

# Züchterisches Potenzial von Resistenz-QTL gegen Ährenfusarium bei Weizen

J. HÄBERLE, G. ZIMMERMANN und L. HARTL

## Einleitung

Die durch Fusarium-Pilze hervorgerufene partielle Taubährigkeit bei Weizen stellt weltweit ein Problem dar. Die Züchtung und der Anbau resistenter Sorten ist die vielversprechendste Strategie zur Kontrolle von Ährenfusariosen. Die Resistenz gegenüber Ährenfusariosen ist allerdings ein genetisch komplexes und polygen vererbtes Merkmal. Bisher wurden bereits sowohl im Sommer- als auch im Winterweizen sehr viele Studien zur Kartierung von Resistenz-QTL durchgeführt. Vor einer züchterischen Anwendung ist es jedoch unerlässlich, detektierte QTL bezüglich ihrer Positionen zu überprüfen und eine eventuelle Überschätzung der Effekte (UTZ et al., 2000) aufzudecken.

Die Ziele der vorliegenden Studie waren zum einen, in der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population Resistenz-QTL zu kartieren und ihr züchterisches Potenzial zu beurteilen, zum anderen sollten die in der Winterweizenpopulation Dream/Lynx identifizierten QTL (SCHMOLKE et al., 2005) mittels Rückkreuzungslinien validiert werden.

## Material und Methoden

Für die Erstellung der  $F_{6,8}$ -SSD-Kartierungspopulation (122 Linien) wurde die fusariumanfällige Sorte Pelikan mit einer resistenten DH-Linie (G93010) gekreuzt. Diese geht aus einer Kreuzung zwischen der Sorte Bussard und der fusariumresistenten chinesischen Sorte Ning8026 hervor.

Um die in der Dream/Lynx-Kartierungspopulationen detektierten Resistenz-QTL (SCHMOLKE et al., 2005) zu validieren, wurden Linien mit einem relativ homogenen genetischen Hintergrund mittels Rückkreuzungs- und Selbstungsgenerationen markergestützt entwickelt. Resistenzdonoren waren dabei zwei re-

sistente  $F_4$ -Linien aus der Kartierungspopulation, die mit dem anfälligen Elter Lynx gekreuzt wurden, gefolgt von zwei weiteren Rückkreuzungsgenerationen sowie zwei nachfolgenden Selbstungsgenerationen. Die selektierten Linien, die 2005 im Feld geprüft wurden, befanden sich in der  $BC_2S_{2,3}$ -Generation.

Die Pelikan//Bussard/Ning8026-Population wurde an vier Umwelten geprüft: Freising (2005, 2006), Herzogenaurach (2006) und Eckendorf (2006). Die Prüfung der Dream/Lynx-Rückkreuzungslinien für die QTL-Validierung erfolgte 2005 an drei Orten: Freising, Seligenstadt und Wohlde. Die Versuche waren jeweils als Gitteranlage mit zwei Wiederholungen je Umwelt in 0,6 m<sup>2</sup> Parzellen angelegt.

Die Fusariuminfektion wurde mittels mehrmaliger Sprühinokulation mit zwei hoch aggressiven *Fusarium culmorum*-Isolaten (FC33 und FC46) hervorgerufen, die an der Landessaatzuchtanstalt nach MIEDANER et al. (1996) produziert wurden. Die Konidien suspension (Aufwandmenge 100 ml pro m<sup>2</sup>) hatte dabei eine Konzentration von  $5 \times 10^5$  Konidien pro ml.

Die Erfassung der Krankheitssymptome, die visuell in Prozent befallener Ährchen erfolgte, begann mit dem Auftreten der ersten sichtbaren Symptome nach der letzten Inokulation und wurde je nach Standort und Befallsentwicklung zwei bis drei mal wiederholt. Zusätzlich wurde der Zeitpunkt des Ährenschiebens in Tagen nach dem 1. Januar, sowie die mittlere Wuchshöhe als Distanz vom Boden bis zur Mitte der Ähre in cm erfasst.

Die Genotypisierung der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population wurde bis jetzt mit ca. 250 AFLP-Markern und einigen SSR-Markern durchgeführt. Für die Selektion von Genotypen für die

Validierung der Dream/Lynx-QTL wurden folgende SSR- und AFLP-Marker verwendet: GWM82, GWM1011 und P69M51-175 für das QTL-Intervall auf Chromosom 6AL sowie GWM46, BARC72 und P70M56-237 für das QTL-Intervall auf Chromosom 7BS.

Die statistische Auswertung der phänotypischen Daten erfolgte überwiegend mit SAS Version 9.1 (SAS Institute 2004) bzw. mit Plabstat Version 2P (Utz, 2001). Die Erstellung der genetischen Karte der Pelikan//Bussard/Ning8026-Population wurde mit dem Programm Joinmap Version 3.0 (VAN OORIJEN und VOORRIPS, 2001) und die QTL-Verrechnung mit dem Programm Multi-QTL Version 2.5 durchgeführt (KOROL et al., 2005).

## Ergebnisse und Diskussion

### Pelikan//Bussard/Ning8026-Population

Die Linien der Kartierungspopulation zeigten für die Mittelwerte über die vier Umwelten 2005-2006 eine kontinuierliche Verteilung hinsichtlich des Fusariumbefalls. Keine Linie erreichte das Resistenzniveau des Elters G93010. Die Heritabilität im weiteren Sinn war für alle Merkmale hoch. Sie lag für den Befall bei  $H^2 = 0,84$  (95%-iges Konfidenzintervall 0,77-0,88), 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 hohen Korrelationen und Heritabilitäten deuten auf eine gute Reproduzierbarkeit der phänotypischen Daten hin.

Die genetische Karte bestand aus 47 Kopplungsgruppen, die insgesamt ca. 1000 cM umfasste. Die Zuordnung der Kopplungsgruppen zu den Chromosomen erfolgte mit SSR-Markern und nulitetrasomen Linien. Bisher gelang es 29 der 47 Kopplungsgruppen spezifischen Chromosomen zuzuordnen.

**Autoren:** Jennifer HÄBERLE, Dr. Gerhard ZIMMERMANN und Dr. Lorenz HARTL, Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 8, D-85354 FREISING, lorenz.hartl@LfL.bayern.de



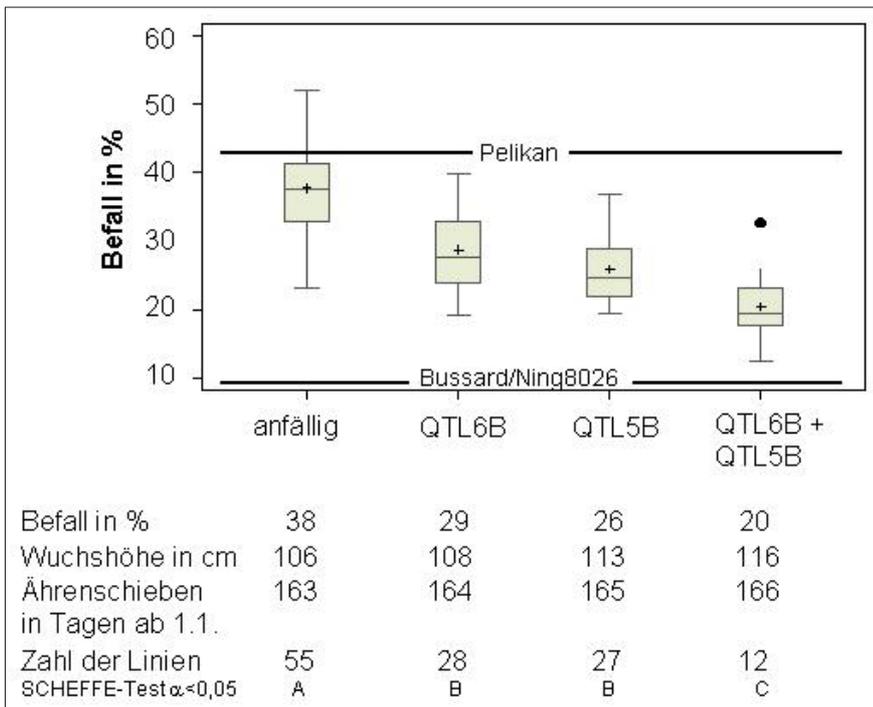


Abbildung 1: Boxplot-Verteilungen der vier Markerklassen mit den anfälligen und/oder resistenten Allelen der QTL-Regionen auf den Chromosomen 5B und 6B. Die Daten basieren auf den Mittelwerten über die vier Umwelten. Durchgezogene Linien: Median, +: Mittelwerte. Verschiedene Buchstaben weisen auf signifikante Unterschiede hin (SCHEFFE-Test,  $p < 0,05$ ).

In der Population konnten zwei Haupt-QTL identifiziert werden, die auf den Chromosomen 5B und 6B lagen. Der QTL auf Chromosom 5B hatten einen LOD-Wert von 39 und erklärte 23% der phänotypischen Varianz. Der QTL auf Chromosom 6B hatte einen LOD-Wert von 25 und erklärte 14% der phänotypi-

schen Varianz. Der Resistenz-QTL auf Chromosom 5B überlappte mit einem QTL für Wuchshöhe (LOD 36,  $R^2 = 13\%$ ) und für den Zeitpunkt des Ährenschiebens (LOD 24,  $R^2 = 19\%$ ), der Resistenz-QTL auf 6B überlappte lediglich mit einem kleineren QTL für den Zeitpunkt des Ährenschiebens (LOD 8,  $R^2 = 6\%$ ).

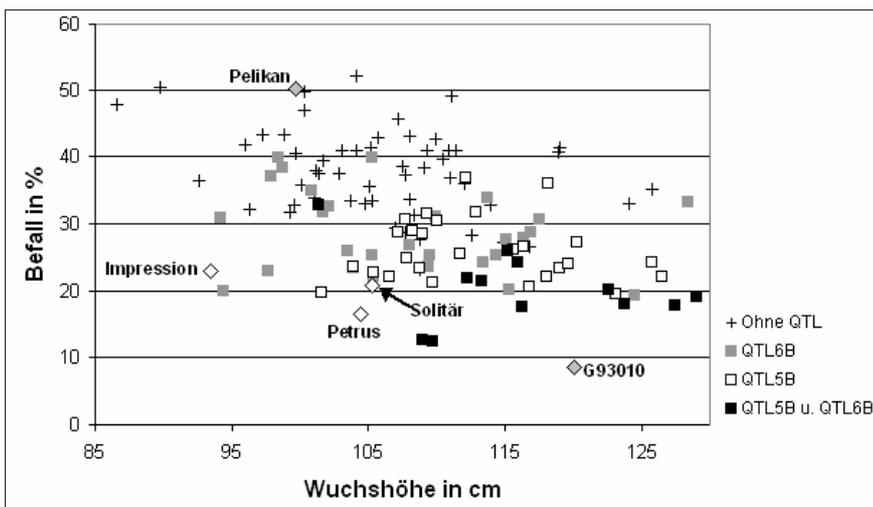


Abbildung 2: Fusariumbefall in Abhängigkeit der Wuchshöhe aufgeteilt entsprechend der vier Markerklassen mit den anfälligen und/oder resistenten Allelen der QTL-Regionen auf den Chromosomen 5B und 6B inklusive Kreuzungseltern und Sorten als Vergleich (Impression, Solitär, Petrus). Die Daten basieren auf den Mittelwerten über die vier Umwelten.

Die anfällige Markerklasse ohne Resistenzallele hatte einen durchschnittlichen Befall von 38%. Verglichen dazu reduzierte QTL6B den durchschnittlichen Befall um 9%, QTL5B um 12% und beide QTL in Kombination um 18% (Abbildung 1).

Beide detektierten QTL sind entscheidend für ein gutes Resistenzniveau, da alle Linien, die eine geringe Anfälligkeit zeigen mindestens einen der beiden QTL besitzen (Abbildung 2). Darunter sind auch Linien, die bei guter Fusariumresistenz gleichzeitig eine akzeptable Halmlänge aufweisen. Diese Linien liegen bezüglich ihres Resistenzniveaus und ihrer Wuchshöhe im Bereich zugelassener Sorten (Impression, Solitär und Petrus; Abbildung 2).

Die genannten QTL sind sehr wahrscheinlich Resistenzkomponenten, die im europäischen Zuchtmaterial bisher noch nicht eingesetzt wurden. Sie haben also das Potenzial, um in markergestützten Rückkreuzungsprogrammen das Resistenzniveau zu erhöhen. Ausgewählte Linien der Population werden 2007 bereits einer ersten Ertragsprüfung unterzogen, um noch mehr Aussagen bezüglich ihrer Eignung, z.B. als Kreuzungseltern, machen zu können. Die vorliegende QTL-Kartierung bestätigte sowohl QTL5B als auch QTL6B im Winterweizen, die beide bereits zuvor im Sommerweizen detektiert wurden. In einer Wangshuibai/Alondra-Population (JIA et al., 2005) konnte ein Resistenz-QTL auf Chromosom 5B identifiziert werden. Zuvor detektierte QTL auf Chromosom 6B stammten von Ning 894037 bzw. Sumai 3 (SHEN et al., 2003; YANG et al., 2003), wobei der von Sumai 3 stammende QTL auf Chromosom 6B kürzlich feinkartiert wurde (CUTHBERT et al., 2006).

#### QTL-Validierung in den Dream/Lynx-Rückkreuzungslinien

Die Rückkreuzungslinien zeigten hinsichtlich des Fusariumbefalls eine kontinuierliche Verteilung, die jedoch stark linksschief war. Die Heritabilität für den Befall lag bei  $H^2 = 0,82$  (95%-iges Konfidenzintervall 0,78-0,85). Eine Linie mit beiden positiven QTL-Allelen (QTL6AL und QTL7BS) erreichte das Resistenzniveau des Kreuzungseltern Dream. Die

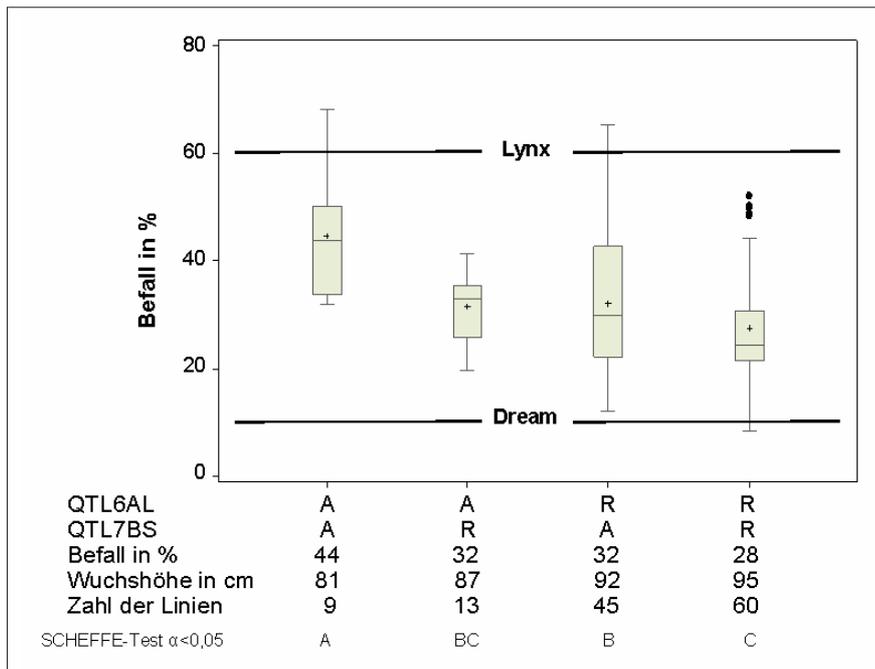


Abbildung 3: Boxplot-Verteilungen der vier Markerklassen mit den anfälligen (A) und/oder den resistenten (R) Allelen der QTL-Regionen auf den Chromosomen 6AL und 7BS. Die Daten basieren auf den Mittelwerten über die drei Umwelten 2005. Durchgezogene Linien: Median, +: Mittelwerte. Verschiedene Buchstaben weisen auf signifikante Unterschiede hin (SCHEFFE-Test,  $p < 0,05$ ).

QTL-Validierung bestätigte die signifikanten Effekte der beiden Haupt-QTL auf den Chromosomen 6AL und 7BS. *Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS* reduzierten den Befall um jeweils 12% im Vergleich zur anfälligen Markerklasse ohne Resistenzallele, beide QTL in Kombination führten zu einem durchschnittlich 16% niedrigeren Befall (Abbildung 3). Beide QTL hatten außerdem einen Einfluss auf die Wuchshöhe. Dabei führte

QTL6AL zu durchschnittlich 14 cm höheren Pflanzen, während QTL7BS 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 3).

Bezüglich dem Zeitpunkt des Ährenschnebens konnte kein Unterschied zwischen den vier Markerklassen gefunden

werden. Die Ergebnisse der QTL-Validierung im rekurrenten Elter bestätigen die Kartierung der Haupt-QTL von SCHMOLKE et al. (2005), wobei die Effekte der genannten QTL in den Rückkreuzungslinien in etwa den additiven Effekten dieser QTL in der Kartierungspopulation entsprachen.

Dass die beiden QTL entscheidend für ein gutes Resistenzniveau sind, verdeutlicht auch die Tatsache, dass der Großteil der Rückkreuzungslinien mit mindestens einem der beiden QTL eine deutlich niedrigere Anfälligkeit als der Elter Lynx zeigt (Abbildung 4), obwohl mit diesem bei der Entwicklung der Linien für die QTL-Validierung drei mal gekreuzt wurde.

Zudem ist es mittels der genannten QTL möglich, Linien zu selektieren, die bei guter Fusariumresistenz gleichzeitig eine akzeptable Halmlänge aufweisen.

Unter den Rückkreuzungslinien befinden sich mehrere Genotypen, die bezüglich Befall und Wuchshöhe im Bereich der zugelassenen Sorten Solitär und Petrus liegen. Außerdem gibt es einige Linien, die im Vergleich zu Solitär und Petrus zwar einen etwas höheren durchschnittlichen Befall aufweisen, jedoch um ca. 10 cm kürzer sind.

Diese ebenfalls sehr interessanten Genotypen wurden bereits vermehrt, so dass sie 2006/2007 einer ersten Ertragsprüfung unterzogen werden.

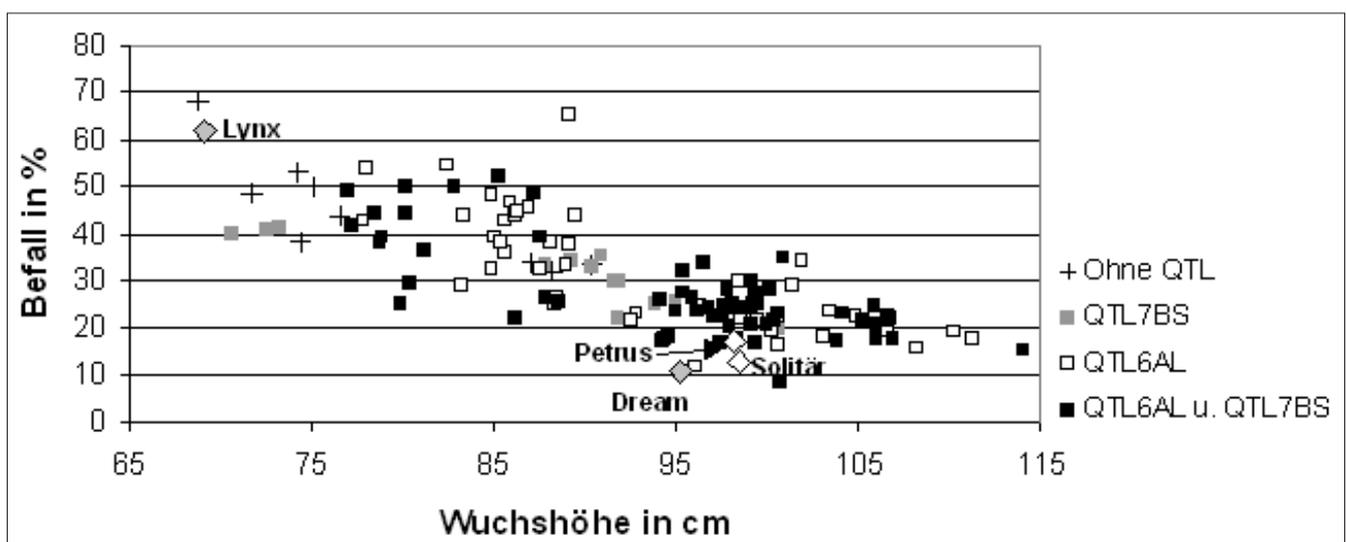


Abbildung 4: Fusariumbefall in Abhängigkeit der Wuchshöhe aufgeteilt entsprechend der vier Markerklassen mit den anfälligen und/oder resistenten Allelen der QTL-Regionen auf den Chromosomen 6AL und 7BS inklusive Kreuzungseltern und Sorten als Vergleich (Solitär, Petrus). Die Daten basieren auf den Mittelwerten über die drei Umwelten 2005.

## Literatur

- CUTHBERT, P.A., D.J. SOMERS and A. BRULÉ-BABEL, 2006: Mapping of *Fhb2* on chromosome 6BS: a gene controlling Fusarium head blight resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.*
- JIA G., P. CHEN, G. QIN, G. BAI, X. WANG, S. WANG, B. ZHOU, S. ZHANG and D. LIU, 2005: QTLs for Fusarium head blight response in a wheat DH population of Wangshuibai/Alondra's'. *Euphytica* 146: 183-191.
- KOROL, A., Y. RONIN, D. MINKOV, E. BRITVIN, D. MESTER, M. KOROSTISHEVSKY, I. MALKIN, Z. FRENKEL, O. ORION and A. BRAILOVSKY, 2005: MultiQTL version 2.5. Institute of Evolution, Haifa University, Haifa, Israel.
- MIEDANER T., G. GANG and H.H. GEIGER, 1996: Quantitative-genetic basis of aggressiveness of 42 isolates of *Fusarium culmorum* for winter rye head blight. *Plant Dis.* 80: 500-504.
- SAS Institute Inc., 2004: SAS 9.1 Qualification tools user's guide, Cary N. C.
- SCHMOLKE, M., G. ZIMMERMANN, H. BUERSTMAYR, G. SCHWEIZER, T. MIEDANER, V. KORZUN, E. EBMEYER and L. HARTL, 2005: Molecular mapping of Fusarium head blight resistance in the winter wheat population Dream/Lynx. *Theor. Appl. Genet.* 111: 747-756.
- SHEN, X., M. ZHOU, W. LU and H. OHM, 2003: Detection of Fusarium head blight resistance QTL in a wheat population using bulked segregant analysis. *Theor. Appl. Genet.* 106: 1041-1047.
- UTZ, H.F., 2001: PLABSTAT: Ein Computerprogramm zur statistischen Analyse von pflanzenzüchterischen Experimenten, Version 2P. Institut für Pflanzenzüchtung, Universität Hohenheim, Stuttgart, Deutschland.
- UTZ, H.F., A.E. MELCHINGER and C.C. SCHÖN, 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.
- VAN OOIJEN, J.W. and R.E. VOORRIPS, 2001: Joinmap 3.0, Software for the calculation of genetic linkage maps. *Plant Research International, Wageningen, Netherlands*, pp. 1-51.
- YANG, Z.P., J. GILBERT, D.J. SOMERS, G. FEDAK, J.D. PROCUNIER and I.H. MCKENZIE, 2003: Marker assisted selection of Fusarium head blight resistance genes in two doubled haploid populations of wheat. *Mol. Breeding* 12: 309-317.

## Danksagung

Für die Unterstützung und die Betreuung von Versuchsflächen möchten wir der Lochow-Petkus GmbH, der Saat-zucht Breun und W.v. Borries-Eckendorf GmbH danken.

Das Projekt wurde vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) und KWS Saat AG im Rahmen des Forschungsverbundes GABI (Genomanalyse im biologischen System Pflanze) gefördert.