

# Markerselektion auf partielle Gelbrost-Resistenz bei Weizen

A. MEINEL, O. UNGER und J. SCHONDELMAIER

In der Winterweizenlinie *Lgst.79-74* ist in Zusammenarbeit zwischen NORDSAAT BÖHNSHAUSEN und dem IPK GATERSLEBEN auf dem Chromosomenarm 3BS ein Majorgen kartiert worden, das partielle Resistenz von adulten Pflanzen gegenüber Gelbrost (*Puccinia striiformis*) bewirkt (MEINEL et al. 1999, BÖRNER et al. 2000). Dieses Gen trägt die vorläufige Bezeichnung *YrLgst.79*. Seine züchterische Bedeutung liegt darin begründet, daß die Wirksamkeit über Jahrzehnte hinweg anhält (MEINEL et al. 1998) und auch bei allen bisherigen Veränderungen in den Erregerpopulationen im europäischen Zuchtgebiet stabil partielle Resistenz bedingt (UNGER 2001, unveröff.).

Bei der molekularen Kartierung von *YrLgst.79* wurde Kopplung zu 5 Mikrosatelliten-Markern festgestellt, von denen *Xgwm493* mit 12.4 (Resistenzprüfung 1997) bzw. 9.3 cM (Resistenzprüfung 1998) dem Zielgen am nächsten liegt (BÖRNER et al. 2001). Diese Distanzen liegen etwas über dem für eine wirksame Markerselektion erforderlichen Abstand zwischen Marker und Zielgen. Trotzdem wurde auf Grund der züchterischen Aktualität dieses Resistenzgens einerseits und der inzwischen gegebenen Verfügbarkeit weiterer Mikrosatelliten-Marker auf dem Chromosomenarm 3BS andererseits in einem praxisnahen Experiment geprüft, welche Wirksamkeit die Markerselektion bei der Einlagerung der partiellen Gelbrostresistenz aus der Linie *Lgst.79-74* in aktuelles Winterweizen-Zuchtmaterial erreicht.

## Material und Methoden:

### Die Populationen und ihre phänotypische Evaluierung:

Als Empfängerlinien wurden die Sorten *Flair* (Population A) und *Piko* (Population B) mit *Lgst.79-74* gekreuzt, die gegenüber mehreren Virulenzen (*Flair*: auf

Yr1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 17) bzw. nur einer Virulenz (*Piko*: auf Yr17) anfällig sind. Durch diese Elternwahl wurde beabsichtigt, die bisher unspezifische Wirkung des Majorgens *YrLgst.79* in Linien mit unterschiedlicher Ausprägung von spezifischer Resistenz zu überprüfen. Aus der Population A wurden zur Ernte 2000 144, aus Population B 129 F<sub>2</sub>-Ähren geschnitten. 15 Korn je Ähre wurden für das Markerscreening bereitgestellt, der Rest (mindestens 20 Korn) zur Prüfung der Resistenz der Keim- und adulten Pflanzen der F<sub>3</sub>-Familien im Jahr 2001 verwendet.

Die Infektion der Selektanten mit der komplex virulenten Rasse *169E136* (Virulenzen auf Yr 1, 2, 3, 9 und 17) bewirkte bei den F<sub>3</sub>-Keimpflanzen aus A und B ausnahmslos hohe Anfälligkeit. Damit wurde bestätigt, daß keine spezifischen Resistenzgene gegenüber den zur Infektion verwendeten Virulenzen in den F<sub>3</sub>-Familien aus beiden Kreuzungen wirksam sind.

Zur Prüfung der partiellen Resistenz von adulten Pflanzen wurden 144 (A) bzw. 129 (B) F<sub>3</sub>-Familien im Resistenzfeld 2001 künstlich mit einem Gemisch aktueller Gelbrostrassen infiziert, in dem die Virulenzen auf Yr1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 17 und CaV enthalten waren. Die Klassifizierung der F<sub>3</sub>-Familien erfolgte nach dreimaliger Bestimmung des Infektionskoeffizienten (STUBBS 1986) während des Befallsverlaufes. Damit wurden Befallstyp und Befallsstärke in einem Index erfaßt, der wahrscheinlich enger mit befallsbedingten Ertragsverlusten korreliert ist als alle anderen Kriterien (McINTOSH et al. 1995). Da im Resistenzfeld nach künstlicher Infektion ein starker Infektionsdruck herrschte, ist mit hoher Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß der empirische Grenzwert des Infektionskoeffizienten von 8.0 die Klassen „resistent“ und „anfällig“ in reproduzierbarer Weise differenziert. Dieser Grenzwert bedeutet, daß Genotypen, die im ge-

samten Befallsverlauf eine Befallsstärke von 10% mit kleinen Pusteln und Nekrosen (Befallstyp 7 nach McINTOSH et al. 1995) nicht überschreiten, als „resistent“, Genotypen mit Werten >8.0 als „anfällig“ beurteilt wurden (MEINEL et al. 1999). Zur Verdeutlichung der Ergebnisse wurden die ermittelten Infektionskoeffizienten durch Boniturklassen ersetzt, wobei alle Werte <4.0 Resistenz der adulten Pflanzen bedeuten.

### Das molekulare Markerscreening:

Aus den im Resistenzlabor der Saaten-Union verfügbaren ca 300 Mikrosatelliten- (SSR-) Markern aus öffentlichen und nicht öffentlich zugänglichen Quellen wurden 10 für den Chromosomenarm 3BS ausgewählt und zusammen mit 3 unveröffentlichten Markern des IPK Gatersleben (Frau Dr. RÖDER) für die Untersuchung auf Polymorphismus in den Kreuzungseltern *Flair*, *Piko* und *Lgst.79-74* verwendet.

Dabei kamen Standardtechniken zur Anwendung: Die DNA wurde nach einem CTAB-Protokoll isoliert. Die Amplifikation der SSR-Marker wurde in 10 ml Reaktionsansätzen, bestehend aus 5 ml DNA-Lösung (2 - 5 ng/ml) und 5 ml Mastermix (jeweils 2 pmol Primer, 1 x PCR-Puffer, 0.5 unit Taq-Polymerase/Amersham-Pharmacia/), durchgeführt. Die Separation der Fragmente erfolgte auf ALF-Express-Sequenzierern (Amersham-Pharmacia) oder mittels Kapillarelektrophorese (Applied Biosystems) nach Angaben der Hersteller, die Auswertung visuell und manuell. Kopplungsanalysen wurden mit dem Programm MAPMAKER und die Bildung von Klassen, die Mittelwertberechnungen etc. mit EXCEL durchgeführt.

### Ergebnisse:

Für die Eltern der Population A (*Flair/Lgst.79-74*) waren 7 der verfügbaren Mikrosatellitenmarker auf dem Chromo-

**Autoren:** Dr. A. MEINEL und Otto UNGER, Nordsaat, Saat-zucht-gesellschaft mbH, Hauptstraße 1, D-38895 BÖHNSHAUSEN, Dr. Jörg SCHONDELMAIER, Saaten-Union, Resistenzlabor GmbH, Hovedisser Str. 92, D-33818 LEOPOLDSHÖHE



som 3BS polymorph, von denen SSR8 (distal zu *YrLgst.79*, Distanz 19cM) am wirksamsten auf partielle Gelbrostresistenz selektierte. Die Differenzierung der  $F_3$ -Familien wurde jedoch noch verbessert durch die Hinzunahme des flankierenden Markers SSR7 mit einer Distanz von 31.8cM (Tabelle 1).

In der Population **B** (*Piko/Lgst.79-74*) waren 8 Mikrosatellitenmarker auf dem Chromosomenarm 3BS für die Elterformen polymorph. Der Marker *Xgwm533* (distal, Distanz zu *YrLgst.79* 22.1cM), der neben anderen auch die Kartierung des Gens *YrLgst.79* ermöglichte, selektierte am wirksamsten auf partielle Gelbrostresistenz. Bei Hinzunahme des flankierenden Markers SSR7 (Distanz 29.9cM) konnten nur die anfälligen Familien durch Erhöhung des Boniturklassen-Mittelwertes genetisch sicherer differenziert werden (Tabelle 2).

Die Selektion mit dem jeweils wirksamsten Marker (in Population **A**: SSR8, in Population **B**: *Xgwm533*) führte in beiden Kreuzungen zu deutlicher Differenzierung der resistenten und anfälligen  $F_3$ -Familien. Das Resistenzniveau der Selektanten mit homozygotem Marker-Allel für das Gen *YrLgst.79* liegt mit mittleren Resistenznoten von 2.76 (in **A**) bzw. 2.48 (in **B**) sicher im resistenten Bereich, während die mittleren Werte der  $F_3$ -Familien mit homozygotem Marker-Allel aus *Flair* mit 5.54 (in **A**) bzw. aus *Piko* mit 4.18 (in **B**) Anfälligkeit bedeuten.

In der Kreuzung **A** wurde bei 8, in **B** bei 2 Selektanten mit homozygotem Marker-Allel für das Gen *YrLgst.79* im Resistenzfeld ein Infektionskoeffizient von 8.0 ermittelt (Tabelle 1 und 2), der auf Grund langjähriger Beobachtungen (MEINEL et al. 1999) als Grenzwert für die Klassen „resistent“ und „anfällig“ gilt. Unter Beachtung der Problematik bei der präzisen Ermittlung der Befallsstärke sowie der Distanz zwischen den Markern und dem Zielgen *YrLgst.79*, die in beiden Kreuzungen deutlich >5cM beträgt, können Selektanten mit diesem Phänotyp züchterisch brauchbar sein, da ihr Genotyp (d.h. Homozygotie des Marker-Allels für *YrLgst.79*) bei Wiederholungsprüfungen Resistenz erwarten läßt. Echte Fehlentscheidungen bei der Markerselektion, d.h. Nichtübereinstimmung des Markergenotyps mit dem Phänotyp, treten in den Kreuzungen **A** und **B** jeweils in einem Fall auf (Tabelle 1 und 2). Obwohl Fehlentscheidungen mit derart geringer Häufigkeit vom Züchter toleriert werden können, wurden Wiederholungsprüfungen dieser Abweicher zur Klärung der Ursachen eingeleitet.

Die Markerselektion bei Hinzunahme von je einem flankierenden Marker (in **A** und **B** jeweils SSR7) zu den Markern SSR8 in **A** bzw. *Xgwm533* in **B** (Tabelle 1 und 2) brachte im Vergleich zur Selektion mit einem Marker nur einen begrenzten züchterischen Vorteil. Das ist begründet durch die großen Distanzen

des flankierenden Markers SSR7 zu *YrLgst.79* in beiden Kreuzungen.

Kaum bedeutungsvoll sind die Veränderungen der Boniturmittelwerte für die Klassen „resistent“ und „anfällig“ nach Selektion mit flankierenden Markern, da sie sich innerhalb der Klassengrenzen vollziehen. Demgegenüber bedeutet jedoch die Erhöhung der Selektionsintensität in Kreuzung **A** durch 2 flankierende Marker einen züchterischen Vorteil: 8  $F_3$ -Familien, deren Befallsbonitur auf der Grenze zwischen den Klassen „resistent“ und „anfällig“ liegt (Infektionskoeffizient = 8), weisen keine Homozygotie für die flankierenden Marker-Allele aus *Lgst.79-74* auf und werden daher nicht mehr der Klasse „resistent“ zugeordnet. Damit erhöht sich die Wahrscheinlichkeit, daß die verbleibenden 12 Selektanten mit den homozygoten Marker-Allelen (LL #LL) das Gen *YrLgst.79* tragen, also partiell gelbrostresistente Genotypen sind.

## Zusammenfassung und Ausblick:

⊕ Die Selektion mit Mikrosatellitenmarkern für das Gen *YrLgst.79* zur Erhöhung der partiellen Gelbrostresistenz adulter Pflanzen in aktuellem Winterweizen-Zuchtmaterial erwies sich als züchterisch wirksam.

- Die ständige Erhöhung der Markerdichte (speziell auf 3BS, jedoch auch auf

**Tabelle 1: Differenzierung von 138  $F_3$ -Familien der Population A (*Flair/Lgst.79-74*) durch Selektion mit SSR8 bzw. den Markern SSR7 # 8 für das Gen *YrLgst.79*.**

| Selektion mit SSR8:                 |                        |   |                           | Darunter:  | Bei Markerselektion:<br>Fehlentscheidungen <sup>4)</sup> | Bei Markerselektion:<br>Unsichere<br>Entscheidungen <sup>5)</sup> |
|-------------------------------------|------------------------|---|---------------------------|--|--|---|
| Marker-Allele <sup>1)</sup>         | Erwarteter<br>Phänotyp | Resistenznote<br>(Mittelwert) <sup>2)</sup>               | Anzahl<br>$F_3$ -Familien | Phänotypen mit<br>Infektions-<br>Koeffizient=8 <sup>3)</sup> |  |   |
| L # L                               | resistent              | 2.76  | 38                        | 8 (21%)  | 1 (3%)   | 0   |
| Heterozygot                         |                        | 4.52  | 63                        |  |  |   |
| F # F                               | anfällig               | 5.54  | 37                        | 6 (16%)  | 4(11%)   | 11 (29%)  |
| Selektion mit den Markern SSR7 # 8: |                        |   |                           | Darunter:  | Bei Markerselektion:<br>Fehlentscheidungen <sup>4)</sup> | Bei Markerselektion:<br>Unsichere<br>Entscheidungen <sup>5)</sup> |
| Marker-Allele <sup>1)</sup>         | Erwarteter<br>Phänotyp | Resistenznote <sup>1)</sup><br>(Mittelwert) <sup>2)</sup> | Anzahl<br>$F_3$ -Familien | Phänotypen mit<br>Infektions-<br>Koeffizient=8 <sup>3)</sup> |  |   |
| LL # LL                             | resistent              | 2.58  | 12                        | 0  | 1 (8%)   | 0   |
| Heterozygot                         |                        | 4.31  | 111                       |  |  |   |
| FF # FF                             | anfällig               | 5.63  | 15                        | 1 (6%)   | 2 (13%)  | 5 (31%)   |
|                                     | Fam.-Mittel            | 4.31  | (n = 138)                 |  |  |   |

<sup>1)</sup> L: Marker-Allel in *Lgst.79-74*; F: Marker-Allel in *Flair*

<sup>2)</sup> < 4.0 .... partiell resistent

<sup>3)</sup> Grenzwert für die Klassen „resistent“ und „anfällig“

<sup>4)</sup> Markergenotyp verschieden von erwartetem Phänotyp

<sup>5)</sup> Unsichere Bestimmung der Marker-Allele.

**Tabelle 2: Differenzierung von 129 F<sub>3</sub>-Familien der Population B (Piko/Lgst.9-74) durch Selektion mit dem Marker Xgwm533 bzw. den Markern SSR7 # Xgwm533 für das Gen YrLgst.79.**

| Selektion mit Xgwm533:      |                     |  |                                 | Darunter:   | Bei Markerselektion:             | Bei Markerselektion:                   |
|-----------------------------|---------------------|--|---------------------------------|---|----------------------------------|--|
| Marker-Allele <sup>1)</sup> | Erwarteter Phänotyp | Resistenznote (Mittelwert) <sup>2)</sup> | Anzahl F <sub>3</sub> -Familien | Phänotypen mit Infektions-Koeffizient=8 <sup>3)</sup> | Fehlentscheidungen <sup>4)</sup> | Unsichere Entscheidungen <sup>5)</sup> |
| L # L                       | resistent           | 2.48                                     | 27                              | 2 (7%)  | 1 (4%)                           | 0                                      |
| Heterozygot                 |                     | 3.34                                     | 64                              |   |                                  |  |
| P # P                       | anfällig            | 4.18                                     | 38                              | 13 (33%)  | 17 (44%)                         | 3 (8%)                                 |

  

| Selektion mit den Markern SSR7 # Xgwm533: |                     |  |                                 | Darunter:   | Bei Markerselektion:             | Bei Markerselektion:                   |
|---|---------------------|--|---------------------------------|---|----------------------------------|--|
| Marker-Allele <sup>1)</sup>               | Erwarteter Phänotyp | Resistenznote (Mittelwert) <sup>2)</sup> | Anzahl F <sub>3</sub> -Familien | Phänotypen mit Infektions-Koeffizient=8 <sup>3)</sup> | Fehlentscheidungen <sup>4)</sup> | Unsichere Entscheidungen <sup>5)</sup> |
| LL # LL                                   | resistent           | 3.11                                     | 9                               | 1 (10%)   | 1 (10%)                          | 0                                      |
| Heterozygot                               |                     | 3.19                                     | 101                             |   |                                  |  |
| PP # PP                                   | anfällig            | 4.74                                     | 19                              | 11 (55%)  | 5 (25%)                          | 0                                      |
|   | Fam.-Mittel         | 3.41                                     | (n = 129)                       |   |                                  |  |

<sup>1)</sup> L: Marker-Allel in Lgst.79-74; P: Marker-Allel in Piko  
<sup>2)</sup> <4.0 .... partiell resistent  
<sup>3)</sup> Grenzwert für die Klassen „resistent“ und „anfällig“  
<sup>4)</sup> Markergenotyp verschieden von erwartetem Phänotyp  
<sup>5)</sup> Unsichere Bestimmung der Marker-Allele.

allen Weizenchromosomen) läßt erwarten, das künftig polymorphe Marker für eine Vielzahl von Kreuzungseltern als Voraussetzung für die effektive Markerselektion verfügbar sind.

- Gegenwärtig entsprechen die Kosten für die Selektion mit 2 Markern etwa den Kosten für die erforderliche Resistenzprüfung von Keim- und adulten Pflanzen (ca. 5.10 Euro/Pflanze bzw. Prüfglied). Dabei ist anzunehmen, daß sich in Zukunft Markerscreenings durch technologischen Fortschritt verbilligen werden, während die herkömmliche Resistenzprüfung kaum weitere Einsparungen erwarten läßt.
- Da züchterisch ausschließlich Genotypen mit Homozygotie der Marker-Allele für das Zielgen von Bedeutung sind,

ist die Merkmalsprüfung und die Markerselektion in Pedigree-Zuchtprogrammen herkömmlicher Art (Auslesebeginn in F<sub>2</sub> oder F<sub>3</sub>) auf Grund hoher Anteile heterozygoter Genotypen bekanntermaßen sehr aufwendig. Daher wird die Markerselektion in Zuchtprogrammen mit Doppelhaploiden in Zukunft ökonomisch besonders an Bedeutung gewinnen.

**Literatur:**

BÖRNER, A., M.S. RÖDER, O. UNGER and A. MEINEL, 2000: The detection and molecular mapping of a major gene for non-specific adult-plant disease resistance against stripe rust (*Puccinia striiformis*) in wheat. *Theor.Appl.Genet.*, **100**, 1095-1099.  
 BÖRNER, A., M.S. RÖDER, O. UNGER and A. MEINEL, 2001: Non specific adult plant disease resistance - genetics and molecular mapping.

Proc. 6<sup>th</sup> Intern. Wheat Conf., June 2000, Budapest (Kluwer Acad.Publ.), 317-323.  
 McINTOSH, R.A., C.R. WELLINGS and R.F. PARK, 1995: Wheat rusts: an atlas of resistance genes. CSIRO Australia and Kluwer Academic Publ., 10.  
 MEINEL, A. and O. UNGER, 1998: Breeding aspects of partial resistance to airborne pathogens in wheat. *Czech.J.Genet.Plant Breed.* **43**, 103-106.  
 MEINEL, A., O. UNGER, M.S. RÖDER and A. BÖRNER, 1999: Molekulare Marker für partielle Resistenz gegenüber den Rostkrankheiten des Weizens Bedeutung und züchterische Nutzung. *Vortr. Pflanzenzüchtg.* **46**, 209-214.  
 STUBBS, R.W., J.M. PRESCOTT, E.E. SAARI and H.J. DUBIN, 1986: Cereal disease methodology manual. CIMMYT, Mexico and IPO, Wageningen, 46 p.  
*Die Autoren danken dem Ministerium für Wirtschaft und Technologie des Landes Sachsen-Anhalt für die Förderung des Projektes.*

