und codominante STS-Marker wäre für die praktische Anwendung wünschenswert. Für die Marker in den QTL-Interval-

len 5BL/7BS und 6BS muss noch geklärt werden, inwieweit sie auch in einem größeren Sortenspektrum einsetzbar sind.

Beide von Ning8026 stammenden Resistenzallele auf den Chromosomen 5BL/7BS und 6BS führten in Kombination zu einer relativen Befallsreduktion von 53%. Die von Dream stammenden Resistenzallele *Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS* zeigten in den Rückkreuzungslinien zusammen eine relative Befallsreduktion von 36%. Nach Fungizidbehandlung der anfälligen Sorte Contra wurde je nach Applikationszeitpunkt eine durchschnittliche Befalls- bzw. DON-Reduktion zwischen 50% und 60% beobachtet (Obst und Gammel, 2000), was in etwa in der Größenordnung der genannten QTL-Effekte liegt. Lediglich nach optimalem Applikationstermin, d.h. einer Fungizidbehandlung am Tag der Infektion, wurde eine bis zu 70%-ige Reduktion des Befalls bzw. DON-Gehalts gefunden. Da in der Praxis jedoch nicht immer eine termingerechte Fungizidausbringung möglich ist und dadurch der Wirkungsgrad der Fungizide deutlich geringer ausfallen kann, können die QTL-Effekte sehr gut mit der Fungizidwirkung mithalten ohne dabei dem Risiko ausgesetzt zu sein, den optimalen Ausbringungszeitpunkt zu verpassen.

Ein entscheidender Vorteil der in dieser Arbeit kartierten und validierten Resistenz-QTL ist außerdem, dass sie sich bereits in einem sehr gut an das hiesige Klima adaptierten und ertragreichen genetischen Hintergrund befinden, wodurch die Übertragung von unerwünschten Eigenschaften („Linkage drag“) eine geringere Rolle spielt als bei der Verwendung von exotischen Resistenzquellen wie beispielsweise Sumai 3, der negative agronomische Eigenschaften vererbt (Rudd et al., 2001). McCartney et al. (2007) berichteten, dass das Sumai 3 Resistenzallel auf Chromosom 5AS im genetischen Hintergrund eines kanadischen Elitesommerweizen signifikant mit einem reduzierten Proteingehalt sowie einem geringeren Tausendkorngewicht zusammenhing. Zudem ist Sumai 3 gegenüber fast allen anderen Krankheiten anfällig und blüht ungefähr drei Wochen früher als Elitesorten (Snijders, 2004). Die Pyramidisierung verschiedener QTL eröffnet die Möglichkeit, die Fusariumresistenz weiter zu verbessern. Wird dabei nicht adaptiertes Material als Resistenzdonor in Rückkreuzungsprogrammen verwendet, sollte nicht nur auf die jeweiligen Resistenz-QTL markergestützt selektiert werden, sondern gleichzeitig auch die Fixierung des genetischen Hintergrundes des Eliteelters mittels Markeranalysen beachtet werden, um die Übertragung unerwünschter agronomischer Eigenschaften möglichst zu minimieren (Somers et al.,

2005). Verwendet man jedoch europäisches adaptiertes Material als Resistenzquelle, könnte das Resistenzniveau angehoben werden, ohne dass die meist schon sehr zufrieden stellende agronomische Leistung der Genotypen reduziert wird. Da einzelne QTL jedoch immer nur einen begrenzten Anteil der Varianz erklären, sollte neben der markergestützten Selektion auch phänotypisch auf die Fusariumresistenz selektiert werden, um den Selektionserfolg zu maximieren (Zhou et al., 2003). Wilde et al. (2007) haben in ihrer Studie den Selektionserfolg der phänotypischen mit der markergestützten Selektion verglichen. Dabei schnitt die phänotypische Selektion gegenüber der markergestützten Selektion zwar etwas besser ab, nicht jedoch, wenn man den Faktor Zeit mit einkalkulierte, da der Selektionserfolg pro Jahr bei der markergestützten Selektion deutlich über dem der phänotypischen Selektion lag. Um jedoch auch andere agronomische Eigenschaften bei der Auswahl geeigneter Genotypen berücksichtigen zu können, schlugen die Autoren ebenfalls eine Kombination aus phänotypischer und markergestützter Selektion vor. Die durch die Markeranalysen entstehenden höheren Kosten können teilweise durch die Faktoren Zeit- und Platzersparnis ausgeglichen werden. Wird die extrahierte DNA außerdem parallel für mehrere Markeruntersuchungen eingesetzt und besteht zudem die Möglichkeit mehrere Marker in einem PCR-Ansatz zu kombinieren, so können die Kosten weiter reduziert werden (Brennan et al., 2005).

Einige in dieser Arbeit identifizierte Genotypen mit Resistenz-QTL, die aus züchterischer Sicht interessant scheinen, werden aktuell vermehrt bzw. wurden bereits vermehrt, um in den folgenden Vegetationsperioden erste Ertragsprüfungen durchführen zu können. Dies ermöglicht eine noch detailliertere Beurteilung bezüglich ihrer Eignung als Kreuzungspartner in Züchtungsprogrammen. Aufgrund der bisherigen Ergebnisse zeichnen sich jedoch bereits einige Linien ab, deren Potential als Kreuzungseltern sehr hoch eingestuft wird.

4.5. Identifizierung, Klonierung und Funktionsaufklärung möglicher an der Fusariumresistenz beteiligter Gene

Um Mutmaßungen darüber anstellen zu können, welche Gene hinter den in dieser Arbeit kartierten und validierten QTL stecken könnten, wurde eine Datenbankrecherche resistenzassoziierter ESTs durchgeführt. Mittels einer BLASTX-Abfrage konnten

Ähnlichkeiten auf Aminosäureebene zu Proteinen mit bekannter Funktion ermittelt werden. Wie oben bereits erwähnt, kann man sich EST-Sequenzen zudem für die Markerentwicklung zunutze machen.

Im Bereich 7BS1-0,27-1,00 (XGWM46) des Weizenchromosomenarms 7BS kartierten zwei ESTs, die jeweils Ähnlichkeiten zu einem Hitzeschockprotein 80 aufwiesen (Tabelle 12). Die Transkription von Hitzeschockproteinen wird bei abiotischem Stress wie beispielsweise Hitze oder Kälte durch Hitzeschutzfaktoren ausgelöst (Queitsch et al., 2000). Diese wiederum sind Bestandteile zahlreicher Resistenzgenanaloga (RGAs) (Guo et al., 2006). Proteine, die zu Hitzeschockfamilien gehören, werden jedoch nicht ausschließlich mit abiotischen Stressfaktoren in Verbindung gebracht. So wurde in *Arabidopsis thaliana* ihre Mitwirkung an der Ausprägung von Krankheitsresistenzen gezeigt (Takahashi et al., 2003). Im selben Bereich kartierte ein EST, der auf Aminosäureebene einem putativen Resistenzgen *Mla1* ähnlich war (Tabelle 12). Wang et al. (2005) inokulierten die resistente Sorte Wangshuibai mit *F. graminearum* und extrahierten zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Infektion Proteine aus der Ähre. Dabei identifizierten sie ein Gen aus der *Mla*-Familie, was eine Rolle bei der Pflanze/Pathogen-Interaktion spielen könnte. Außerdem detektierten sie in ihrer Arbeit einige Proteine, die zur Familie der oben genannten Hitzeschockproteine gehören.

Weitere Hinweise auf wichtige Gene in den QTL-Regionen, die an der Ausprägung der Fusariumresistenz beteiligt sein könnten, fanden sich in den Bereichen 7BL2-0,33-0,63 (XBARC72) sowie 5BL6-0,29-0,55 (XGWM335). Dort lokalisierte ESTs ergaben in der BLASTX-Abfrage hohe Homologien zu einem „Stress Responsive“-Gen 6 aus Gerste (*Hordeum vulgare*) bzw. einem HR-induzierten Protein 3 ebenfalls aus Gerste. Es wurde gezeigt, dass Gene, die mit der Pathogenabwehr in Verbindung stehen, wie beispielsweise diejenigen für die verschiedenen PR-Proteine (Pathogene Related Proteins), nach einer Inokulation mit Fusarium sowohl in anfälligen als auch in resistenten Sorten exprimiert werden (Bai und Shaner, 2004). Der Unterschied zwischen resistenten und anfälligen Sorten besteht dabei hauptsächlich in der Geschwindigkeit, mit der die Transkripte nach einer Infektion akkumuliert werden.

Darüber hinaus ergaben sich in verschiedenen Bereichen Ähnlichkeiten mit ribosomalen Proteinen (Tabelle 12). Davon war ein EST, der im Bereich 5BL6-0,29-0,55 (XGWM335) kartierte, zu dem ribosomalen Protein L3 homolog. In Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*) existieren verschiedene Resistenzmechanismen gegen Trichothe-

cene. Einer davon beruht auf einer Veränderung im ribosomalen Protein L3 (RPL3). Lucyshyn et al. (2007) charakterisierten die *RPL3*-Genfamilie im Weizen. Dabei zeigte sich, dass diese jeweils aus drei homologen Allelen beider Gruppen (*RPL3A* und *RPL3B*) besteht, wobei eines der Allele (*RPL3-A2*) auf Chromosom 5B lokalisiert wurde. SNP-Marker, die aus einem weiteren Allel (*RPL3-A3*) entwickelt wurden, kartierten in der CM 82036/Remus-Population in der Nähe des Resistenz-QTL *Qfhs.ifa-5A*.

Im Bereich des QTL auf Chromosom 6BS (6BL3-0,36; XGWM88) kartierte ein EST, der auf Aminosäureebene einem Prohibitin ähnlich war. Prohibitin wird mit Seneszenz und programmiertem Zelltod in Verbindung gebracht. In Reis (*Oryza sativa*) ist Prohibitin, ebenso wie in Hefe und Säugetieren, in den Mitochondrien lokalisiert, wobei die Peptidsequenz zwischen Pflanzen, Hefe und Säugetieren hochkonserviert ist. Aufgrund ihrer Ergebnisse gehen Takahashi et al. (2003) davon aus, dass Prohibitin möglicherweise auch in Reis eine wichtige Rolle bei der Induktion des hypersensitiven Zelltods spielen könnte und somit direkt an Abwehrmechanismen der Pflanzen beteiligt sein könnte. Ferner gab es in derselben Region eine Übereinstimmung mit der cytosolischen Glyceraldehy-3-Phosphat-Dehydrogenase (GAPDH), von der bekannt ist, dass sie in Folge von abiotischem und biotischem Stress exprimiert wird (Laxalt et al., 1996). Die Glucosyl-Transferase (Tabelle 12) gehört ebenfalls zu einer Klasse von Proteinen, die in pflanzliche Abwehrreaktionen involviert ist und katalysiert die Biosynthese von Phenylpropanoiden (Ditt et al., 2001). Auch Isoflavon-Reduktase Homologe (7BS1-0,27-1,00; XGWM46) sind an der Synthese von Phenylpropanoiden beteiligt. Ihre Induktion kann durch biotische Faktoren (z. B. Pilze) aber auch durch oxidativen Stress oder UV-Strahlung hervorgerufen werden (Gang et al., 1999).

Myb-Faktoren (5BL6-0,29-0,55; XGWM335) gehören zu einer von mindestens fünf wichtigen Familien pflanzlicher Transkriptionsfaktoren und sind an einer Vielzahl von Stoffwechselwegen beteiligt. Dazu zählt unter anderem auch die Regulation von Genen, die an der Pathogenabwehr beteiligt sind. So wurden *myb*-Gene beispielsweise in *Arabidopsis* durch bakterielle Pathogene induziert (Daniel et al., 1999) oder in Reis (*Oryza sativa*) durch pilzliche Schaderreger (Lee et al., 2001).

Abgesehen von den bereits erwähnten Proteinen konnten in allen Bereichen Ähnlichkeiten zu verschiedenen Proteinkinasen gefunden werden. Diese können eine Rolle

bei der molekularen Signaltransduktion spielen sowie Veränderungen in der Genexpression herbeiführen. Ausgelöst werden diese dabei oftmals durch exogene Faktoren wie beispielsweise Licht, Hormone, Stress und Pathogenbefall (Sopory und Munshi, 1998).

Die in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse haben gezeigt, dass es sich bei den in der Pelikan//Bussard/Ning8026- bzw. Dream/Lynx-Population kartierten und validierten Haupt-QTL um sehr interessante Bereiche handelt, die an der Ausprägung der Fusariumresistenz maßgeblich beteiligt sind. Zusätzlich gab die EST-Datenbankrecherche gute Hinweise darauf, dass in den hier bearbeiteten Haupt-QTL tatsächlich wichtige Gene für die Fusariumresistenz enthalten sein könnten. Somit wurde die Grundlage für weitere Untersuchungen geschaffen, die aus wissenschaftlicher Sicht, die Identifizierung von Kandidatengen und aus züchterischer Sicht die Entwicklung von leicht handhabbaren Markern, die noch enger an das Zielmerkmal gekoppelt sind, ermöglichen.

Um diese Ziele zu erreichen, kann man sich im Rahmen der Kandidatengenanalyse neben den zahlreich veröffentlichten EST-Sequenzen auch RGA-Motive zunutze machen. Resistenzgene haben nämlich verschiedene konservierte Aminosäuresequenzen gemein. Dazu zählen Serin/Threonin-Proteinkinase-Domänen, CC (Coiled-Coil domain) oder LZ (Leucine Zipper), NBS (Nucleotide-Binding Site) und LRR (Leucine-Rich Repeats). In Weizen wurden aus RGAs bereits erfolgreich molekulare Marker für verschiedene Krankheitsresistenzen entwickelt (Yan et al., 2003; Xie et al., 2004). Mohler et al. (2002) entwickelten einen RGA-Marker, der in Gerste, Weizen und Roggen mit Resistenzgenloci für verschiedene Pathogene assoziiert ist. In einer Ning7840/Clark-Population kartierten drei RGAs in den Bereich eines Fusariumresistenz-QTL auf Chromosom 1AL, wovon ein RGA in einen STS-Marker umgewandelt werden konnte (Guo et al., 2006). Ferner besteht die Möglichkeit, konservierte RGA-Domänen mit zufälligen AFLP-Primern zu kombinieren (RGA-AFLPs). Dadurch ist keine vorherige Kenntnis der Genstruktur notwendig und dennoch wird die Wahrscheinlichkeit erhöht, eine RGA-ähnliche Sequenz zu amplifizieren (Wise, 2000).

Eine Möglichkeit, um Gene zu isolieren, ist die kartengestützte oder positionelle Klonierung. Der erste Schritt besteht hierbei in der Entwicklung von hochauflösenden Karten bezüglich der QTL-Bereiche. Dabei sollte die Distanz zwischen Marker und

Zielgen möglichst gering sein (Keller et al., 2005), wobei es sich im Idealfall um den QTL flankierende Marker handelt. Eine weitere Voraussetzung ist die Verfügbarkeit von DNA-Bibliotheken des gesamten Genoms: YAC (Yeast Artificial Chromosome)- oder BAC (Bacterial Artificial Chromosome)-Bibliotheken. Ausgehend von den PCR-Produkten der flankierenden Marker werden Sonden abgeleitet, mit denen Klone der BAC-Bibliothek auf Homologien untersucht werden. Klone, die mit der Sonde hybridisieren, werden sequenziert. Im Anschluss daran werden aufgrund der Sequenzinformationen der Klone neue Sonden entwickelt, welche auf die entsprechende spaltende Population (1000-3000 Individuen) getestet werden, um zu gewährleisten, dass Marker und Gen cosegregieren. Ist dies der Fall werden erneut BAC-Bibliotheken untersucht, neue Sonden entwickelt usw. („Chromosomal Walking“). Ist die QTL-Region schließlich durch überlappende Klone („Contigs“) abgedeckt, die beide flankierenden Marker enthalten, ist davon auszugehen, dass das Zielgen dazwischen liegt. Im Weizen wurde so beispielsweise das Vernalisationsgen *VRN1* isoliert (Yan et al., 2003), sowie die Resistenzgene *Lr21* (Huang et al., 2003), *Lr10* (Feuillet et al., 2003) und *Pm3b* (Yahiaoui et al., 2004). Da das Weizengenom sehr komplex ist, wurden für die Isolierung der genannten Gene teilweise BAC-Bibliotheken von *Triticum monococcum* (A-Genom), tetraploidem Weizen (A- und B-Genom) oder *Aegilops tauschii* (D-Genom) verwendet. Zudem kann für das „Chromosomal Walking“ die Syntenie einiger Genombereiche zwischen den Arten der Familie der Gräser (Weizen, Reis, Brachypodium) genutzt werden (Foote et al., 2004; Bossolini et al., 2007). Um die Identität der klonierten Gene zu bestätigen, können sogenannte Komplementationstests durchgeführt werden. Dafür können z. B. Knock-out-Mutanten für das entsprechende Zielmerkmal erstellt werden, welche dann mit den entsprechenden Konstrukten transformiert werden. Zeigen sie anschließend phänotypisch die erwünschte Eigenschaft, ist das Zielgen verifiziert.

Außerdem besteht die Möglichkeit, Gene mit Hilfe des *Ac* (*Activator*)/*Ds* (*Dissociation*)-Transposon-Systems von Mais zu isolieren (Wise, 2000). Transposons sind mobile genetische Faktoren, die aus genomischer DNA enzymatisch herausgeschnitten und an anderer Stelle wieder eingefügt werden können. Dabei führt die Anwesenheit eines *Ac*-Elements in Kombination mit dem *Ds*-Insertionselement, welches das Transposon flankiert, zu einer Neupositionierung des Transposons inklusive *Ds*-Element. Gelangt es auf diese Art beispielsweise in ein Resistenzgen, so würde dieses

seine Funktion verlieren und in einem mutanten Phänotyp resultieren. Die Erstellung einer DNA-Bibliothek dieser Knock-out-Mutante und eine anschließende Identifizierung von Klonen mit Insertion unter Verwendung des *Ds*-Elements als Sonde, ermöglicht die Isolierung des entsprechenden Gens (Wise, 2000).

Beim TILLING (Targeting Induced Local Lesions IN Genomes) handelt es sich um einen weiteren Ansatz aus dem Bereich der reversen Genetik, um sehr schnell und im Hochdurchsatzverfahren, neue genetische Variationen zu erzeugen. Dabei werden mittels einer spezifischen Endonuklease (CEL1), die Basenfehlpaarungen erkennt, induzierte oder natürliche DNA-Polymorphismen in einem Zielgen detektiert (Gilchrist und Haughn, 2005). Der Vorteil dieser Methode besteht in der Anwendbarkeit auf so gut wie jeden Organismus, sowie der Unabhängigkeit von der Genomgröße, dem Reproduktionssystem oder der Generationsdauer. Erfolgt die Mutagenisierung dabei durch entsprechende Chemikalien wie EMS (EthylMethan-Sulfonat), wird eine hohe Zahl von rezessiven Mutationen induziert, die zufällig über das gesamte Genom verteilt sind. Zunächst wird DNA von mehreren mutagenisierten Pflanzen gepoolt und unter Verwendung von genspezifischen Primern amplifiziert. Die entstehenden Produkte werden denaturiert und langsam abgekühlt, so dass sie sich zufällig aneinander lagern können. Wenn sich im Pool mindestens eine Pflanze mit Mutation in der Zielregion befindet, werden sogenannte Heteroduplexe gebildet, die von der Endonuklease CEL1 spezifisch geschnitten werden. Individuen mit Mutationen sind interessant für eine nachfolgende Phänotypisierung und einen Vergleich mit dem entsprechenden Wildtyp, um letztendlich Schlussfolgerungen auf die Beteiligung der Zielgene an bestimmten Merkmalen ziehen zu können. TILLING-Projekte gibt es momentan beispielsweise in *Arabidopsis*, Lotus, Mais und *Brassica oleracea* (Gilchrist und Haughn, 2005). Außerdem wird diese Methode derzeit im hexaploiden Winterweizen mit einer mutagenisierten Population der Sorte Dream etabliert, die dann letztendlich auch mit Kandidatengenen für Fusariumresistenz untersucht werden kann (Schmolke, 2006). Mit dieser Methode können aber auch Pflanzen mit verbesserten Eigenschaften generiert werden wie kürzlich bei Weizen gezeigt wurde. Slade et al. (2005) erzeugten nämlich im *Waxy*-Locus eine hohe genetische Variabilität, die Individuen mit unterschiedlichen Mengen an Amylose zur Folge hatten, darunter einen Null-*waxy* Phänotyp, der so gut wie keine Amylose produzierte. Um uner-

wünschte Mutationen im genetischen Hintergrund zu eliminieren, schlagen Slade et al. (2005) ein Minimum von vier Rückkreuzungsgenerationen vor.

Auch Genexpressionsanalysen von einzelnen Genotypen (anfällige vs. resistente Sorten; NILs mit vs. NILs ohne QTL-Intervall) zu verschiedenen Zeitpunkten nach einer Infektion mit *Fusarium* erlauben die Identifizierung von Genen, die an der Resistenz beteiligt sein könnten. Hierfür könnten beispielsweise Microarrays (z. B. der Affymetrix® Gene Chip) oder cDNA-AFLPs verwendet werden. Ein Vorteil der cDNA-AFLP-Technik ist, dass sie auch die Identifikation von sehr gering exprimierten Transkripten erlaubt (Bachem et al., 1996). Außerdem können mit dieser Methode auch bisher unbekannte Gene erfasst werden. Unter anderem werden die Sorten Dream und Lynx derzeit für die Identifizierung differentiell exprimierter Gene nach künstlicher *Fusarium*-Inokulation mittels cDNA-AFLP-Analyse untersucht (Diethelm et al., 2006). Alternativ könnten hier beispielsweise auch Linien aus der QTL-Validierung mit und ohne Resistenzallel verwendet werden. Dies hätte den Vorteil, dass die Rückkreuzungslinien im genetischen Hintergrund homogen sind und sich nur bezüglich der QTL-Region unterscheiden. Bisherige Studien zeigten, dass nach einer *Fusarium*-Infektion zahlreiche PR-Proteine sowohl in resistenten als auch in anfälligen Sorten exprimiert werden, wobei die Transkriptakkumulation bei den resistenten Genotypen teilweise zu einem früheren Zeitpunkt stattfand (Pritsch et al., 2000; Bernardo et al., 2007; Golkari et al., 2007). Die zu den Kandidatengen zugehörigen Sequenzen können parallel auch zur Markerentwicklung genutzt werden. Kartiert ein so entwickelter Marker außerdem in der entsprechenden spaltenden Population in ein QTL-Intervall, so ist dies eine sehr gute Bestätigung der vorangegangenen QTL-Analyse. Weitere Einblicke in die Pathogen-Wirt-Interaktion können mit Hilfe der Proteomik gewonnen werden. Wang et al. (2005) extrahierten Proteine, die in der resistenten Sorte Wangshuibai zu verschiedenen Zeitpunkten nach Infektion mit *F. graminearum* induziert wurden. Dabei identifizierten sie Proteine, die dem Kohlenstoff-Metabolismus und der Photosynthese zuzuordnen waren. Außerdem gab es zwei Gruppen von Proteinen, die hauptsächlich mit Stress und Abwehrmechanismen in Verbindung gebracht werden konnten. Diese zeichneten sich dadurch aus, dass sie unmittelbar nach der Inokulation detektierbar waren und erst nach 12 oder 24 Stunden wieder abfielen bzw. dass sie konstant auf einem hohen Niveau blieben. In der ebenfalls resistenten Sorte Ning7840 wurden fünf Tage nach Infektion mit *F. graminea-*

rum Proteine mit antioxidativer Wirkung wie z. B. Superoxid-Dismutase oder Glutathion-S-Transferase hochreguliert bzw. induziert (Zhou et al., 2005). Zudem konnte ein 14-3-3-Protein sowie ein PR-2-Protein identifiziert werden. Die Erkenntnisse, welche Gene/Proteine an der Fusariumresistenz beteiligt sind, erlauben letztendlich weitere Rückschlüsse über Mechanismen, die die Resistenz kontrollieren. Eine weitere Möglichkeit von einem QTL bzw. einem Gen auf seine Funktion zu schließen, wurde für *Fhb1* (ehemals *Qfhs.ndsu-3BS*) gezeigt (Lemmens et al., 2005). Auf 96 DH-Linien einer Population, die aus einer Kreuzung zwischen CM 82036 (*Fhb1*-Träger) und Remus hervorging, wurde das Mykotoxin DON in die Ähre appliziert, wodurch typische Symptome einer Fusariuminfektion hervorgerufen werden. In dieser Population konnte ein QTL für DON-Resistenz mit großem Effekt ($R^2 = 92,6\%$) detektiert werden, der mit *Fhb1* kolokalisierte. Zudem wurde in resistenten Linien das applizierte DON in sein Abbauprodukt DON-3-O-Glucosid umgewandelt, was wiederum den Schluss nahe legt, dass *Fhb1* für eine DON-Glucosyl-Transferase kodiert oder seine Expression reguliert.

Darüber hinaus ist es denkbar, mittels Gentransformation Weizen zu entwickeln, der ein verbessertes Resistenzniveau aufweist. In Frage kämen dafür Gene, die für verschiedene PR-Proteine kodieren wie beispielsweise Chitinasen, β -1,3-Glucanasen, Thionine oder Thaumatin-ähnliche Proteine, aber auch solche, die eine Resistenz gegenüber DON vermitteln (Dahleen et al., 2001). Chen et al. (1999) verbesserten die Typ II-Resistenz der anfälligen Sorte Bobwhite, indem sie transgene Pflanzen entwickelten, die ein Thaumatin-ähnliches Protein aus Reis unter der Kontrolle eines Ubiquitin-Promotors exprimierten. Mackintosh et al. (2007) entwickelten ebenfalls unter Verwendung der Sorte Bobwhite transgene Weizenlinien, die α -1-Purothionin, Thaumatin-ähnliches Protein 1 (*tlp-1*) bzw. β -1,3-Glucanase überexprimierten. Diese zeigten nach Inokulation mit *F. graminearum* sowohl im Gewächshaus als auch im Feld eine signifikant verbesserte Resistenz. *NPR1* aus *Arabidopsis thaliana* reguliert die Aktivierung der systemisch erworbenen Resistenz. Transgene Weizenpflanzen der Sorte Bobwhite mit *NPR1* zeichneten sich durch ein erhöhtes Typ II-Resistenzniveau aus, indem an der Pathogenabwehr beteiligte Mechanismen schneller aktiviert wurden (Makandar et al., 2006). Ein weiteres Gen mit antifungaler Wirkung (*b-32* aus Mais) führte in transgenen Pflanzen der Sorte Veery nach Einzelährcheninokulation sowohl zu einem verringerten Fusariumbefall als auch zu einem geringeren Anteil an Küm-

merkörnern (Balconi et al., 2007). Ein Beispiel für ein Gen, welches eine Resistenz gegenüber DON vermittelt ist *FsTRI101* aus *F. sporotrichoides*. Es kodiert für eine Acetyltransferase, die DON in eine weniger toxische Form umwandelt. In einem Gewächshausversuch zeigte eine transgene Weizenpflanze mit *FsTRI101* eine partielle Ausbreitungsresistenz nach Einzelährcheninokulation mit *F. graminearum* (Okubara et al., 2002). Das Expressionsniveau übertragener Gene wird unter anderem durch die Wahl geeigneter Promotoren beeinflusst. Sind wie im Fall der Ährenfusariosen verschiedene Gewebe angreifbar und die Pathogen-Wirt-Interaktionen noch nicht vollständig aufgeklärt, so empfiehlt sich die Verwendung von starken, konstitutiven Promotoren (Dahleen et al., 2001). Diese bieten zudem den Vorteil, dass Gene, die unter der Kontrolle von solchen Promotoren überexprimiert werden, auch gegenüber anderen Pathogenen wirksam sein könnten, die entweder andere Organe der Pflanze angreifen oder diese zu anderen Entwicklungsstadien befallen. Auch in den oben zitierten Studien wurden für die Erstellung der jeweiligen Genkonstrukte konstitutive Promotoren wie beispielsweise der 35S- oder der Ubiquitin-Promotor verwendet. Langfristig betrachtet sollten jedoch organ-, gewebe- oder pathogenspezifische Promotoren verwendet werden, so dass antifungale Proteine nur in den jeweils anfälligen Teilen der Pflanze, zum Zeitpunkt der Blüte und bei Anwesenheit des Pathogens exprimiert werden, um so beispielsweise den Abfluss von Stoffwechselprodukten für die Synthese dieser Proteine zu minimieren (Dahleen et al., 2001). Der Erfolg des Gentransfers hängt aber nicht nur von der Wirksamkeit übertragener Gene und den verwendeten Promotoren ab, sondern er wird durch eine Vielzahl weiterer Faktoren beeinflusst wie beispielsweise der Transformationsmethode, der Fähigkeit des verwendeten Genotyps zur Kallusbildung, einer möglicherweise auftretenden somaklonalen Variation, die andere Merkmale negativ beeinflussen könnte, oder der Stabilität der Genexpression („gene silencing“) in transgenen Pflanzen (Dahleen et al., 2001).

5. Zusammenfassung

Die durch *Fusarium*-Pilze hervorgerufene partielle Taubährigkeit bei Weizen (*Triticum aestivum* L.) stellt weltweit ein Problem dar. Die Züchtung und der Anbau resistenter Sorten ist die vielversprechendste Strategie, um Ährenfusariosen und eine damit verbundene mögliche Kontamination der Körner mit verschiedenen Mykotoxinen zu vermeiden.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Kartierung von Resistenz-QTL (Quantitative Trait Loci) in einer adaptierten Winterweizenpopulation, die aus einer Kreuzung zwischen der anfälligen Sorte Pelikan und dem resistenten Genotyp G93010 (Busard/Ning8026) hervorgegangen ist. Die aus 122 rekombinanten Inzuchtlinien (RILs) bestehende Population wurde mittels AFLP- und SSR-Markern genotypisiert und nach Sprühhinokulation mit *Fusarium culmorum* an vier Orten im Feld geprüft. In einer multiplen Intervallkartierung (MIM) konnten insgesamt sieben Resistenz-QTL detektiert werden, die zusammen 57% der phänotypischen Varianz (R^2) erklärten. Zwei Haupt-QTL lagen dabei auf den Chromosomen 5BL/7BS ($R^2 = 21\%$) und 6BS ($R^2 = 18\%$). Der Resistenz-QTL auf Chromosom 5BL/7BS überlappte mit QTL für die Wuchshöhe und den Zeitpunkt des Ährenschiebens. Die genannten Resistenz-QTL sind sehr wahrscheinlich Komponenten, die im europäischen Zuchtmaterial bisher noch nicht eingesetzt wurden. Sie haben also das Potenzial, um in markergestützten Rückkreuzungsprogrammen das Resistenzniveau zu erhöhen.

Ein weiterer Teil der Arbeit beschäftigte sich mit der Validierung von Resistenz-QTL, die zuvor in einer Dream/Lynx-Winterweizenpopulation kartiert wurden. Dafür erfolgte zunächst die Anreicherung der QTL-Intervalle auf den Chromosomen 7BS, 6AL und 2BL mit AFLP-Markern. Für die QTL-Verifizierung wurden Linien mit einem relativ homogenen genetischen Hintergrund mittels Rückkreuzungs- und Selbstungsgenerationen markergestützt entwickelt. Die Prüfung dieser Linien auf ihre Resistenzeigenschaften fand 2005 an drei bzw. vier Orten nach Sprühhinokulation mit *Fusarium culmorum* statt. Die phänotypischen Effekte der beiden Haupt-QTL auf den Chromosomen 6AL und 7BS in den Rückkreuzungslinien waren denen der ursprünglichen Kartierungspopulation sehr ähnlich.

In den Rückkreuzungslinien reduzierte die Kombination beider Resistenzallele den Befall am effektivsten (36%). Dass die beiden QTL *Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS*

entscheidende Komponenten für ein gutes Resistenzniveau sind, zeigte sich außerdem dadurch, dass alle Genotypen, die eine gute Fusariumresistenz aufwiesen, mindestens eines der beiden Resistenzallele besaßen. Beide QTL hatten einen Einfluss auf die Halmlänge, dennoch konnten auch Linen selektiert werden, die einen kurzen Wuchstyp mit einem geringen Befallsniveau kombinierten, wodurch die züchterische Nutzbarkeit dieser QTL unterstrichen wird.

6. Summary

Fusarium head blight (FHB) of wheat (*Triticum aestivum* L.) is a serious problem in many areas worldwide. Breeding and cultivation of resistant cultivars is the most promising strategy to avoid FHB and the resulting contamination of kernels with different mycotoxins.

One objective of this study was the mapping of resistance QTL (Quantitative Trait Loci) in an adapted winter wheat population, which came out of a cross between the susceptible cultivar Pelikan and the resistant genotype G93010 (Bussard/Ning8026). The population, consisting of 122 recombinant inbred lines (RILs), was genotyped with AFLP and SSR markers and examined for FHB resistance in field trials after spray inoculation with *Fusarium culmorum* at four locations. With a multiple interval mapping (MIM) method, seven resistance QTL could be detected, which explained together 57% of the phenotypic variance (R^2). Two main QTL were located on chromosomes 5BL/7BS ($R^2 = 21\%$) and 6BS ($R^2 = 18\%$), respectively. The resistance QTL on chromosome 5BL/7BS overlapped with QTL for plant height and heading date. The mentioned resistance QTL are probably components which have not been utilized in European breeding material so far. Thus, they have the potential to enhance the level of resistance in marker-assisted backcross programs.

The other objective of this study was the validation of resistance QTL, which had been previously mapped in a Dream/Lynx winter wheat population. Initially, the QTL intervals of chromosomes 7BS, 6AL and 2BL were enriched with AFLP markers. For the QTL verification, lines with a relatively homogenous genetic background were created by backcross and selfing generations combined with marker-assisted selection. In 2005, the evaluation of these lines for FHB resistance after spray inoculation with *Fusarium culmorum* took place at three/four locations. The phenotypic effects of the two main QTL on chromosomes 6AL and 7BS confirmed the results of the original mapping population.

In the backcross lines, the combination of both resistance alleles decreased disease severity most effectively (36%). Furthermore, the best genotypes carried one or both of the two resistance alleles *Qfhs.lfl-6AL* and *Qfhs.lfl-7BS*, displaying that these QTL are important components for disease resistance. Both QTL had an effect on plant height. Nevertheless, the selection of lines combining a short plant height with a low

disease severity was possible. This emphasizes the usability of these QTL in plant breeding programs.

7. Literatur

- Akbari M., Wenzl P., Caig V., Carling J., Xia L., Yang S., Uszynski G., Mohler V., Lehmensiek A., Kuchel H., Hayden M. J., Howes N., Sharp P., Vaughan P., Rathmell B., Huttner E., Kilian A., 2006. Diversity arrays technology (DArT) for high-throughput profiling of the hexaploid wheat genome. *Theor. Appl. Genet.* 113: 1409-1420.
- Anderson J. A., Stack R. W., Liu S., Waldron B. L., Fjeld A. D., Coyne C., Moreno-Sevilla B., Mitchell Fetch J., Song Q. J., Cregan P. B., Frohberg R. C., 2001. DNA markers for *Fusarium* head blight resistance QTLs in two wheat populations. *Theor. Appl. Genet.* 102: 1164-1168.
- Asíns M. J., 2002. Present and future of quantitative trait locus analysis in plant breeding. *Plant Breed.* 121: 281-291.
- Atanasoff Z., Nakamura C., Mori N., Kaneda C., 1994. Mycotoxin production and pathogenicity of *Fusarium* species and wheat resistance to *Fusarium* head blight. *Can. J. Bot.* 72: 161-167.
- Bachem C., van der Hoeven R., De Bruijn M., Vreugdenhil D., Zabeau M., Visser R., 1996. Visualization of differential gene expression using a novel method of RNA fingerprinting based on AFLP: analysis of gene expression during potato tuber development. *Plant J.* 9: 745-753.
- Bai G. H., Kolb F. L., Shaner G., Domier L. L., 1999. Amplified fragment length polymorphism markers linked to major quantitative trait locus controlling scab resistance in wheat. *Phytopathology* 89: 343-348.
- Bai G. H., Shaner G., 2004. Management and resistance in wheat and barley to *Fusarium* head blight. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42: 135-161.
- Balconi C., Lanzanova C., Conti E., Triulzi T., Forlani F., Cattaneo M., Lupotto E., 2007. *Fusarium* head blight evaluation in wheat transgenic plants expressing the maize *b-32* antifungal gene. *Eur. J. Plant Pathol.* 117: 129-140.
- Becker H., 1993. *Pflanzenzüchtung*. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart.

- Bernardo A., Bai G. H., Guo P., Xiao K., Guenzi A. C., Ayoubi P., 2007. *Fusarium graminearum*-induced changes in gene expression between *Fusarium* head blight-resistant and susceptible wheat cultivars. *Funct. Integr. Genomics* 7: 69-77.
- Blanco A., Bellomo M. P., Cenci A., De Giovanni C., D'Ovidio R., Iacono E., Laddomada B., Pagnotta M. A., Porceddu E., Sciancalepore A., Simeone R., Tanzarella O. A., 1998. A genetic linkage map of durum wheat. *Theor. Appl. Genet.* 97: 721-728.
- Bossolini E., Wicker T., Knobel P. A., Keller B., 2007. Comparison of orthologous loci from small grass genomes *Brachypodium* and rice: implications for wheat genomics and grass genome annotation. *Plant J.* 49: 704-717.
- Bottalico A., Perrone G., 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *Eur. J. Plant Pathol.* 108: 611-624.
- Bourdoncle W., Ohm H. W., 2003. Quantitative trait loci for resistance to *Fusarium* head blight in recombinant inbred wheat lines from the cross Huapei 57-2/Patterson. *Euphytica* 131: 131-136.
- Brennan J. P., Rehman A., Raman H., Milgate A. W., Fleming D., Martin P. J., 2005. An economic assessment of the value of molecular markers in plant breeding programs. 49th Annual conference of the Australian Agricultural and Resource Economics Society, Coffs Harbour, February 2005.
- Buerstmayr H., Steiner B., Lemmens M., Ruckebauer P., 2000. Resistance to *Fusarium* head blight in winter wheat: Heritability and trait associations. *Crop Sci.* 40: 1012-1018.
- Buerstmayr H., Lemmens M., Hartl L., Doldi L., Steiner B., Stierschneider M., Ruckebauer P., 2002. Molecular mapping of QTLs for *Fusarium* head blight resistance in spring wheat. I. Resistance to fungal spread (Type II resistance). *Theor. Appl. Genet.* 104: 84-91.
- Buerstmayr H., Steiner B., Hartl L., Griesser M., Angerer N., Lengauer D., Miedaner T., Schneider B., Lemmens M., 2003. Molecular mapping of QTL for *Fusarium* head blight resistance in spring wheat. II. Resistance to fungal penetration and spread. *Theor. Appl. Genet.* 107: 503-508.

- Chen J., Griffey C., A., Saghai Maroof M. A., Stromberg E. L., Biyashev R. M., Zhao W., Chappell M. R., Pridgen T. H., Dong Y., Zeng Z., 2006. Validation of two major quantitative trait loci for Fusarium head blight resistance in Chinese wheat line W14. *Plant Breed.* 125: 99-101.
- Chen W. P., Chen P. D., Liu D. J., Kynast R., Friebe B., Velazhahan R., Muthukrishnan, 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.
- Churchill G. A., Doerge R. W., 1994. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics* 138: 963-971.
- Cuthbert P. A., Somers D. J., Thomas J., Cloutier S., Brulé-Babel A., 2006. Fine mapping *Fhb1*, a major gene controlling Fusarium head blight resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 112: 1465-1472.
- Cuthbert P. A., Somers D. J., Brulé-Babel A., 2007. Mapping of *Fhb2* on chromosome 6BS: a gene controlling Fusarium head blight resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 114: 429-437.
- Dahleen L. S., Okubara P. A., Blechl A. E., 2001. Transgenic approaches to combat Fusarium head blight in wheat and barley. *Crop Sci.* 41: 628-637.
- Daniel X., Lacomme C., Morel J. B., Roby D., 1999. A novel *myb* oncogene homologue in *Arabidopsis thaliana* related to hypersensitive cell death. *Plant J.* 20: 57-66.
- Desjardins A. E., Proctor R. H., Bai G. H., McCormick S. P., Shaner G., Beuchley G., Hohn T. M., 1996. Reduced virulence of trichothecene-nonproducing mutants of *Gibberella zeae* in wheat field tests. *Mol. Plant Micr. Interact.* 9: 775-781.
- Dexter J. E., Marchylo R. M., Clear R. M., Clarke J. M., 1997. Effect of Fusarium head blight on semolina milling and pasta-making quality of durum wheat. *Cereal Chem.* 74: 519-525.
- Diethelm M., Mikolajewski S., Wagner C., Rhiel M., Hartl L., Zimmermann G., Friedt W., Schweizer G., 2006. Fusarium-Resistenz von Winterweizen: Projektvorstellung zur Entwicklung und Kartierung funktioneller genetischer Marker mit Hilfe der Expressionsanalyse. Tagungsband der 57. Jahrestagung der Vereinigung der

- Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, 21-23. November 2006, Raumberg-Gumpenstein: 91.
- Dill-Macky R., Jones R. K., 2000. The effect of previous crop residues and tillage on Fusarium head blight of wheat. *Plant Dis.* 84: 71-76.
- Ditt R. F., Nester E. W., Comai L., 2001. Plant gene expression response to *Agrobacterium tumefaciens*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 10954-10959.
- El-Badawy M., 2001. Localization and characterization of quantitative trait loci for Fusarium head blight resistance in wheat by means of molecular markers (PhD thesis). Technische Universität München. <http://tumblr.biblio.tu-muenchen.de/pupl/diss/ww/2001/badawy.pdf>
- Fehr W. R., 1987. Principles of cultivar development. Theory and technique, Vol 1. Macmillan, New York.
- Feng Q., Zhang Y., Hao P., Wang S., Fu G., Huang Y., Li Y., Zhu J., Liu Y., Hu X., et al., 2002. Sequence and analysis of rice chromosome 4. *Nature* 420: 316-320.
- Feuillet C., Travella S., Stein N., Albar L., Nublát A., Keller B., 2003. Map-based isolation of the leaf rust disease resistance gene *Lr10* from the hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 15253-15258.
- Foote T. N., Griffiths S., Allouis S., Moore G., 2004. Construction and analysis of a BAC library in the grass *Brachypodium sylvaticum*: its use as a tool to bridge the gap between rice and wheat in elucidating gene content. *Funct. Integr. Genomics* 4: 26-33.
- Gale M. D., Atkinson M. D., Chinoy C. N., Harcourt R. L., Jia J., Li Q. Y., Devos K. M., 1995. Genetic maps of hexaploid wheat. In: Li Z. S., Xin Z. Y. (eds) *Proc. 8th Int. Wheat Genetics Symp. Agric Sciencetech Press, Beijing*, pp 29-40/*Genome* 37: 871-875.
- Gang D. R., Kasahara H., Xia Z.-Q., Mijnsbrugge K. V., Bauw G., Boerjan W., v. Montagu M., Davin L. B., Lewis N. G., 1999: Evolution of plant defense mechanisms. *J. Biol. Chem.* 11: 7516-7527.
- Gervais L., Dedryver F., Morlais J. Y., Bodusseau V., Negre S., Bilous M., Groos C., Trottet M., 2003. Mapping of quantitative trait loci for field resistance to Fusarium head blight in an European winter wheat. *Theor. Appl. Genet.* 106: 961-970.

- Gilchrist E. J., Haughn G. W., 2005. TILLING without a plough: a new method with applications for reverse genetics. *Curr. Opin. Plant Biol.* 8: 1-5.
- Gilsinger J., Kong L., Shen X., Ohm H., 2005. DNA markers associated with low *Fusarium* head blight incidence and narrow flower opening in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 110: 1218-1225.
- Giovannoni J. J., Wing R. A., Ganai M. W., Tanksley S. D., 1991. Isolation of molecular markers from specific chromosomal intervals using DNA pools from existing mapping populations. *Nucleic Acids Res.* 19: 6553-6558.
- Golkari S., Gilbert J., Prashar S., Procnier J. D., 2007. Microarray analysis of *Fusarium graminearum*-induced wheat genes: identification of organ-specific and differentially expressed genes. *Plant Biotechnol. J.* 5: 38-49.
- Guo P. G., Bai G. H., Shaner G., 2003. AFLP and STS tagging of a major QTL for *Fusarium* head blight resistance in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 106: 1011-1017.
- Guo P. G., Bai G. H., Li R. H., Shaner G., Baum M., 2006. Resistance gene analogs associated with *Fusarium* head blight resistance in wheat. *Euphytica* 151: 251-261.
- Gupta P. K., Balyan H. S., Edwards K. J., Isaac P., Korzun V., Röder M., Gautier M. F., Joudrier P., Schlatter A. R., Dubcovsky J., et al., 2002. Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* 105: 413-422.
- Haldane J. B. S., 1919. The combination of linkage values and the calculation of distances between loci of linked factors. *J. Genet.* 8: 299-309.
- Hartl L., Mohler V., Zeller F. J., Hsam S. L. K., Schweizer G., 1999. Identification of AFLP markers closely linked to powdery mildew resistance genes Pm1c and Pm4a in common wheat. *Genome* 42: 322-329.
- Hartl L., Wosnitza A., Zimmermann G., 2001. Sortenresistenz wird besser. *DLG-Mitteilungen* 8: 40-43.
- Hilton A. J., Jenkinson P., Hollins T. W., Parry D. W., 1999. Relationship between cultivar height and severity of *Fusarium* ear blight in wheat. *Plant Pathol.* 48: 202-208.

- Huang L., Brooks S. A., Li W., Fellers J. P., Trick H. N., Gill B. S., 2003. Map-based cloning of leaf rust resistance gene *Lr21* from the large and polyploidy genome of bread wheat. *Genetics* 164: 655-664.
- Ittu M., Saulescu N. N., Hagima I., Ittu G., Mustatea P., 2000. Association of Fusarium head blight resistance with gliadin loci in a winter cross. *Crop Sci.* 40: 62-67.
- Jansen C., Stam P., 1994. High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. *Genetics* 136: 1447-1455.
- Jansen C., v. Wettstein D., Schäfer W., Kodel K.-H., Felk A., Maier F. J., 2005. Infection patterns in barley and wheat spikes inoculated with wild type and trichodiene synthase gene disrupted *Fusarium graminearum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 16892-16897.
- Jenkinson P., Parry D. W., 1994. Isolation of *Fusarium* species from common broad-leaved weeds and their pathogenicity to winter wheat. *Mycol Res.* 98: 776-780.
- Jia G., Chen P., Qin G., Bai G. H., Wang X., Wang S., Zhou B., Zhang S., Liu D., 2005. QTLs for Fusarium head blight response in a wheat DH population of Wangshuibai/Alondra's'. *Euphytica* 146: 183-191.
- Jiang G., Wu Z., Huang D., 1994. Effects of recurrent selection for resistance to scab (*Giberella zae*) in wheat. *Euphytica* 72: 107-113.
- Kang Z., Buchenauer H., 2002. Studies on the infection process of *Fusarium culmorum* in wheat spikes: Degradation of host cell wall components and localization of trichothecene toxins in infected tissue. *Eur. J. Plant Pathol.* 108: 653-660.
- Kao C.-H., Zeng Z.-B., Teasdale R. D., 1999. Multiple interval mapping for quantitative trait loci. *Genetics* 152: 1203-1216.
- Keller B., Feuillet C., Yahiaoui N., 2005. Map-based isolation of disease resistance genes from bread wheat: cloning in a supsize genome. *Genet. Res. Camb.* 85: 93-100.
- Klahr A., Zimmermann G., Wenzel G., Mohler V., 2007. Effects of environment, disease progress, plant height and heading date on the detection of QTLs for resistance to Fusarium head blight in an European winter wheat cross. *Euphytica* 154: 17-28.

- Koebner R., Summers R., 2002. The impact of molecular markers on the wheat breeding paradigm. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 7: 695-702.
- Korol A., Ronin Y., Minkov D., Britvin E., Mester D., Korostishevsky M., Malkin I., Frenkel Z., Orion O., Brailovsky A., 2005. MultiQTL version 2.5. Institute of Evolution, Haifa University, Haifa, Israel.
- Korzun V., 2003. Molecular markers and their applications in cereals breeding. FAO International workshop: Marker assisted selection: A fast track to increase genetic gain in plant and animal breeding? Session I: MAS in plants, Turin 2003.
- Kosambi D. D., 1944. The estimation of map distances from recombination values. *Ann. Eugen.* 12: 172-175.
- Lander E. S., Green P., Abrahamson J., Barlow A., Daly M. J., Lincoln S. E., Newburg L., 1987. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1: 174-181.
- Lander E., S., Botstein D, 1989. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121: 185-199.
- Langevin F., Eudes F., Comeau A., 2004. Effect of trichothecenes produced by *Fusarium graminearum* during Fusarium head blight development in six cereal species. *Eur. J. Plant Pathol.* 110: 735-746.
- Langridge P., Lagudah E. S., Holton T. A., Appels R., Sharp P. J., Chalmers K. J., 2001. Trends in genetic and genome analyses in wheat: a review. *Aust. J. Agric. Res.* 52: 1043-1077.
- Laxalt A. M., Cassia R. O., Sanllorenti P. M., Madrid E. A., Andreu A. B., Daleo G. R., Conde R. D., Lamattina L., 1996. Accumulation of cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase RNA under biological stress conditions and elicitor treatments in potato. *Plant Mol. Biol.* 30: 961-972.
- Lebreton C. M., Visscher P. M., 1998. Empirical nonparametric bootstrap strategies in quantitative trait loci mapping: conditioning on the genetic model. *Genetics* 148: 525-535.

- Lee M.-W., Qi M., Yang Y., 2001. A novel jasmonic acid-inducible rice myb gene associates with fungal infection and host cell death. *Mol. Plant Micr. Inter.* 14: 527-535.
- Lemmens M., Scholz U., Berthiller F., Dall'Asta C., Koutnik A., Schuhmacher R., Adam G., Buerstmayr H., Mesterházy Á., Krska R., Ruckebauer P., 2005. The ability to detoxify the mycotoxin deoxynivalenol colocalizes with a major quantitative trait locus for *Fusarium* head blight resistance in wheat. *Mol. Plant Micr. Inter.* 18: 1318-1324.
- Lin F., Kong Z. X., Zhu H. L., Xue S. L., Wu J. Z., Tian D. G., Wie J. B., Zhang C. Q., Ma Z. Q., 2004. Mapping QTL associated with resistance to *Fusarium* head blight in the Nanda2419 x Wangshuibai population. I. Type II resistance. *Theor. Appl. Genet.* 109: 1504-1511.
- Lin F., Xue S. L., Zhang Z. Z., Zhang C. Q., Kong Z. X., Yao G. Q., Tian D. G., Zhu H. L., Li C. J., Cao Y., Wei J. B., Luo Q. Y., Ma Z. Q., 2006. Mapping QTL associated with resistance to *Fusarium* head blight in the Nanda2419 x Wangshuibai population. II: Type I resistance. *Theor. Appl. Genet.* 112: 528-535.
- Liu S., Zhang X., Pumphrey M. O., Stack R. W., Gill B. S., Anderson J. A., 2006. Complex microcolinearity among wheat, rice, and barley revealed by fine mapping of the genomic region harbouring a major QTL for resistance to *Fusarium* head blight in wheat. *Funct. Integr. Genomics* 6: 83-89.
- Liu Z. Z., Wang Z. Y., Huang D. C., Zhao W. J., Huang X. M., Yao Q. H., Sun X. J., Yang Y. M., 1991. Generality of scab-resistance transgression in wheat and utilization of scab-resistance genetic resources. *A Suppl. Acta Agr. Shanghai* 7: 65-70.
- Lucyshyn D., Busch B. L., Abolmaali S., Steiner B., Chandler E., Sanjarian F., Mousavi A., Nicholson P., Buerstmayr H., Adam G., 2007. Cloning and characterization of the ribosomal protein L3 (*RPL3*) gene family from *Triticum aestivum*. *Mol. Genet. Genomics* 277: 507-517.
- Ma H. X., Zhang K. M., Gao L., Bai G. H., Chen H. G., Cai Z. X., Lu W. Z., 2006. Quantitative trait loci for resistance to *Fusarium* head blight and deoxynivalenol accumulation in Wangshuibai wheat under field conditions. *Plant Pathol.* 55: 739-745.

- Mackintosh C. A., Lewis J., Radmer L. E., Shin S., Heinen S. J., Smith L. A., Wyckoff M. N., Dill-Macky R., Evans C. K., Kravchenko S., Baldrige G., D., Zeyen R. J., Muehlbauer G. J., 2007. Overexpression of defense response genes in transgenic wheat enhances resistance to *Fusarium* head blight. *Plant Cell Rep.* 26: 479-488.
- Makandar R., Essig J. S., Schapaugh M. A., Trick H. N., Shah J., 2006. Genetically engineered resistance to *Fusarium* head blight in wheat by expression of *Arabidopsis NPR1*. *Mol. Plant Micr. Interact.* 19: 123-129.
- Mardi M., Buerstmayr H., Ghareyazie B., Lemmens M., Mohammadi S. A., Nolz R., Ruckenbauer P., 2005. QTL analysis of resistance to *Fusarium* head blight in wheat using a 'Wangshuibai'-derived population. *Plant Breed.* 124: 329-333.
- Mardi M., Pazouki L., Delvar H., Kazemi M. B., Ghareyazie B., Steiner B., Nolz R., Lemmens M., Buerstmayr H., 2006. QTL analysis of resistance to *Fusarium* head blight in wheat using a 'Frontana'-derived population. *Plant Breed.* 125: 313-317.
- Martin R. A., Johnston H. W., 1982. Effects and control of *Fusarium* diseases of cereal grains in the Atlantic Provinces. *Can. J. Plant Pathol.* 4: 210-216.
- McCartney C. A., Somers D. J., Fedak G., DePauw R. M., Thomas J., Fox S. L., Humphreys D. G., Lukow O., Savard M. E., McCallum B. D., Gilbert J., Cao W., 2007. The evaluation of FHB resistance QTLs introgressed into elite Canadian spring wheat germplasm. *Mol. Breed.* DOI 10.2007/s11032-007-9084-z.
- McLaughlin C. S., Vaughn M. H., Campbell J. M., Wei C. M., Stafford M. E., Hansin B. S., 1977. Inhibition of protein synthesis by trichothecenes. Pages 263-273 in : *Mycotoxins in Human and Animal Health*. Rodricks H. V., Hesseltine C. W., Mehlman M. A., ed. Pathotoxin Publishers, Park Forest South, IL.
- Melchinger A. E., Utz H. F., Schön C. C., 1998. Quantitative trait locus (QTL) mapping using different testers and independent population samples in maize reveals a low power of QTL detection and a large bias in estimates of QTL effects. *Genetics* 149: 383-403.
- Mesterházy Á., 1995. Types and components of resistance against *Fusarium* head blight of wheat. *Plant Breed.* 114: 377-386.

- Mesterházy Á., Bartók T., Mirocha C. G., Komoróczy, 1999. Nature of wheat resistance to *Fusarium* head blight and the role of deoxynivalenol for breeding. *Plant Breed.* 118: 97-110.
- Mesterházy Á., 2002. Role of deoxynivalenol in aggressiveness of *Fusarium graminearum* and *F. culmorum* and in resistance to *Fusarium* head blight. *Eur. J. Plant Pathol.* 108: 675-684.
- Mesterházy Á., Bartók T., Kászonyi G., Varga M., Tóth B., Varga J., 2005. Common resistance to different *Fusarium* spp. causing *Fusarium* head blight in wheat. *Eur. J. Plant Pathol.* 112: 267-281.
- Michiels A., Tucker M., v. d. Ende W., v. Laere A., 2003. Chromosomal walking of flanking regions from short known sequences in GC-rich plant genomic DNA. *Plant Mol. Biol. Repr.* 21: 295-302.
- Miedaner T., Gang G., Geiger H. H., 1996. Quantitative-genetic basis of aggressiveness of 42 isolates of *Fusarium culmorum* for winter rye head blight. *Plant Dis.* 80: 500-504.
- Miedaner T., Heinrich N., Schneider B., Oettler G., Rohde S., Rabenstein F., 2004. Estimation of deoxynivalenol (DON) content by symptom rating and exoantigen content for resistance selection in wheat and triticale. *Euphytica* 139: 123-132.
- Miedaner T., Wilde F., Steiner B., Buerstmayr H., Korzun V., Ebmeyer E., 2006. Stacking quantitative trait loci (QTL) for *Fusarium* head blight resistance from non-adapted sources in an European elite spring wheat background and assessing their effects on deoxynivalenol (DON) content and disease severity. *Theor. Appl. Genet.* 112: 562-569.
- Miller J. D., Young J. C., Sampson R. D., 1985. Deoxynivalenol and *Fusarium* head blight resistance in spring cereals. *Phytopath. Z.* 113: 359-367.
- Miura H., Parker B. B., Snape J. W., 1992. The location of major genes and associated quantitative trait loci on chromosome arm 5BL of wheat. *Theor. Appl. Genet.* 85: 197-204.
- Mohler V., Hsam S. L. K., Zeller F. J., Wenzel G., 2001. An STS marker distinguishing the rye-derived powdery mildew resistance alleles at the *Pm8/Pm17* locus of common wheat. *Plant Breed.* 120: 448-450.

- Mohler V., Klahr A., Wenzel G., Schwarz G., 2002. A resistance gene analog for use-ful for targeting disease resistance genes against different pathogens on group 1S chromosomes of barley, wheat and rye. *Theor. Appl. Genet.* 105: 364-368.
- Nightingale M. J., Marchylo J. E., Clear R. M., Dexter J. E., Preston K. R., 1999. Fusarium head blight: Effect of fungal proteases on wheat storage proteins. *Cereal Chem.* 76: 150-158.
- Obst A., Gammel P., 2000. Fungizide gegen den Ährenparasiten *Fusarium graminearum*. Risiken durch den Ährenparasiten *Fusarium graminearum* – Ergebnisse eines LBP-Forschungsverbundes, Schriftenreihe der Bayerischen Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau, ISSN 1433-3155: 89-98.
- Okubara P. A., Blechl A. E., McCormick S. P., Alexander N. J., Dill-Macky R., Hohn T. M., 2002. Engineering deoxynivalenol metabolism in wheat through the expres-sion of a fungal trichothecene acetyltransferase gene. *Theor. Appl. Genet.* 106: 74-83.
- Paillard S., Schnurbusch T., Winzeler M., Messmer M., Sourdille P., Abderhalden O., Keller B., Schachermayr G., 2003. An integrative genetic linkage map of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 107: 1235-1242.
- Paillard S., Schnurbusch T., Tiwari R., Messmer M., Winzeler M., Keller B., Scha-chermayr G., 2004. QTL analysis of resistance to Fusarium head blight in Swiss winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 109: 323-332.
- Parry D. W., Jenkinson P., McLeod L., 1995. Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals – a review. *Plant Pathol.* 44: 207-238.
- Petersen G., Seberg O., Yde M., Berthelsen K., 2006. Phylogenetic relationships of *Triticum* and *Aegilops* and evidence for the origin of the A, B and D genomes of common wheat (*Triticum aestivum*). *Mol. Phyl. Evol.* 39: 70-82.
- Pirgozliev S. R., Edwards S. G., Hare M. C., Jenkinson P., 2003. Strategies for the control of Fusarium head blight in cereals. *Eur. J. Plant Pathol.* 109: 731-742.
- Pritsch C., Muehlbauer G. J., Bushnell W. R., Somers D. A., Vance C. P., 2000. Fun-gal development and induction of defense response genes during early infection of wheat spikes by *Fusarium graminearum*. *Mol. Plant Micr. Interact.* 13: 159-169.

- Proctor R. H., Hohn T. M., McCormick S. P., 1995. Reduced virulence of *Gibberella zeae* caused by disruption of a trichothecene toxin biosynthetic gene. *Mol. Plant Micr. Interact.* 8: 593-601.
- Quarrie S. A., Steed A., Calestani C., Semikhodskii A., Lebreton C., Chinoy C., Steele N., et al., 2005. A high-density map of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) from the cross Chinese Spring x SQ1 and its use to compare QTLs for grain yield across a range of environments. *Theor. Appl. Genet.* 110: 865-880.
- Queitsch C., Hong S. W., Vierling E., Lindquist S., 2000. Heat shock protein 101 plays a crucial role in thermotolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 12: 479-492.
- Reynolds S. K., Anderson J. A., 2004. Assessment of the breeding value of QTLs for Fusarium head blight resistance in wheat. In: Canty S. M., Boring T., Wardwell J., Ward R. W. (Eds.). *Proc 2nd Int. Symp. Fusarium Head Blight*, vol. 1, 11-15 December, Orlando, FL, USA, Michigan State Univ., East Lansing, p. 154.
- Röder M., Plaschke J., König S. U., Börner A., Sorrells M. E., Tanksley S. D., Ganal M. W., 1995. Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Mol. Gen. Genet.* 246: 327-333.
- Röder M. S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M. H., Leroy P., Ganal M. M., 1998. A microsatellite map of wheat. *Genetics* 149: 2007-2023.
- Rudd J. C., Horsley R. D., McKendry A. L., Elias E. M., 2001. Host plant resistance genes for Fusarium head blight: Sources, mechanisms and utility in conventional breeding systems. *Crop Sci.* 41: 620-627.
- Saghai-Marouf M. A., Soliman K. M., Jorgensen R. A., Allard R. W., 1984. Ribosomal DNA spacerlength polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 8014-8019.
- Salameh A., Buerstmayr H., 2004. Development of near-isogenic lines for validation of QTL for Fusarium head blight resistance. In: Canty S. M., Boring T., Wardwell J., Ward R. W. (Eds.). *Proc 2nd Int. Symp. Fusarium Head Blight*, vol. 1, 11-15 December, Orlando, FL, USA, Michigan State Univ., East Lansing, p. 155.
- SAS Institute Inc., 2004, SAS 9.1 Qualification tools user's guide, Cary N. C.

- Sax K., 1923. The association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. *Genetics* 8: 552-560.
- Schmolke M., 2004. Molekulargenetische Charakterisierung und Lokalisierung von Resistenzgenloci gegen Ährenfusariosen bei Winterweizen (Dissertation). Technische Universität München. <http://mediatum.ub.tum.de>.
- Schmolke M., Zimmermann G., Buerstmayr H., Schweizer G., Miedaner T., Korzun V., Ebmeyer E., Hartl L., 2005. Molecular mapping of Fusarium head blight resistance in the winter wheat population Dream/Lynx. *Theor. Appl. Genet.* 111: 747-756.
- Schmolke M., 2006. Etablierung der TILLING-Technik im hexaploiden Winterweizen. Tagungsband der 57. Jahrestagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, 21-23. November 2006, Raumberg-Gumpenstein: 25-26.
- Schroeder H. W., Christensen J. J., 1963. Factors affecting resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zae*. *Phytopathology* 53: 831-838.
- Sears E. R., 1966. Nulli-tetrasomic combinations in hexaploid wheat. In: Riley R. and Lewis K. R. (ed.). *Chromosome manipulation and plant genetics, a suppl. to Heredity* 20: 29-45, Oliver and Boyd, Edinburgh.
- Shen X., Zhou M., Lu W., Ohm H., 2003a. Detection of Fusarium head blight resistance QTL in a wheat population using bulked segregant analysis. *Theor. Appl. Genet.* 106: 1041-1047.
- Shen X., Ittu M., Ohm H., 2003b. Quantitative trait loci conditioning resistance to Fusarium head blight in wheat line F201 R. *Crop Sci.* 43: 850-857.
- Shen X., Francki M. G., Ohm H. W., 2006. A resistance-like gene identified by EST mapping and its association with a QTL controlling Fusarium head blight infection on wheat chromosome 3BS. *Genome* 49: 631-635.
- Simpson D. R., Weston G. E., Turner J. A., Jennings P., Nicholson P., 2001. Differential control of head blight pathogens of wheat by fungicides and consequences for mycotoxin contamination of grain. *Eur. J. Plant Pathol.* 107: 421-431.

- Slade A. J., Fuerstenberg S. I., Loeffler D., Steine M. N., Facciotti D., 2005. A reverse genetic, nontransgenic approach to wheat crop improvement by TILLING. *Nature Biotechnol.* 23: 75-81.
- Snijders C. H. A., 1990a. The inheritance of resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum* in winter wheat. *Euphytica* 50: 11-18.
- Snijders C. H. A., 1990b. Response to selection in F2 generations of winter wheat for resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum*. *Euphytica* 50: 163-169.
- Snijders C. H. A., 2004. Resistance in wheat to *Fusarium* infection and trichothecene formation. *Toxicol. Letters* 153: 37-46.
- Somers D. J., Fedak G., Savard M., 2003. Molecular mapping of novel genes controlling *Fusarium* head blight resistance and deoxynivalenol accumulation in spring wheat. *Genome* 46: 555-564.
- Somers D. J., Isaac P., Edward K., 2004. A high-density wheat microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 109: 1105-1114.
- Somers D. J., Thomas J., DePauw R., Fox S., Humphreys G., Fedak G., 2005. Assembling complex genotypes to resist *Fusarium* in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 111: 1623-1631.
- Song Q. J., Shi J. R., Singh S., Fickus E. W., Costa J. M., Lewis J., Gill B. S., Ward R., Cregan P. B., 2005. Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 110: 550-560.
- Sopory S. K., Munshi M., 1998. Protein kinases and phosphatases and their role in cellular signalling in plants. *Crit. Rev. Plant Sci.* 17: 245-318.
- Steiner B., Lemmens M., Griesser M., Scholz U., Schondelmaier J., Buerstmayr H., 2004. Molecular mapping of resistance to *Fusarium* head blight in the spring wheat cultivar Frontana. *Theor. Appl. Genet.* 109: 215-224.
- Sutton J. C., 1982. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Can. J. Plant Pathol.* 4: 195-209.

- Takahashi A., Casais C., Ichimura K., Shirasu K., 2003. HSP90 interacts with RAR1 and SGT1 and is essential for RPS2-mediated disease resistance in *Arabidopsis*. Proc. Acad. Natl. Sci. USA 100: 11777-11782.
- Tenaillon M. I., Sawkins M. C., Long A. D., Gaut R. L., Doebley J. F., Gaut B. S., 2001. Patterns of DNA sequence polymorphism along chromosome 1 of maize (*Zea mays* ssp. *mays* L.). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98: 9161-9166.
- Trenholm H. L., Hamilton R. M. G., Friend D. W., Thompson K. E., Hartin D. V. M., 1984. Feeding trials with vomitoxin (deoxynivalenol)-contaminated wheat: Effects on swine, poultry, and dairy cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 185: 527-531.
- Utz H. F., Melchinger A. E., 1994. Comparison of different approaches to interval mapping of quantitative trait loci. In: J. W. van Ooijen und J. Jansen (eds), Biometrics in Plant Breeding: Applications of molecular markers. Proc. 9th Meet. EUCARPIA Section Biometrics in Plant Breeding: 195-204. CPRO-DLO, Wageningen.
- Utz H. F., Melchinger A. E., Schön C. C., 2000. Bias and sampling error of the estimation of genotypic variance explained by quantitative trait loci determined from experimental data in maize using cross validation and validation with independent samples. Genetics 154: 1839-1849.
- Utz H. F., 2001. PLABSTAT: ein Computerprogramm zur statistischen Analyse von pflanzenzüchterischen Experimenten, Version 2P. Institut für Pflanzenzüchtung, Universität Hohenheim, Stuttgart, Deutschland.
- Van Eeuwijk F. A., Mesterhazy A., Kling C. I., Ruckebauer P., Saur L., Buerstmayr H., Lemmens M., Keizer L. C. P., Maurin N., Snijders C. H. A., 1995. Assessing non-specificity of resistance in wheat to head blight caused by inoculation with European strains of *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* and *F. nivale* using a multiplicative model for interaction. Theor. Appl. Genet. 90: 221-228.
- Van Ooijen J. W., Voorrips R. E., 2001. Joinmap 3.0, Software for the calculation of genetic linkage maps. Plant Research International, Wageningen, Netherlands, pp. 1-51.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee T., Horens M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M., 1995. AFLP : a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Res. 23: 4407-4414.

- Waldron B. L., Moreno-Sevilla B., Anderson J. A., Stack R. W., Frohberg R. C., 1999. RFLP mapping of QTL for Fusarium head blight resistance in wheat. *Crop Sci.* 39: 805-811.
- Wang Y., Yang L., Xu H., Li Q., Ma Z., Chu C., 2005. Differential proteomic analysis of proteins in wheat spikes induced by *Fusarium graminearum*. *Proteomics* 5: 4496-4503.
- Wang Z., Weber J. L., Zhong G., Tanksley S. D., 1994. Survey of plant short tandem repeats. *Theor. Appl. Genet.* 88: 1-6.
- Wilde F., T. Miedaner, 2006. Selection for Fusarium head blight resistance in early generations reduces the deoxynivalenol (DON) content in grain of winter and spring wheat. *Plant Breed.* 125: 96-98.
- Wilde F., Korzun V., Ebmeyer E., Geiger H. H., Miedaner T., 2007. Comparison of phenotypic and marker-based selection for Fusarium head blight resistance and DON content in spring wheat. *Mol. Breed.* 19: 357-370.
- Wise R. P., 2000. Disease resistance: What's brewing in barley genomics. *Plant Dis.* 84: 1160-1170.
- Xie C., Sun Q., Ni Z., Yang T., Nevo E., Fahima T., 2004. Identification of resistance gene analogue markers closely linked to wheat powdery mildew resistance gene *Pm31*. *Plant Breed.* 123: 198-200.
- Xu D. H., Ban T., 2004. Conversion of AFLP markers associated with FHB resistance in wheat into STS markers with an extension-AFLP method. *Genome* 47: 660-665.
- Yahiaoui N., Srichumpa P., Dudler R., Keller B., 2004. Genome analysis at different ploidy levels allows cloning of the powdery mildew resistance gene *Pm3b* from hexaploid wheat. *Plant J.* 37: 528-538.
- Yan G. P., Chen X. M., Line R. F., Wellings C. R., 2003. Resistance gene analog polymorphism markers co-segregating with the *Yr5* gene for resistance to wheat stripe rust. *Theor. Appl. Genet.* 106: 636-643.
- Yan L., Loukoianov A., Tranquilli G., Helguera M., Fahima T., Dubcovsky J., 2003. Positional cloning of the wheat vernalization gene *VRN1*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 6263-6268.

- Yang Z. P., Gilbert J., Somers D. J., Fedak G., Procnunier D., McKenzie I. H., 2003. Marker assisted selection of *Fusarium* head blight resistance genes in two doubled haploid populations of wheat. *Mol. Breed.* 12: 309-317.
- Yang Z. P., Gilbert J., Procnunier D., 2006. Genetic diversity of resistance genes controlling *Fusarium* head blight with simple sequence repeat markers in thirty-six wheat accessions from east asian origin. *Euphytica* 148: 345-352.
- Yu J., Wang J., Lin W., Li S., Li H., Zhou J., Ni P., Dong W., Hu S., Zeng C, et al., 2005. The genomes of *Oryza sativa*: a history of duplications. *LoS Biol.* 3: e38.
- Zeng Z.-B., 1994. Precise mapping of quantitative trait loci. *Genetics* 136: 1457-1468.
- Zhou W. C., Kolb F. L., Bai G. H., Shaner G., Domier L. L., 2002. Genetic analysis of scab resistance QTL in wheat with microsatellite and AFLP markers. *Genome* 45: 719-727.
- Zhou W. C., Kolb F. L., Bai G. H., Domier L. L., Boze L. K., Smith N. J., 2003. Validation of a major QTL for scab resistance with SSR markers and use of marker-assisted selection in wheat. *Plant Breed.* 122: 40-46.
- Zhou W. C., Kolb F. L., Riechers D. E., 2005. Identification of proteins induced or upregulated by *Fusarium* head blight infection in the spikes of hexaploid wheat (*Triticum aestivum*). *Genome* 48: 770-780.
- Zinedine A., Soriano J. M., Moltó J. C., Manes J., 2006. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mcotoxin. *Food Chem. Toxicol.* 45: 1-18.
- Zinkernagel V., Adolf B., Habermeyer J., 1997. The spread of *Fusarium* spp. from the above ground to the ears of wheat. *Cereal Res. Commun.* 25: 677-680.

8. Anhang

8.1. Abkürzungsverzeichnis

ADON	Acetyldeoxynivalenol
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
APS	Ammoniumpersulfat
APS	Ausprägungsstufe (Bundessortenamt)
ATA	Alimentäre Toxische Aleukie
ATP	Adenosintriphosphat
BAC	Bacterial Artificial Chromosome
bp	Basenpaare
BSA	Bovine Serum Albumin
CAPS	Cleaved Amplified Polymorphic Sequence
CC	Coiled-Coil
CIM	Composite Interval Mapping
cM	Centi Morgan
CTAB	Cetyl Trimethyl Ammonium Bromid
DArT	Diversity Arrays Technology
DH	Doppelhaploid
dNTP	Desoxynukleotide (= Desoxynucleosid 5'-triphosphate)
DON	Deoxynivalenol
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EMS	EthylMethan-Sulfonat
EST	Expressed Sequence Tag
FDK	Fusarium Damaged Kernels
FHB	Fusarium Head Blight
Fus-X	Fusarenon-X
GAPDH	Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase
HR	Hypersensitive Reaktion
ITMI	International Triticeae Mapping Initiative
LOD	Logarithm Of Odds
LRR	Leucine-Rich Repeats
LZ	Leucine Zipper

MIM	Multiple Interval Mapping
NBS	Nucleotide-Binding Site
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NILs	Near Isogenic Lines (nahisogene Linien)
NIV	Nivalenol
PCR	Polymerase Chain Reaction
PR-Proteine	Pathogen Related Proteins
QTL	Quantitative Trait Loci
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RGA	Resistenzgenanaloga
RILs	Recombinant Inbred Lines (rekombinante Inzuchtlinien)
RNase	Ribonuklease
Rpm	Rounds per minute
RT	Raumtemperatur
SIM	Simple Interval Mapping
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SSR	Simple Sequence Repeat/Mikrosatelliten
STS	Sequence Tagged Site
TAIL	Thermal Asymmetric Interlaced
TE	Tris-EDTA
TEMED	Tetramethyl-Ethylendiamin
TILLING	Targeting Induced Local Lesions IN Genomes
YAC	Yeast Artificial Chromosome
ZEA	Zearalenon

8.2. Chemikalienverzeichnis

DNA-Extraktion

CTAB-Extraktionspuffer

1% CTAB	Merck, Darmstadt
150 mM Tris	MP Biomedicals, Ohio
15 mM EDTA	MP Biomedicals, Ohio
1,05 M NaCl	ICN Biomedicals, Ohio
1,5% Beta-Mercaptoethanol (frisch zugeben)	Sigma, Steinheim

Chloroform-Isoamylalkohol	Merck, Darmstadt
Isopropanol	Merck, Darmstadt
RNase	Roth, Karlsruhe

Waschlösung 1

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

Waschlösung 2

76% Ethanol	
10 mM Ammoniumacetat	Merck, Darmstadt

TE-Puffer

10 mM Tris, pH 8,0	MP Biomedicals, Ohio
1 mM EDTA, pH 8,0	MP Biomedicals, Ohio

0,8 %-iges Agarosegel (100 ml)

0,8 g SeaKem® LE Agarose	Biozym, Hess. Oldendorf
1x TBE-Puffer	
5 µl Ethidiumbromid	Roth, Karlsruhe

10x TBE-Puffer

0,89 M Tris, pH 8,0	MP Biomedicals, Ohio
0,89 M Borsäure	MP Biomedicals, Ohio
0,5 m EDTA, pH 8,0	MP Biomedicals, Ohio

Reaktionslösungen für die AFLP- und SSR-Markeranalysen*Restriktion/ Ligation*

ATP	Roth, Karlsruhe
NEB2-Puffer	New England BioLabs, Frankfurt
BSA	Amersham, Freiburg
<i>Sse8387I</i> - bzw. <i>PstI</i> -Adapter	Biomers, Ulm
<i>MseI</i> -Adapter	Biomers, Ulm
<i>Sse8387I</i>	Amersham, Freiburg
<i>PstI</i>	New England BioLabs, Frankfurt

MseI New England BioLabs, Frankfurt
 T4-DNA-Ligase New England BioLabs, Frankfurt

Prä- /selektive Amplifikation

10x PCR Puffer Eurogentec, Belgien
 dNTPs Roth, Karlsruhe
 MgCl₂ Eurogentec, Belgien
Sse8387I-00 bzw. *PstI*-03 Primer Biomers, Ulm
MseI-00/*MseI*-02 Primer Biomers, Ulm
Sse8387I-NN/*PstI*-NNN Primer Biomers, Ulm
MseI-NN/*MseI*-NNN Primer Biomers, Ulm
 Taq-Polymerase Eurogentec, Belgien

SSR-Analysen

SSR-Primer Biomers, Ulm
 10x PCR Puffer Eurogentec, Belgien
 dNTPs Roth, Karlsruhe
 MgCl₂ Eurogentec, Belgien
 Taq-Polymerase Eurogentec, Belgien

Gelelektrophorese

10x TBE Elektrophoresepuffer

0,89 M Tris, pH 8,0 MP Biomedicals, Ohio
 0,89 M Borsäure MP Biomedicals, Ohio
 0,5 M EDTA, pH 8,0 MP Biomedicals, Ohio

5%-iges Polyacrylamidgel (100ml)

8,8 M Harnstoff ICN Biomedicals, Ohio
 12,5 ml Acrylamid/Bisacrylamid (19 :1), 40%-ig Roth, Karlsruhe
 60 µl TEMED Merck, Darmstadt
 260 µl APS, 10%-ig Merck, Darmstadt

Loading Dye

500 ml Formamid Roth, Karlsruhe
 150 mg Bromphenolblau Pharmacia Biotech, Freiburg

150 mg Xylencyanol

Merck, Darmstadt

10 ml 0,5 M EDTA, pH 8,0

MP Biomedicals, Ohio

Auftragepuffer 10x Blue Marker für Agarosegele

5,04 g Glycerin

Roth, Karlsruhe

2 ml 50x TBE

Bromphenolblau

Pharmacia Biotech, Freiburg

Danksagung

Hiermit danke ich herzlich Herrn Prof. Dr. Gerhard Wenzel für die Überlassung des Themas an der Technischen Universität München, im Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt.

Mein besonderer Dank gilt Dr. Lorenz Hartl für die umfassende Unterstützung bei der Durchführung und Fertigstellung dieser Arbeit, sowie für die interessanten Anregungen und Diskussionen.

Bei Dr. Günther Schweizer, Dr. Gerhard Zimmermann und Dr. Michael Schmolke möchte ich mich für die fachlichen Beratungen bedanken. Dr. Michael Schmolke danke ich außerdem für das kritische Lesen dieser Arbeit sowie seine zahlreichen Anregungen.

Für die ausgezeichnete technische Assistenz bei den molekularen Arbeiten möchte ich mich insbesondere bei Elena Madge-Pimentel und Petra Greim bedanken. Weiterhin danke ich Sabine Schmidt sowie allen weiteren Mitarbeitern der Arbeitsgruppe für Weizen für die Hilfe bei der Durchführung der Feldversuche.

Für die gute Arbeitsatmosphäre, die Hilfsbereitschaft und viele interessante Gespräche möchte ich mich außerdem bei Alfred Barth, Christoph Bauer, Manuela Diethelm, Petra Hager, Josef Holzapfel, Alexandra Jestadt, Kerstin Krumnacker, Luise Logothetis, Veronika Maier, Dr. Sabine Mikolajewski, Rebecca Seidenberger und Susanne Wüllner bedanken.

Den Partnern des EUREKA- und des GABI-Kanada-Projektes bin ich ausgesprochen dankbar für die gute Zusammenarbeit bei den Feldversuchen. Mein Dank gilt insbesondere der Landessaatzuchtanstalt Hohenheim, der Lochow-Petkus GmbH, der Saaten Union und der Saatzucht Breun.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Jennifer Häberle

Geburtsdatum: 18.Mai 1978

Geburtsort: Schwäbisch Hall, Deutschland

Familienstand: ledig

Schulbildung

1984 - 1988: Besuch der Grundschule in Künzelsau

1988 - 1997: Besuch des Ganerbergymnasiums in Künzelsau

Studium

1997 - 2003: Studium der Agrarbiologie an der Universität Hohenheim

September 2002 - April 2003: Diplomarbeit mit dem Thema „Molekulare Charakterisierung des Eisen-Nicotianamintransports in *Arabidopsis thaliana*“ am Institut für Pflanzenernährung der Universität Hohenheim

Berufserfahrung

Oktober 2003 - Dezember 2006: Wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Abteilung für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising

seit Januar 2007: Wissenschaftliche Mitarbeiterin im Rahmen des GABI-Kanada Projektes in der Abteilung für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising