

# Klassifizierung von doppelhaploiden Weizenlinien mittels molekularer Marker

T. BRINGEZU, U. VAHL und G. MÜLLER

## Einleitung

Die Resistenzzüchtung gegenüber Schaderregern mit dem Ziel der Vermeidung von Ertragsverlusten bei gleichzeitiger Verringerung des Fungizideinsatzes besitzt in der Züchtungsforschung eine stetig steigende Bedeutung (vgl. ORDON et al. 1998). Da sich immer wieder Pathotypen entwickeln können, die gegen bisher benutzte Resistenzgene virulent sind (SIBIKKEEV et al. 1996), bleibt die möglichst schnelle Entwicklung von Weizen genotypen mit wirksamer Resistenz-Genkombination eine vorrangige Aufgabe. Allerdings stellt die Kombination mehrerer Resistenzgene gegen unterschiedliche Pathotypen des Weizens in einem Genotyp hohe Ansprüche an die Züchtungsforschung. Das gilt umso mehr, da solche Weizenlinien gleichzeitig gute Backqualitätsmerkmale aufweisen sollten. Durch Einbeziehung „Marker“-gestützter Selektionsverfahren (MAS) sowie Nutzung der Selektions- und Zeitvorteile, die sich aus der Anwendung der Haploidentechnik ergeben, kann die Präzision der Züchtungsprogramme weiter verbessert und der benötigte Zeitaufwand verringert werden (MÜLLER et al. 1994 und 1995).

Im Folgenden sollen zunächst Ergebnisse der erfolgreichen Nutzung biochemischer und molekularer Marker zur Selektion doppelhaploider Weizenlinien mit unterschiedlichen Merkmalskombinationen dargestellt werden. Im zweiten Teil soll dann insbesondere auf die Entwicklung und Nutzung von PCR-gestützten Markern im Rahmen unserer Selektionsprogramme eingegangen werden.

## Beispiele für die erfolgreiche Marker-gestützte Selektion doppelhaploider Weizenlinien mit

## unterschiedlichen Merkmalskombinationen

### Entwicklung von doppelhaploiden Winterweizenlinien mit simultan vorliegenden vier 1RS<sub>Insave</sub>-Weizen-Roggen-Translokationschromosomen und damit Anreicherung von 1RS<sub>Insave</sub>- bzw. Pm17-Allelen in einem Weizen genotyp

Aus dem F<sub>1</sub>-Hybrid der Kreuzung einer 1AL.1RS<sub>Insave</sub>-Weizen-Roggen-Translokations-Linie mit einer 1BL.1RS<sub>Insave</sub>-Linie wurde über Antherenkultur eine dh-Linien-Population entwickelt. Aus diesem Pool wurden doppelhaploide Weizen-Linien selektiert, die beide Weizen-Roggen-Translokations-Chromosomen (1AL.1RS<sub>Insave</sub>, 1BL.1RS<sub>Insave</sub>) disom aufweisen. Die kurzen Arme der homoeologen Chromosomen 1A und 1B sind hier durch insgesamt vier gleiche 1RS-Arme ersetzt, die ursprünglich aus der Roggensorte „Insave“ stammen und das

effektiv wirkende Mehlauresistenzgen *Pm17* tragen (BRINGEZU et al. 1997a). Das simultane Vorliegen der 1AL.1RS- und 1BL.1RS-Translokations-Chromosomen-Paare wurde auf der Basis der Glucose-Phosphat-Isomerase- und Gliadin-Muster ermittelt sowie cytologisch durch Giemsa-C-Banding bestätigt. Der Nachweis einheitlicher 1RS<sub>Insave</sub>-Chromosomenarme erfolgte an Hand der entsprechenden Secaline sowie der Roggen-spezifischen RFLP-Marker Sc.BS+, 7200 bzw. 7250.

### Entwicklung von doppelhaploiden Weizenlinien mit den drei Weizen-Roggen-Translokations-Chromosomen-Paaren 1AL.1RS<sub>Insave</sub>, 1BL.1RS<sub>Petkus</sub> und 1DL.1RS<sub>Imperial</sub>

Diese dh-Linien wurden nach folgendem Schema entwickelt (Abbildung 1). Zunächst wurden dh-Linien mit zwei disomen Weizen-Roggen-Translokations-Chromosomen mit unterschiedlichen 1RS-Armen erstellt. Die 1RS-Arme besitzen entsprechend ihrer ursprünglichen

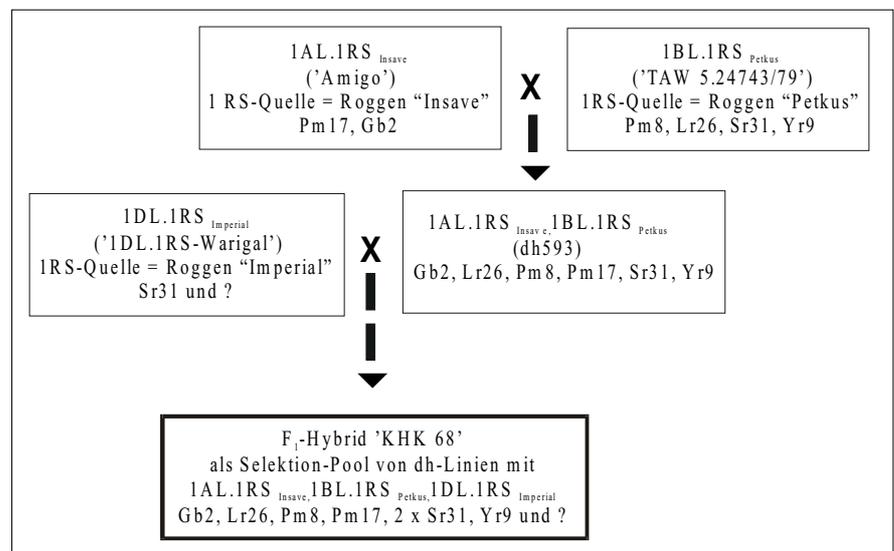


Abbildung 1: Schema für die Entwicklung von doppelhaploiden Weizen-Linien mit einem Satz von drei disomen 1RS-Weizen-Roggen-Translokations-Chromosomen.

**Autoren:** Dr. Thomas BRINGEZU, Dr. Ute VAHL und Dr. Günter MÜLLER, Agrarökologisches Institut, Martin-Luther-Universität e.V., Arbeitsgruppe Biotechnik, Strenzfelder Allee 23, D-06406 BERNBURG

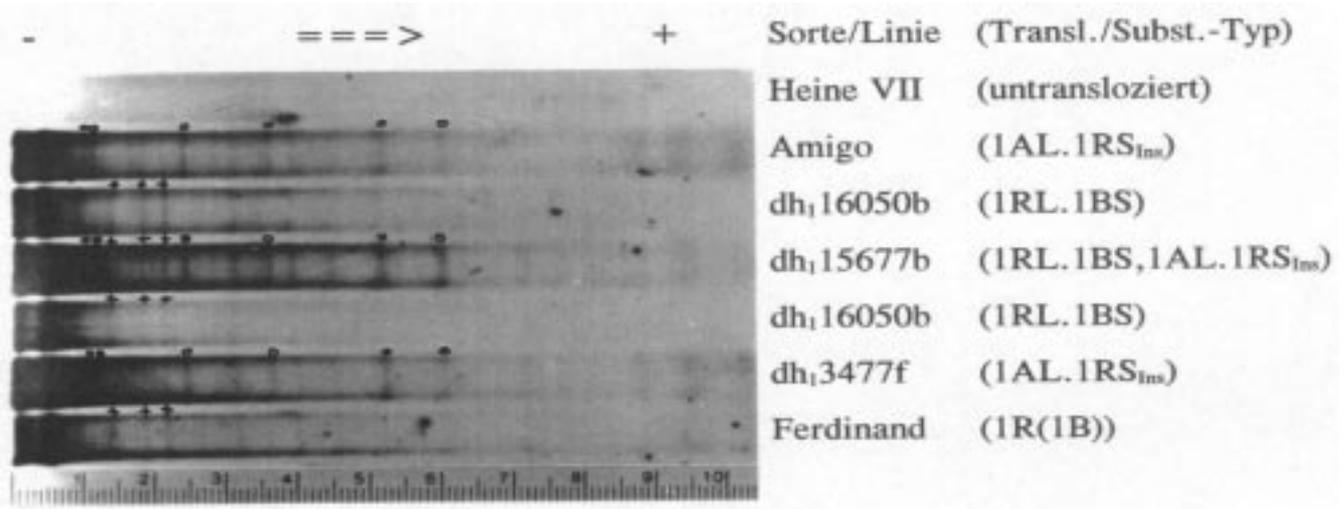


Abbildung 2: Nutzung der Southern-Hybridisations-Muster HindIII-verdauter Gesamt-DNS mit der repetitiven Sonde pSc.BS+.7250 zur Differenzierung des 1AL.1RS<sub>Insave</sub>-Translokations-Chromosoms vom 1R(1B)-Chromosom bzw. 1RL.1BS-Chromosom. Der 1RL-Arm der dh-Weizen-Linien 15677b und 16050b aus der Kreuzungspopulation IJ 91 (Ferdinand x dh<sub>2</sub> 3477f) leitet sich vom 1R(1B)-Substitutions-Chromosom der Sorte „Ferdinand“ ab; Elektrophorese in 1%-iger Agarose und 1 x TAE-Puffer, Fragmente mit diagnostischem Wert für 1RS<sub>Insave</sub> = o; für 1RL = +

Herkunft aus den Roggensorten „Insave“ bzw. „Petkus“ eine unterschiedliche Gen-Ausstattung. Diese nachfolgend als Doppeltranslokationen bezeichneten doppelhaploiden Weizenlinien wurden mit einem 1DL.1RS<sub>Imperial</sub>-Translokationsweizen gekreuzt und aus dem F<sub>1</sub>-Hybrid in einem weiteren Haploidschritt

eine dh-Linien-Population erzeugt. Aus diesem dh-Linien-Pool wurden die dreifachtranslozierten Linien (1AL.1RS<sub>Insave</sub>, 1BL.1RS<sub>Petkus</sub>, 1DL.1RS<sub>Imperial</sub>) mittels Prolamin-Muster, RFLP-Analyse und *in situ*-Hybridisation bzw. Giemsa-C-Banding selektiert. Diese doppelhaploiden Linien enthalten demzufolge eine Kom-

bination aus den Resistenzgenen der Roggenchromosomen-Arme 1RS<sub>Insave</sub>, 1RS<sub>Petkus</sub> und 1RS<sub>Imperial</sub> in einem Genotyp (BRINGEZU et al. 1998a).

#### Entwicklung doppelhaploider Weizenlinien mit neuen Weizen-Roggen-Substitutions- und Translokationen

Diese Linien wurden aus der F<sub>1</sub>-Population der Kreuzung zwischen der 1R(1B)-Substitutionsorte „Ferdinand“ und der 1AL.1RS<sub>Insave</sub>-Translokations-Linie dh 3477f entwickelt. Neben dh-Linien, bei denen das simultane Vorliegen von 1R(1B)- und 1AL.1RS<sub>Insave</sub>-Chromosomen nachgewiesen werden konnte, wurden auch neuartige 1R(1B)-Substitutions-Linien mit 1RS<sub>Insave</sub>-Chromosomenarm (1RL.1RS<sub>Insave</sub> mit *Pm17*-Locus) selektiert (MÜLLER und VAHL 1997). Weiterhin wurden doppelhaploide Linien gefunden, die neue Weizen-Roggen-Translokations-Chromosomen (z.B. 1RL.1BS) aufweisen (MÜLLER et al. unveröffentlicht). Als Beispiel für die Marker-gestützte Selektion derartiger Linien sind die RFLP-Muster in der Abbildung 2 dargestellt. Das Muster einer dh-Linie mit neuartigem 1RL.1BS-Chromosom (16050a) ist im Vergleich zu den Ausgangseltern „Ferdinand“ und dh 3477f sowie zur Sorte „Amigo“ dargestellt. In der mittleren Elektrophorese-Spur wurde DNA der doppelhaploiden Linie 15677b aufgetragen, in das 1RL.1BS-Weizen-Roggen-Trans-

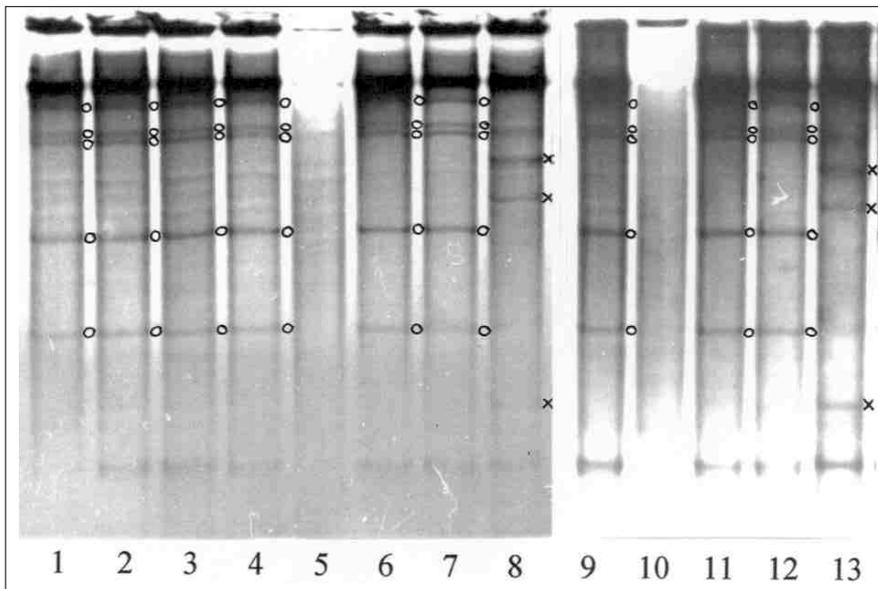
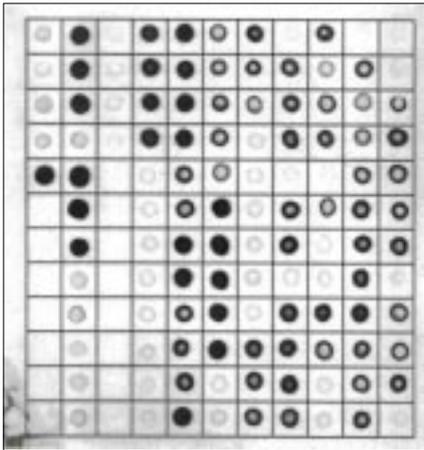


Abbildung 3: Kontrolle der An- bzw. Abwesenheit des 1RS<sub>Insave</sub>-Roggenchromatins in biochemisch vorselektierten dh-Linien der F<sub>1</sub>-Populationen IJ 105 und IJ 115 an Hand der Southern-Hybridisationsmuster HindIII-verdauter DNS mit der repetitiven Roggen-DNS-Sonde pSc.BS+.7250. 1BL.1RS<sub>Insave</sub>-Linien dh<sub>1</sub>17623, 17876, 18180b, 16543a und 17622a (Bahnen 1 bis 4 sowie 9), untranslozierte Linien dh<sub>1</sub> 15991a und 17930a (Bahnen 5 und 10); zum Vergleich: 1BL.1RS<sub>Insave</sub>-Elter dh 932 (Bahnen 6 und 11), 1AL.1RS<sub>Insave</sub>-Sorte „Amigo“ (Bahnen 7 und 12), 1BL.1RS<sub>Petkus</sub>-Sorten „Iris“ und „Kavkaz“ (Bahnen 8 und 13); o = 1RS<sub>Insave</sub> - bzw. + = 1RS<sub>Petkus</sub>-typische DNS-Fragmente



**Abbildung 4: Nachweis (Dot-Blot-Hybridisation) des Weizen-Roggen-Translokations-Chromosom 1AL.1RS<sub>Insave</sub> (Mehltauresistenz-Gen Pm17) in doppelhaploiden Weizenlinien.** In jedes Feld ist ca. 1 µg Gesamt-DNS der zu untersuchenden doppelhaploiden Linie aufgetragen worden. Durch anschließende Hybridisation mit der repetitiven Roggen-spezifischen DNA-Sonde Sc.BS+.7250 wird die Anwesenheit des 1RS<sub>Insave</sub>-Roggen-Chromatins durch eine punktförmige Schwärzung sichtbar.

lokations-Chromosom simultan mit dem 1AL.1RS<sub>Insave</sub>-Chromosom vorliegt. Die Anwesenheit des 1RL- und des 1RS<sub>Insave</sub>-Chromosomen-Arms wird durch die entsprechenden spezifischen Fragmente beider Chromosomen-Arme angezeigt. An dieser Stelle soll außerdem noch darauf hingewiesen werden, dass sich die RFLP-Muster der 1R(1B)-Substitutionsorten „Ferdinand“ und „Salzmünder Bartweizen“ deutlich unterscheiden (hier nicht dargestellt), so dass mit Hilfe des hier benutzten RFLP-Markers erstmalig eine Unterscheidung zwischen den bei-

den 1R(1B)-Substitutionsorten „Ferdinand“ und „Salzmünder Bartweizen“ bezüglich ihres Roggenchromatin-Anteils möglich ist.

**Einlagerung der 1RS<sub>Insave</sub>-Weizen-Roggen-Translokation (Mehltauresistenz-Gen Pm17) in Backweizen**

Als Quelle für die Übertragung des Mehltau-Resistenzgens *Pm17* dienten hauptsächlich 1AL.1RS<sub>Insave</sub>-Weizen-Roggen-Translokations-Linien. Daneben wurden außerdem 1BL.1RS<sub>Insave</sub>-Translokations-Weizen genutzt. Die Selektion der doppelhaploiden Linien erfolgte auch hier durch kombinierte Anwendung biochemischer Marker (Secalin/Gliadin bzw. HMW-Gluteline) und RFLP-Sonden (repetitive Roggen-DNS). Die *Abbildung 3* zeigt die Kontrolle der An- bzw. Abwesenheit des 1RS<sub>Insave</sub>-Roggenchromatins mit Hilfe der Roggen-DNA-spezifischen RFLP-Sonde pSc.BS+.7250 in biochemisch klassifizierten Antherenkultur-Nachkommenschaften (VAHL et al. 1998).

**Entwicklung von doppelhaploiden Weizenlinien mit mehreren verschiedenen Resistenzgenen und positiver Glutenin-Allel-Kombination**

In diesen doppelhaploiden Weizenlinien konnten folgende Merkmale homozygot vereinigt werden (MÜLLER et al. 1997, BRINGEZU et al. 1997b, 1998b):

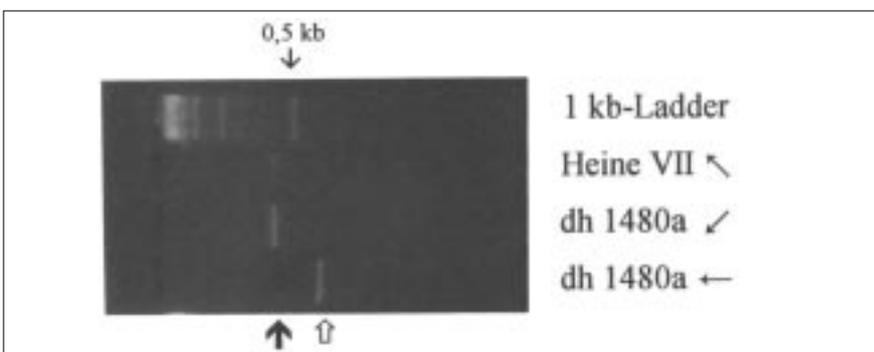
1. HMW-Glutelin-Allel-Kombination 2\*, 7+9 und 5+10 (codiert durch die 1AL-, 1BL- und 1DL-Chromosomenarme) als relevantes Merkmal für Backqualität

2. Halmbruch-Resistenz-Gen *Pch-1* aus *Ae. ventricosa* (lokalisiert auf dem 7DL-Chromosom)
3. Rost-Resistenz-Gen *Sr24/Lr24* aus *Agropyron elongatum* (lokalisiert auf dem 1BL-1BS-3Ac#1L-Translokations-Chromosom)
4. Mehltau-Resistenz-Gen *Pm17* aus Roggen (lokalisiert auf dem 1AL-1RS<sub>Insave</sub>-Translokations-Chromosom)

Die Charakterisierung bzw. Selektion erfolgte auf der Grundlage von Endopeptidase-Mustern für das Halmbruch-Resistenz-Gen *Pch1* (VAHL und MÜLLER 1997). Für den *Lr24/Sr24-* bzw. *Pm17*-Gen-Nachweis standen RFLP-Marker (*Agropyron-* und Roggen-spezifische DNA-Sonden, BRINGEZU et al. 1998) zur Verfügung. Die Selektion auf *Pm17*-Resistenz-Gen wurde außerdem auf der Grundlage von Secalin-Mustern durchgeführt (VAHL und MÜLLER 1997) und konnte auf Grund des speziellen Kreuzungsschemas noch durch „squash dot“- bzw. „dot blot“-Verfahren ergänzt werden. Die *Abbildung 4* zeigt eine typische „dot-blot“-Hybridisation mit einer Roggen-spezifischen DNA-Sonde. Die doppelhaploiden Linien mit Roggen-Chromatin (bzw. *Pm17*-Resistenz-Gen) werden durch eine punktförmige Schwärzung detektiert. Trotz der relativ geringen Anzahl der zur Verfügung stehenden doppelhaploiden Linien konnten homozygote Weizenlinien mit der gewünschten Kombination aller vier Merkmale (siehe oben) ermittelt werden. Damit bestätigt auch dieses Ergebnis die gute Brauchbarkeit der Haploidentechnik in Zusammenhang mit der Anwendung der MAS für ein rasches und zuverlässiges Auffinden spezieller Weizen-genotypen mit multiplen Merkmalskombinationen. Für die praktische Anwendbarkeit ist außerdem von Bedeutung, dass die selektierten Linien im bisherigen Feldanbau keinen Blattrost-Befall und auch hinsichtlich anderer Pilzkrankheiten keine wesentlichen Befallssymptome aufweisen.

**Entwicklung und Nutzung von PCR-gestützten Markern**

Der zuvor dargestellte Nachweis der unterschiedlichen 1RS-Translokationen in den Antherenkultur-Nachkommenschaften erfolgt in der Regel primär am ersten Erntegut der aufgedoppelten Re-



**Abbildung 5: PCR-Amplifikate mit den Primer-Kombinationen ACC2P1/P2 (é; ca. 600bp) und ACC2P1/CP1 (ñ; ca. 400 bp) und genomischer Gesamt-DNA aus der doppelhaploiden Linie 1480a mit Agropyron-Introgression bzw. Lr24-Gen (getestet mit RFLP-Marker). Zum Vergleich: der untranslozierte Weizen „Heine-VII“ mit der Primer-Kombination ACC2P1/CP2.**

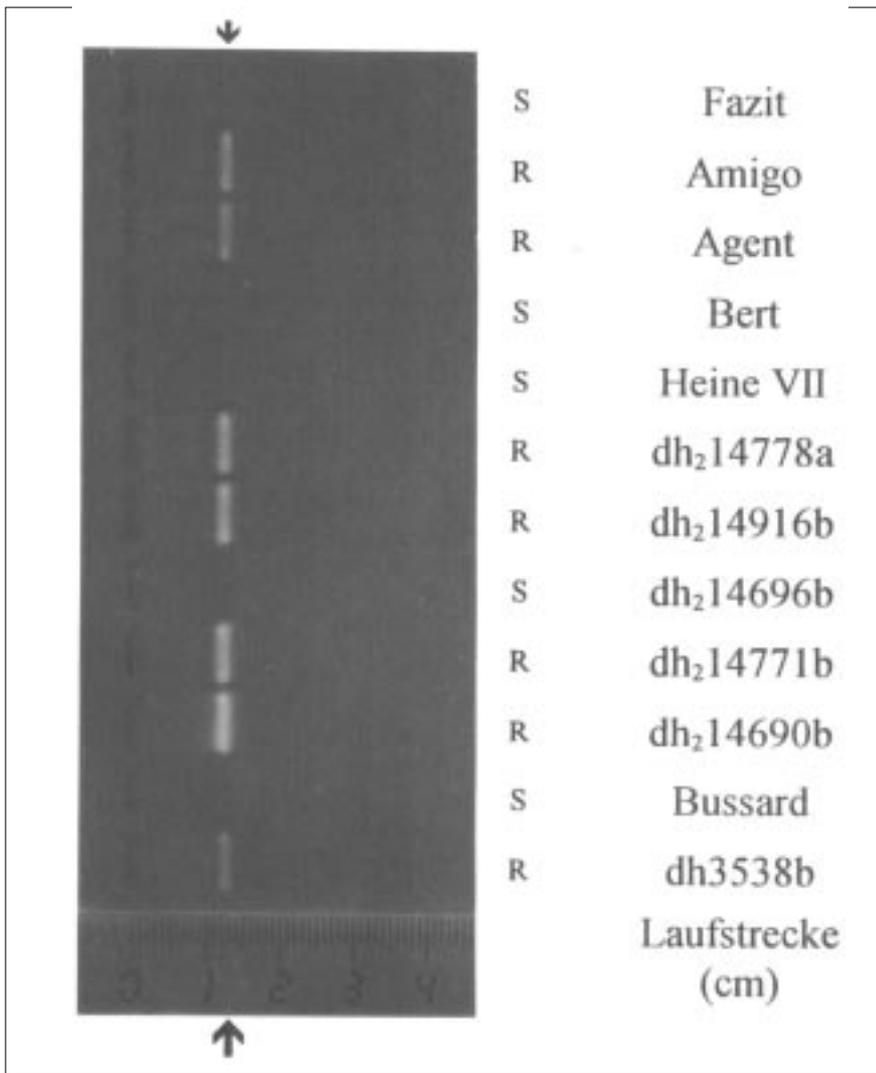


Abbildung 6: PCR-Amplifikation mit der Primer-Kombination ACC2P1/P2 und genomischer Gesamt-DNA aus Weizensorten bzw. doppelhaploiden Linien mit (R) und ohne (S) *Agropyron*-Introgression bzw. *Lr24*-Gen (getestet mit RFLP-Marker). Die polymorphen DNA-Amplifikate mit einer Größe von ca. 600 bp sind mit einem Pfeil (é) gekennzeichnet.

generatpflanzen (dh<sub>1</sub>-Körner) anhand der Prolamin-Muster von Kornproteinextrakten. Eine Beschleunigung des Selektionsverfahrens durch eine Einstufung der eigentlichen Regeneratpflanzen (dh<sub>0</sub>-Generation) ist bisher nur durch Glucosephosphat-Isomerase-Trennungen (fehlende 1AS- bzw. 1BS-Chromosomen-Arme) in Kombination mit multiplen Peroxidasen bzw. RFLP-Analysen möglich. Besonders bei der RFLP-Analyse wird neben dem erheblich größeren Aufwand für die Analyse auch deutlich mehr Blattmaterial für die DNA-Isolation benötigt. Das steht jedoch im Falle der Regeneratpflanzen nicht immer zur Verfügung. Das gilt auch für den Nachweis des aus *Agropyron elongatum* stammenden Rost-Resistenz-Gens *Sr24/Lr24*

auf dem 1BL-1BS-3Ae#1L-Translokations-Chromosom, da dieser ebenfalls durch die relativ aufwendige RFLP-Technik erfolgt.

Der Ersatz der bisher genutzten RFLP-Marker durch Techniken, die mit geringerem Aufwand in unseren Selektionsprogrammen eingesetzt werden können, ist deshalb sehr wünschenswert. Da für die Analyse mit Hilfe von Markern auf PCR-Basis neben einem geringeren Zeitbedarf nur geringe Mengen pflanzlichen Ausgangsmaterials zur DNA-Isolation benötigt werden, stellt die PCR-Technik eine effektive Alternative zur Charakterisierung der unterschiedlichen doppelhaploiden Weizenpopulationen dar. Die Grundlage für die Anwendung der PCR-Technik ist jedoch das Auffinden

von Markern mit ausreichender Spezifität und Reproduzierbarkeit.

### Entwicklung eines molekularen Markers für *Lr24*

OLSON et al. (1989) bzw. PARAN und MICHELMORE (1993) beschreiben unter der Bezeichnung „sequence tagged site“ (STS) bzw. „sequence characterized amplified region“ (SCAR) eine zuverlässige Methode zur Entwicklung von PCR-Markern, die sich als besonders brauchbar in Marker-unterstützten Züchtungsprogrammen herausgestellt haben (vgl. HERNÁNDEZ et al. 1999). Die für diese PCR-Methode benötigten spezifischen Primer werden aus den endständigen Sequenzen polymorpher DNA (RAPD oder RFLP-Sonden) entwickelt. Auf Grundlage dieser Technik haben SCHACHERMAYR et al. (1995) bzw. DEDRYVER et al. (1996) durch Umwandlung von RAPD-Markern entsprechende STS- bzw. SCAR-Marker für das Blattrost-Resistenz-Gen *Lr24* aus *Agropyron elongatum* (Locus: T3DS.3DL-3Ae#1L) in der Weizensorte „Agent“ erhalten. Diese PCR-Marker erwiesen sich zum Nachweis der *Agropyron elongatum*-Introgression aus „Amigo“ (T1BL.1BS-3Ae#1L-Translokations-Chromosom; JIANG et al. 1994) mit dem Resistenz-Gen *Lr24/Sr24* (THE et al. 1992) unter unseren Laborbedingungen als nicht geeignet. Aus diesem Grund wurden aus den internen DNA-Sequenzen der von uns benutzten RFLP-Marker (EleAcc2 und Acc2C, vgl. BRINGEZU et al. 1998b) anhand vorliegender DNS-Sequenz-Daten (McINTYRE et al. 1988) Primer-Sequenzen abgeleitet und ihre Eignung als SCAR-Primer zum *Lr24*-Nachweis geprüft. Die Amplifikationsprodukte der Weizensorte „Amigo“ mit T1BL.1BS-3Ae#1L-Translokations-Chromosom bzw. den „Amigo“-abgeleiteten doppelhaploiden Weizen-Linien entsprachen der erwarteten Größe von 596 bp bzw. 415 bp (Abbildung 5, dh 1480a). Mit der untranslozierten Weizensorte „Heine VII“ wurde dagegen mit dem entwickelten PCR-Programm kein Amplifikationsprodukt erhalten.

Die weitere Kontrolle der Reproduzierbarkeit des Nachweises der mit der *Agropyron*-Introgression verknüpften Blattrostresistenz *Lr24* erfolgte durch Vergleich mit den Resultaten, die mittels

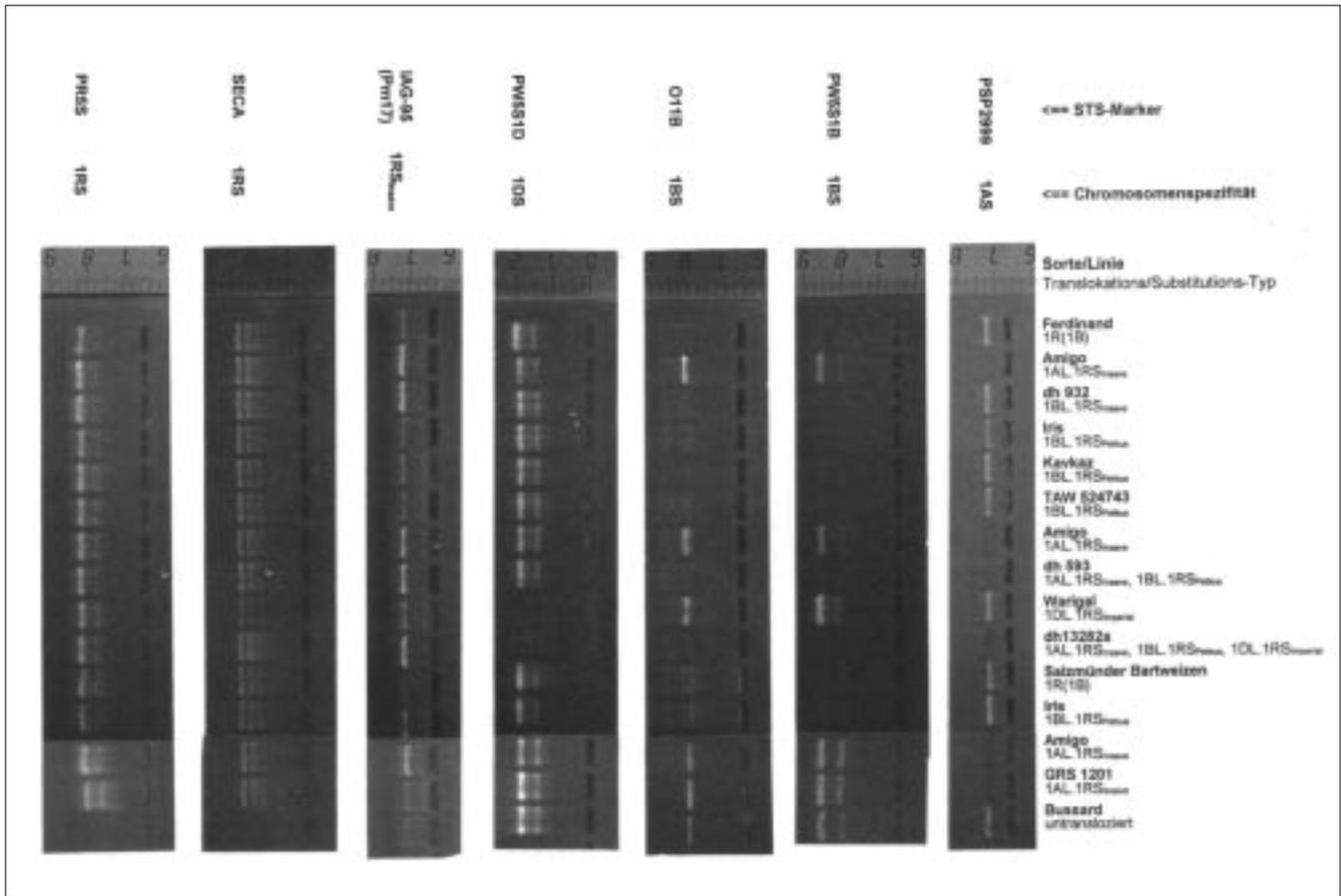


Abbildung 7: PCR-Amplifikations-Profile mit 1AS-, 1BS-, 1DS- und 1RS-spezifischen STS-Markern von Weizen mit unterschiedlichen 1RS-Weizen-Roggen-Translokations- bzw. 1R(1B)-Substitutions-Chromosomen. Der chromosomale Typ ist in der oberen Zeile angegeben. Die Bezeichnung der STS-Marker mit der dazugehörigen Chromosomenspezifität findet sich in der linken Spalte. Die Anwesenheit/Abwesenheit des jeweiligen kurzen Chromosomenarmes wird durch das Auftreten/Fehlen des entsprechenden spezifischen PCR-Amplifikates angezeigt.

RFLP-Technik an Hand der gut charakterisierten dh-Linien-Population des F<sub>1</sub>-Hybrids IJ3w = dh 3538b x „Bussard“ erhalten werden konnten (BRINGEZU et al. 1998). In der *Abbildung 6* sind die elektrophoretischen Muster von Amplifikationsprodukten (siehe Pfeil) mit der Primerkombination ACC2P1/P2 dargestellt. Neben den doppelhaploiden Weizenlinien der F<sub>1</sub>-Population IJ3w (dh<sub>2</sub> 14778a, dh<sub>2</sub> 14916b, dh<sub>2</sub> 14969a, dh<sub>2</sub> 14771b und dh<sub>2</sub> 14690b) wurden hier auch die Kreuzungseltern dh 3538b und „Bussard“ einbezogen und den Sorten „Fazit“, „Amigo“, „Agent“, „Bert“ und „HeineVII“ gegenübergestellt. Die polymorphen DNA-Amplifikate (siehe Pfeil) kennzeichnen die Linien mit T1BL.1BS-3Ae#1L-Translokations-Chromosom bzw. *Lr24*-Resistenz-Gen. Insgesamt ist bisher zwischen RFLP- und SCAR-Marker(n) eine 100%-ige Übereinstimmung bezüglich des *Lr24*-Nachweises gefunden worden. Das beweist die gute Selektionskapazität des neuent-

wickelten Markers für das mit der Blattrost-Resistenz verknüpften Agropyron-Chromatin.

Das Auftreten eines PCR-Amplifikates mit DNA aus der Sorte „Agent“ (*Abbildung 6*, 3. Bahn von oben) zeigt außerdem, dass sich der SCAR-Marker auch zur Detektion des „Agropyron“-Anteils in Weizen mit T3DS.3DL-3Ae#1L-Translokations-Chromosom (*Lr24*-Resistenz-Gen-Locus) eignet. Das stimmt mit Befunden überein, die schon vorher mit den RFLP-Sonden erhalten worden sind (BRINGEZU unveröffentlicht).

### Nutzung von molekularen Markern auf PCR-Basis zur Charakterisierung von 1RS-Weizen-Roggen-Translokations-Chromosomen

Für diese Untersuchungen wurden folgende genetische Marker auf PCR-Basis ausgewählt und geprüft:

1. Nachweis: **1RS**  
STS-Marker: J07I (IQBAL und RAY-

BURN 1995), Primerkombination abgeleitet aus RAPD-Amplifikat, Locus: unbekannt

STS-Marker: SECA (DE FROIDMONT 1998), Primerkombination abgeleitet aus omega-Scalin-Gen, Locus: SEC 1b

STS-Marker: PR5S (VAN CAMPENHOUT et al. 1998), Primerkombination abgeleitet aus „spacer“-Sequenz des 5S-rRNA-Gen, Locus: 5S-rRNA-R1

2. Nachweis: **1RS<sub>insave</sub> (bzw. Pm17)**  
STS-Marker: IAG-95 (MOHLER, persönliche Mitteilung), Primerkombination abgeleitet aus Mehltau-spezifischen Roggen-DNA-Klon, Locus: Xiag95

3. Nachweis: **1AS**  
STS-Marker: PSP2999 (DEVOS et al. 1995), Primerkombination aus flankierenden Sequenzen eines internen MS (Mikrosatellit) vom LMW-Glutenin-Gen (Glu-3)-1, Locus: Xpsr11  
MS-Marker GWM 136 (RÖDER et

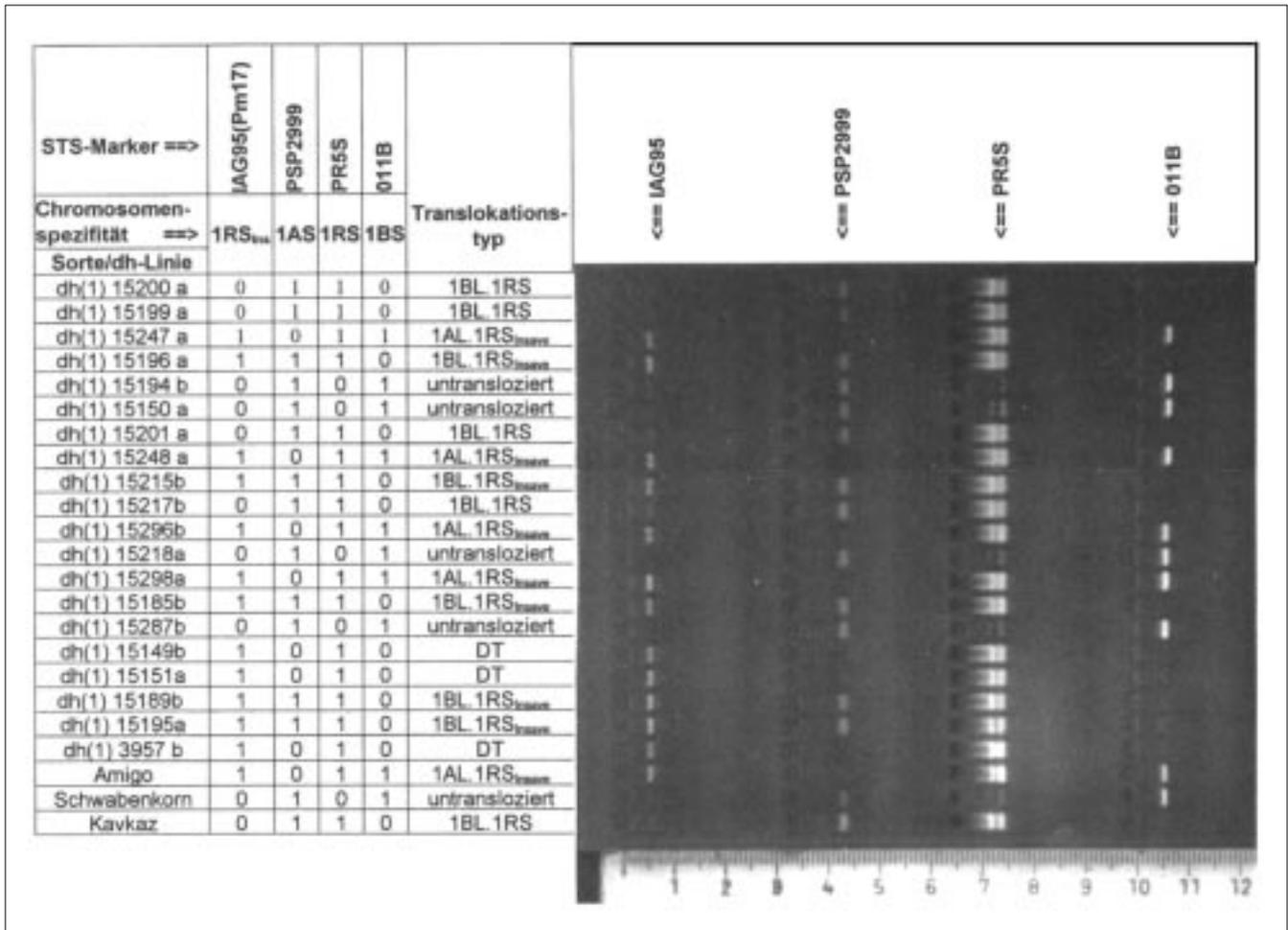


Abbildung 8: STS-Amplifikations-Profile von dh-Linien aus der F<sub>1</sub>-Population IJ 61 (Schwabekorn x DT dh3957c) im Vergleich mit den Sorten „Amigo“, „Schwabekorn“ und „Kavkaz“. Der Translokationstyp wird durch die Anwesenheit (1) oder Abwesenheit (0) der entsprechenden 1RS-, 1AS- und 1BS-spezifischen Amplifikate ermittelt. (DT = 1AL.1RS<sub>insave</sub> 1BL.1RS<sub>Petkus</sub>)

al. 1998), Primerkombination aus flankierenden Sequenzen eines MS, Locus: 1AS (Weizen-Mikrosatellit-Karte)

#### 4. Nachweis: 1BS

STS-Marker: O11B (VAN CAMPENHOUT et al. 1995, DE FROIDMONT 1998), Primerkombination abgeleitet aus LMW-Glutenin-Gen Locus: Glu-B3

STS-Marker: PW5S1B (VAN CAMPENHOUT et al. 1998), Primerkombination abgeleitet aus „spacer“-Sequenz des 5S-rRNA-Gen, Locus: 5S-rRNA-B1

#### 5. Nachweis: 1DS

STS-Marker: PW5S1D (VAN CAMPENHOUT et al. 1998), Primerkombination abgeleitet aus „spacer“-Sequenz des 5S-rRNA-Gen, Locus: 5S-rRNA-D1

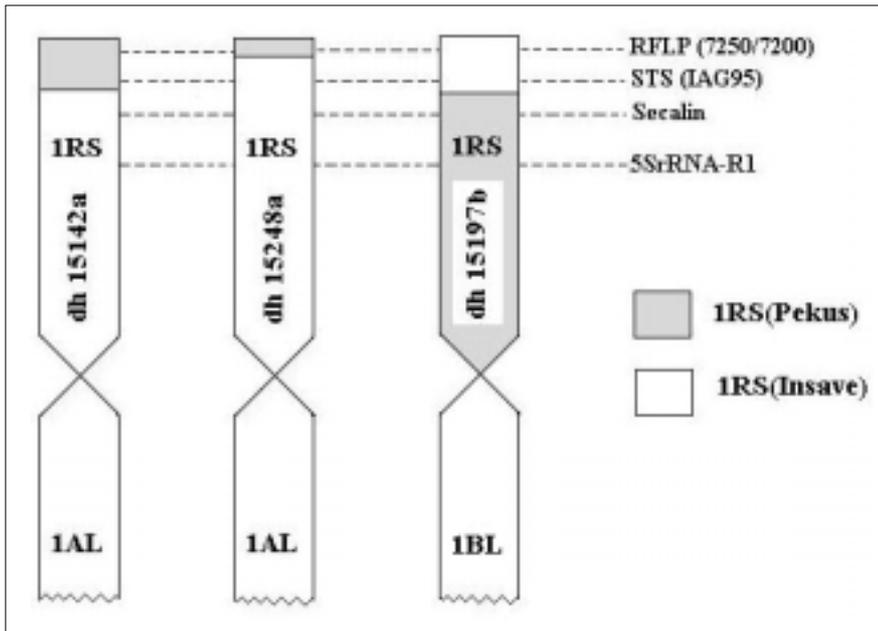
Obwohl einige der Primer auch zur Multiplex-PCR geeignet sind, wurden alle

Primer-Kombinationen in getrennten Ansätzen auf die Amplifikation spezifischer PCR-Produkte überprüft. Die Kontrolle der Reproduzierbarkeit bzw. Spezifität der STS-Marker erfolgte zunächst an Sorten und doppelhaploiden Linien, die unterschiedliche 1RS-Weizen-Roggen-Translokations- oder auch 1R(1B)-Substitutions-Chromosomen enthalten und zuvor durch umfangreiche RFLP- bzw. Protein-Analysen gut charakterisiert waren. PCR-Amplifikations-Profile mit diesen 1AS-, 1BS-, 1DS- und 1RS-spezifischen STS- bzw. MS-Markern sind in *Abbildung 7* dargestellt.

„Amigo“ und alle hier dargestellten dh-Linien mit „Amigo“-abgeleiteter 1RS<sub>insave</sub>-Translokation bilden mit den Primern von IAG-95 kräftige DNA-Amplifikate aus, die sich deutlich von den PCR-Produkten der übrigen Weizen mit 1RS-Chromosomenarmen anderer Herkunft (Petkus und Imperial) unterscheiden lassen. Dagegen ist eine Differenzierung

der Weizen mit unterschiedlichen 1RS-Chromosomenarmen durch die anderen geprüften 1RS-spezifischen STS-Marker (SECA bzw. PR55) nicht möglich. An dieser Stelle soll auf die Weizenlinie „GRS 1201“ hingewiesen werden, die ebenso wie „Amigo“, ein 1AL.1RS<sub>insave</sub>-Translokations-Chromosom besitzt (PORTER et al. 1994, GRAYBOSCH et al. 1999). Im Gegensatz zum 1RS-Arm von „Amigo“ trägt der von „GRS 1201“ jedoch nicht das Mehltresistenzgen *Pm17*. Dementsprechend bildet „GRS 1201“ mit IAG-95 auch kein Amplifikationsprodukt (*Abbildung 7*). Gegenüber „Amigo“ fehlt der Weizenlinie „GRS 1201“ außerdem eine 1RS<sub>insave</sub>-spezifische Secalin-Bande und auch mit dem RFLP-Marker Sc.BS+.7250 wurde ein von „Amigo“ und auch von allen anderen 1RS-Translokationsorten abweichendes RFLP-Profil nachgewiesen (nicht dargestellt).

Die Eignung der STS- bzw. MS (Mikrosatellit)-Marker zur Charakterisierung



**Abbildung 9: Vermutliche Strukturen der rekombinanten 1RS-Chromosomenarme der doppelhaploiden Weizen-Linien 15142a, 15248a und 15197b. Die Chromosomenstruktur ist aus den bisher mittels Protein, RFLP- und PCR-Markern erfolgten Einstufungen dieser dh-Linien (Tab. 1, lfd. Nr. 1, 4 und 15) abgeleitet worden.**

von 1RS-Weizen-Roggen-Translokations-Chromosomen wurde auch an dh-Linien der Population aus IJ3w überprüft (nicht dargestellt). Auch hier wurde eine 100%-ige Übereinstimmung in den Einstufungen des Weizen-Roggen-Translokationstyps mittels RFLP-, Secalin/Gliadin- und STS/MS-Marker gefunden. Die sehr gute Selektions-Kapazität der geprüften PCR-Marker-Kombinationen konnte, wie an Hand des Auftretens bzw. Fehlens der entsprechenden Amplifikate in der *Abbildung 8* klar zu erkennen ist, auch an dh-Linien aus der F<sub>1</sub>-Population IJ61 nachgewiesen werden. Die F<sub>1</sub>-Population beruht auf der Kreuzung „Schwabenkorn“ x dh 3957c (MÜLLER et al. 1998). Bei der als Kreuzungselter eingesetzten dh-Linie 3957c handelt es sich um eine Doppeltranslokation, die die Chromosomen 1AL.1RS<sub>Insave</sub> und 1BL.1RS<sub>Pekus</sub> disom enthält.

Die Ergebnisse aus den zuletzt genannten Untersuchungen sind in der *Tabelle 1* den Einstufungen des Weizen-Roggen-Translokationstyps mittels Prolamin (Secalin/Gliadin)- und RFLP-Markern gegenübergestellt. Im Gegensatz zu den bisherigen Befunden sind in dieser dh-Linien-Population drei dh-Linien (15142a, 14248a und 15197b) mit abweichenden Einstufungen gefunden worden (*Tabelle 1*, lfd. Nr. 1, 4 und 15), die

wahrscheinlich auf homologe Rekombinationen zwischen den unterschiedlichen kurzen Armen der Weizen-Roggen-Chromosomen 1AL.1RS<sub>Insave</sub> und 1BL.1RS<sub>Pekus</sub> während der Meiose des F<sub>1</sub>-Hybrids IJ61 zurückgeführt werden können. Entsprechende Rekombinationsereignisse zwischen den zwei unterschiedlichen 1RS<sub>Insave</sub>-Armen aus „Amigo“ und „GRS1201“ (vgl. mit den Ausführungen weiter oben), die schon von GRAYBOSCH et al. (1999) diskutiert worden sind, stützen diese Überlegungen. Erste, aus den bisher vorliegenden Daten abgeleitete Vorstellungen über die Struktur der rekombinanten 1RS-Arme dieser Weizen-Roggen-Translokations-Chromosomen, sind in der *Abbildung 9* dargestellt. Links und in der Mitte ist die wahrscheinliche chromosomale Struktur der doppelhaploiden Linien 15142a und 15248a abgebildet. Es handelt sich hierbei um rekombinante 1AL.1RS<sub>Insave</sub>-Chromosomen, in denen unterschiedlich große distale Bereiche des translozierten kurzen Roggen-Arms durch chromosomale Segmente des 1RS<sub>Pekus</sub>-Arms ausgetauscht sind. Dagegen besitzt die Linie dh 15197b (*Abbildung 9*, rechts) ein rekombinantes 1BL.1RS<sub>Pekus</sub>-Chromosom, dessen distaler Bereich des 1RS-Arms durch einen Abschnitt des 1RS<sub>Insave</sub>-Arms ausgetauscht worden ist. Da mit

DNA dieser dh-Linie ein Amplifikat mit dem STS-Marker IAG-95 erhalten wird, sollte, auf Grund der bisher angenommenen engen Kopplung zwischen *Pm17*-Locus und dem STS-Marker IAG-95, mit dem 1RS<sub>Insave</sub>-Chromosomen-Segment auch der Mehltau-Resistenz-Gen-Locus *Pm17* auf das 1BL.1RS<sub>Pekus</sub>-Chromosom übertragen worden sein. Ob diese Kopplung zwischen Resistenz-Locus und IAG-95 in den rekombinanten Linien erhalten bleibt bzw. in welchem Umfang eine Kopplung zu den übrigen Markern (Secalin-Muster, subtelomere repetitive RFLP-Sonde) besteht, soll durch noch durchzuführende Mehltau-Resistenz-Prüfungen ermittelt werden.

### Zusammenfassung

Anhand erfolgreicher Beispiele der Entwicklung doppelhaploider Weizen-Linien mit unterschiedlichen Merkmalskombinationen konnte die Anwendbarkeit von RFLP-Markern in Kombination mit biochemischen und cytologischen Techniken für Marker-gestützte Selektionsprogramme demonstriert werden. Gleichzeitig wird damit erneut bestätigt, dass mittels Antherenkultur-Technik erzeugte dh-Linien aus F<sub>1</sub>-Populationen ein ausgezeichnetes Ausgangsmaterial zur effektiven Entwicklung von homozygoten Weizenlinien mit multiplen Merkmalskombinationen bilden.

Zur Vereinfachung bzw. Beschleunigung der RFLP-Analysen wurden Marker auf der Grundlage der PCR-Technik (Mikrosatelliten und STS- bzw. SCAR-Marker) in die Untersuchungen einbezogen. So konnte zum Nachweis des *Lr24/Sr24*-Resistenzgen-Locus (T1BL.1BS-3Ae#1L-Translokations-Chromosom aus „Amigo“) ein SCAR-Marker entwickelt und zur Selektion doppelhaploider Linien eingesetzt werden. Außerdem wurden Mikrosatelliten und STS-Marker erfolgreich zum Nachweis von 1RS-Weizen-Roggen-Translokations-Chromosomen verwendet. Generell ergab sich dabei eine weitgehende Übereinstimmung zu den Einstufungen mittels RFLP-, biochemischen und cytologischen Marker gefunden.

Allerdings sind jedoch im Rahmen der Selektion doppelhaploider Linien, die auf einer Kreuzung mit einer Doppeltranslokation (Chromosomen 1AL.1RS<sub>Insave</sub>

und 1BL.1RS<sub>Petkus</sub>) beruhen, drei Linien selektiert worden (ca. 1-2 % der bisher untersuchten Linien), bei denen die Einstufung in Abhängigkeit vom genutzten Marker variiert. Diese Linien enthalten wahrscheinlich homologe Rekombinationen zwischen den aus verschiedenartigen Roggenquellen abgeleiteten kurzen Armen der Weizen-Roggen-Chromosomen 1AL.1RS<sub>Insave</sub> und 1BL.1RS<sub>Petkus</sub>. Erste Vorstellungen über die mögliche Struktur dieser rekombinierten Translokations-Chromosomen sind entwickelt worden, sie müssen jedoch durch weitere biochemische, molekular- und cytogenetische Untersuchungen sowie durch Resistenz-Tests überprüft bzw. bestätigt werden.

## Material und Methoden

Die doppelhaploiden (dh-) Linien sind über Antherenkultur entsprechender F<sub>1</sub>-Populationen erzeugt worden (zu Details der Haploidtechnik vergleiche MÜLLER und VAHL 1993).

**Tabelle 1: Einstufung des 1RS-Chromosomenarmtyps ausgewählter doppelhaploider Linien aus Kreuzungen zwischen „Schwabenkorn“ und 1AL.1RS<sub>Insave</sub>, 1BL.1RS<sub>Petkus</sub>- Doppel-Translokations-Linien (DT) auf der Basis von Protein-, RFLP- und PCR-Markern. Die doppelhaploiden Weizen-Linien wurden aus den F<sub>1</sub>-Populationen IJ 61 (Schwabenkorn x dh 3957c) und IJ 64 (dh 3958a x Schwabenkorn) mittels Antherenkulturtechnik entwickelt.**

Einstufung des Translokationstyps mittels:				
Sorte dh-Linie	STS-Marker-Kombination	Gliadin/Secalin-Muster	RFLP-Muster	
lfd.Nr.	Spezifität =>	1AS, 1BS, 1RS	1AS, 1BS, 1RS	1RS
1	dh(2) 15142a	1AL.1RS	1AL.1RS <sub>Insave</sub>	1RS <sub>Petkus</sub>
2	dh(1) 15298a	1AL.1RS <sub>Insave</sub>	1AL.1RS <sub>Insave</sub>	1RS <sub>Insave</sub>
3	dh(1) 15247a	1AL.1RS <sub>Insave</sub>	1AL.1RS <sub>Insave</sub>	1RS <sub>Insave</sub>
4	dh(1) 15248a	1AL.1RS <sub>Insave</sub>	1AL.1RS <sub>Insave</sub>	1RS <sub>Petkus</sub>
5	dh(1) 15227a	1AL.1RS <sub>Insave</sub>	1AL.1RS <sub>Insave</sub>	1RS <sub>Insave</sub>
6	dh(1) 15296b	1AL.1RS <sub>Insave</sub>	1AL.1RS <sub>Insave</sub>	1RS <sub>Insave</sub>
7	dh(1) 15244a	1BL.1RS	1BL.1RS <sub>Petkus</sub>	1RS <sub>Petkus</sub>
8	dh(1) 15200a	1BL.1RS	1BL.1RS <sub>Petkus</sub>	1RS <sub>Petkus</sub>
9	dh(1) 15201a	1BL.1RS	1BL.1RS <sub>Petkus</sub>	1RS <sub>Petkus</sub>
10	dh(1) 15217b	1BL.1RS	1BL.1RS <sub>Petkus</sub>	1RS <sub>Petkus</sub>
11	dh(1) 15185b	1BL.1RS <sub>Insave</sub>	1BL.1RS <sub>Insave</sub>	1RS <sub>Insave</sub>
12	dh(1) 15195a	1BL.1RS <sub>Insave</sub>	1BL.1RS <sub>Insave</sub>	1RS <sub>Insave</sub>
13	dh(1) 15196a	1BL.1RS <sub>Insave</sub>	1BL.1RS <sub>Insave</sub>	1RS <sub>Insave</sub>
14	dh(1) 15289b	1BL.1RS <sub>Insave</sub>	1BL.1RS <sub>Insave</sub>	1RS <sub>Insave</sub>
15	dh(1) 15197b	1BL.1RS <sub>Insave</sub>	1BL.1RS <sub>Petkus</sub>	1RS <sub>Insave</sub>
16	dh(1) 15151a	DT	DT	DT
17	dh(1) 15149b	DT	DT	DT
18	dh(1) 15218a	untransloziert	untransloziert	untransloziert
19	dh(1) 15287b	untransloziert	untransloziert	untransloziert
20	dh(1) 15150a	untransloziert	untransloziert	untransloziert
21	dh(1) 15194b	untransloziert	untransloziert	untransloziert
22	dh(1) 3957b	DT	DT	DT
23	Amigo	1AL.1RS <sub>Insave</sub>	1AL.1RS <sub>Insave</sub>	1RS <sub>Insave</sub>
24	Schwabenkorn	untransloziert	untransloziert	untransloziert
25	Kavkaz	1BL.1RS	1BL.1RS <sub>Petkus</sub>	1RS <sub>Petkus</sub>

Als biochemische Marker wurden IEF-getrennte Isoenzyme der Glucose-Phosphat-Isomerase (GPI) und der Endopeptidase (VAHL und MÜLLER 1997) sowie mittels SDS-Elektrophorese getrennte Prolamine (Gliadine und Secaline) und HMW-Glutene (VAHL und MÜLLER 1998, VAHL et al. 1993) genutzt.

Zur Isolation der genomischen GesamtdNA wurde 0,1 g bis 0,4 g pflanzliches Material (in der Regel grünes Blattwerk) mit flüssigem Stickstoff tiefgefroren und sofort pulverisiert. Die weitere Verarbeitung erfolgte wie bei SHARP et al. (1988) beschrieben. Anschließend wurden 5 bis 10 µg der gereinigten DNA mit der Restriktionsendonuklease HindIII verdaut, in 1,0 %-igem Agarosegel in 1 X TAE-Puffer bei ca. 1V/cm elektrophoretisch aufgetrennt und mittels alkalischem „Southern Transfer“ mit 0,4 N NaOH auf positiv geladene Nylon-Membran übertragen (Hybond N+, Amersham).

Bei den RFLP-Markern, die für „squash

dot“, „dot blot“ bzw. „Southern blot“-Experimente eingesetzt worden sind (BRINGEZU et al. 1997a), handelt es sich um repetitive Roggen-DNA-Klone (pSc.BS+.7200 und 7250; VERSHININ und KYNAST, unveröffentlicht), die zum subtelomeren Bereich des Roggenchromosomenarms Sequenzhomologie besitzen (SCHWARZACHER 1996). Für die „Southern“-Hybridisations-Experimente wurden die Inserts dieser Roggen-spezifischen DNA-Sequenzen nichtradioaktiv-markiert (ECL-Kit bzw. AlkPhos/CDP-Star-Kit der Firma Amersham). Die Hybridisationsstärke wurde mit NaCl auf ca. 85 % (MAINKOTH und WAHL 1984) eingestellt.

Die Identifizierung des Agropyronchromatins erfolgte in Anlehnung an THE et al. (1992) durch nichtradioaktive Hybridisation mit der RFLP-Sonde EleAcc2<sup>1</sup> (McINTYRE et al. 1988) bzw. den daraus abgeleiteten Subklonen Acc2C und Acc2D (BRINGEZU et al. 1998). Die Primer zur Entwicklung der SCAR-Marker (*Lr24*-Nachweis) wurden aus der DNA-Sequenz des Agropyron-DNA-Klons EleAcc2 sowie des Subklons Acc2C an Hand der von MCINTYRE et al. (1988) ermittelten DNS-Sequenz abgeleitet (ACC2P1 und ACC2P2 entsprechen dem Klon EleAcc2 und ACC2P1 und ACC2CP2 entsprechen dem Subklon Acc2C). Die Amplifikationsreaktion erfolgte in 25 µl Reaktionsvolumen. Die Reaktionsmischung enthielt 10 ng Gesamt-DNA, 1 U Red-Taq-DNA-Polymerase (Sigma), 1x Reaktionspuffer (10 mM Tris/HCl pH=8,3; 50 mM KCl; 1,1 mM MgCl<sub>2</sub> und 0,01% Gelatine), 100 nM von jedem SCAR-Primer und 20 µM dNTP-Mix (Peqlab). Die PCR-Prozedur wurde als „touch down“-PCR (DON et al. 1991) mit folgenden Programmschritten in einem PCR-Gerät der Firma „Eppendorf“ (Mastercycler gradient) durchgeführt: 2 min. bei 94°C, 13 Zyklen bestehend aus 15 sec. bei 94°C, 15 sec. bei 70°C mit 1°C Temperaturerniedrigung pro Zyklus und 30 sec. bei 72°C, 25 weitere Zyklen bestehend aus 15 sec. bei 94°C, 15 sec. bei 58°C und 30 sec. bei 72°C sowie einem Nachsyntheseschritt von 2 min. bei 72°C.

Die Primer für die übrigen Marker auf PCR-Basis wurden der Literatur entnommen und entsprechend den angegebenen PCR-Protokollen zur DNA-Amplifikati-

on eingesetzt (Polymerase und dNTP-Mix siehe SCAR für *Lr24*).

<sup>1</sup> Bezeichnung bei THE et al. (1992) Acc2p; für die Bereitstellung der Sonden danken wir Dr. Uwe HOHMANN, Botanisches Institut der Universität München

## Literatur

- BRINGEZU, T., U. VAHL and G. MÜLLER, 1997a: Detection of four IRS<sub>insave</sub>-wheat-rye translocations in doubled haploid winter wheat lines. In: Current Topics in Plant Cytogenetics Related to Plant Improvement, Proceedings of Internat. Symp. 1997 (ed. by T. Lelley), February 21-22, Tulln, Austria, 325-333
- BRINGEZU, T., G. MÜLLER and U. VAHL, 1997b: Advantages of marker assisted selection in prebreeding programs of winter wheat. In: Application of Marker Aided Selection in Cereal Breeding Programs. (Eucarpia Section Cereal Meeting 1997, September 22-23, Tulln, Austria, Book of Abstracts (ed. by H. Burstmayr & P. Ruckebauer), 41-43
- BRINGEZU, T., R.-G. KYNAST, U. VAHL and G. MÜLLER, 1998a: Wheat lines with a set of three disomic wheat-rye 1RS translocations from different rye origin. In: Proceedings of the 9<sup>th</sup> Intern. Wheat Genetic Symp. 1998 (compiled by A.E. Slinkard), Vol. 2, Section 1 - Cytogenetics and Evolution, August 2-7, Saskatoon, Saskatchewan, Canada 22-25
- BRINGEZU, T., U. VAHL and G. MÜLLER, 1998b: Markergestützte Selektion einer doppelhaploiden Winterweizen-Linie mit Vielfachresistenz. Vortr. Pflanzenzüchtg., **42**, 63-65
- DEDRYVER, F., M.-F. JUBIER, J. THOUVENIN and H. GOYEAU, 1996: Molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr24* in different wheat cultivars. *Genome*, **39**, 830-835
- DE FROIDMONT, D., 1998: A co-dominant marker for the 1BL/1RS wheat-rye translocation via multiplex PCR. *J. Cereal Science*, **27**, 229-232
- DEVOS, K.M., G.J. BRYAN, A.J. COLLINS, P. STEPHENSON and M.D. GALE, 1995: Application of two microsatellite sequences in wheat storage proteins as molecular markers. *Theor. Appl. Genet.* **90**, 247-252
- DON, R.H., 1991: „Touch down“ PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Res.* **19**, 4008
- GRAYBOSCH, R.A., J.-H. LEE, C.J. PETERSON, D.R. PORTER and O.K. CHUNG, 1999: Genetic, agronomic and quality comparisons of two 1AL.1RS wheat-rye-chromosomal translocations. *Plant Breed.*, **118**, 125-130
- HERNÁNDEZ, P., A. MARTIN and G. DORADO, 1999: Development of SCARs by direct sequencing of RAPD products: a practical tool for the introgression and marker-assisted selection of wheat. *Mol. Breed.*, **5**, 245-253
- IQBAL, M.J. and A.L. RAYBURN, 1995: Identification of the 1RS rye chromosomal segment in wheat by RAPD analysis. *Theor. Appl. Genet.*, **91**, 1048-1053
- JIANG, J., B. FRIEBE and B.S. GILL, 1994: Chromosome painting of Amigo wheat. *Theor. Appl. Genet.*, **89**, 811-813
- McINTYRE, C.L., B.C. CLARKE and R. APPELS, 1988: Amplification and dispersion of repeated DNA sequences in the *Triticeae*. **160**, 39-59
- MAINKOTH, J. and G. WAHL, 1984: Hybridization of nucleic acids immobilized on solid supports. *Anal. Biochem.* **138**, 267-284
- MÜLLER, G. und U. VAHL, 1993: Biochemische Charakterisierung von Antherenkulturnachkommenschaften als Vorselektionsmethode zur Verbesserung der Backqualität von Weizen. Ber. 44. Arbeitstagung Vereinigung österr. Pflanzenzüchter, Gumpenstein Nov. 1993, S. 89-97
- MÜLLER, G., T. BRINGEZU, M. PRÖSELER und U. VAHL, 1994: Nutzung der Antherenkultur für eine schnellere Realisierung spezieller Zuchtziele beim Weizen. Vortr. Pflanzenzüchtung **28**, 159-161.
- MÜLLER, G., U. VAHL, T. BRINGEZU, A. THIELE und G. KRATZSCH, 1995: Charakterisierung der Antherenkulturnachkommenschaft einer Winterweizen-F<sub>1</sub>-Population hinsichtlich Resistenz und Qualität. Ber. 46. Arbeitstagung Vereinig. österr. Pflanzenzüchter, BAL Gumpenstein 21.-23. Nov., S. 89-99
- MÜLLER, G., U. VAHL, T. BRINGEZU, G. KRATZSCH. and B. LEITHOLD, 1997: New wheat lines produced via anther culture and marker aided selection. Application of Marker Aided Selection in Cereal Breeding Programs (Eucarpia Section Cereal Meeting 1997, September 22-23, Tulln, Austria, Book of Abstracts (ed. by H. Burstmayr & P. Ruckebauer), 43-45
- MÜLLER, G. und U. VAHL, 1997: A doubled haploid line of winter wheat with simultaneous 1AL.1RS wheat-rye translocation and 1R wheat-rye substitution. In: Current Topics in Plant Cytogenetics Related to Plant Improvement. Proceedings of Internat. Symp. 1997 (ed. by T. Lelley), February 21-22, Tulln, Austria, 342-348
- MÜLLER, G., T. BRINGEZU und U. VAHL, 1998: Nutzung der Antherenkultur zur Erstellung doppelhaploider Dinkelweizen mit unterschiedlicher Weizen-Roggen-Translokation. Vortr. Pflanzenzüchtg., **42**, 75-77
- MÜLLER, G., U. VAHL und T. BRINGEZU, unveröffentlicht: Neue doppelhaploide Weizenlinien mit 1BS.1RL-Weizen-Roggen-Translokation. Poster auf der 6. Arbeitstagung der GPZ-AG Cytogenetik/Chromosomenanalyse im IPK Gatersleben am 25/26. Jan. 1999
- ORDON, F., A. SCHIEMANN, K. SCHEUER, B. PELLIO, V. DAUCK, E. BAUER, J. WEYEN, W. FRIEDT und A. GRANER, 1998: Einsatz molekularer Marker in der Virusresistenzzüchtung bei der Gerste. Vortr. Pflanzenzüchtung, **43**, 49-62
- OLSON, M., L. HOOD, C.H. CANTOR and D. BOTSTEIN, 1989: A common language for physical mapping of the human genome. *Science*, **24**, 1434-1435
- PARAN, I. and R.W. MICHELMORE, 1993: Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theor. Appl. Genet.*, **85**, 985-993
- PORTER, D.R., J.A. WEBSTER and B. FRIEBE, 1994: Inheritance of greenbug biotype G resistance in wheat. *Crop Sci.*, **34**, 625-628
- RÖDER, M.S., V. KORZUN, K. WENDEHAKKE, J. PLASCHKE, M.-H. TIXIER, P. LEROY and M.W. GANAL, 1998: A microsatellite map of wheat. *Genetics*, **149**, 2007-2023
- SCHACHERMAYR, G.M., M.M. MESSMER, C. FEUILLET, H. WINZELER, M. WINZELER and B. KELLER, 1995: Identification of molecular markers linked to the *Agropyron elongatum*-derived leaf rust resistance gene *Lr24* in wheat. *Theor. Appl. Genet.*, **90**, 982-990
- SHARP, P.J., M. KREIS, P.R. SHEWRY and M.D. GALE, 1988: Location of  $\beta$ -amylase sequences in wheat and its relatives. *Theor. Appl. Genet.*, **75**, 286-290
- SCHWARZACHER, T., 1996: The physical organization of Triticeae chromosomes. *Symp. Soc. Exp. Biol. No.: L (Unifying Plant Genomes)*, 71-75
- SIBIKEEV, S.N., V.A. KRUPNOV, S.A. VORONINA and V.A. ELESIN, 1996: First report of leaf rust pathotypes virulent to highly effective *Lr*-genes transferred from *Agropyron* species to bread wheat. *Plant Breed.* **115**, 276-278
- THE, T.T., R.B. GUPTA, P.L. DYCK, R. APPELS, U. HOHMANN and R.A. McINTOSH, 1992: Characterization of stem rust resistant derivatives of wheat cultivar Amigo. *Euphytica*, **58**, 245-252
- VAHL, U., G. MÜLLER and T. BÖHME, 1993: Electrophoretic protein analysis for identification of doubled haploid 1A-1R, 1B-1R wheat-rye double translocation lines and for the assessment of their genetic stability. *Theor. Appl. Genet.* **86**, 547-556
- VAHL, U. and G. MÜLLER, 1997: Hitherto used biochemical markers in prebreeding programs of winter wheat. Application of Marker Aided Selection in Cereal Breeding Programs (Eucarpia Section Cereal Meeting 1997, September 22-23, Tulln, Austria, Book of Abstracts, p. 38-40
- VAHL, U. and G. MÜLLER, 1998: Nachweis von *Aegilops Turcomanica*-Genen in Winterweizen-Zuchtmaterial mittels Protein-Marker. 49. Arbeitstagung Vereinig. österr. Pflanzenzüchter, BAL Gumpenstein 24.-26. Nov. 1998, 89-99
- VAHL, U., T. BRINGEZU und G. MÜLLER, 1998: Einsatz von Haploidentechnik und biochemischen Markern bei der Einlagerung der IRS<sub>insave</sub>-Translokation in Backweizen. Vortr. Pflanzenzüchtg., **42**, 81-83
- VAN CAMPENHOUT, S., J. VAN DER STAPPEN, L. SAGI and G. VOLKAERT, 1995: Locus-specific primers for LMW glutenin genes on each of the group 1 chromosomes of hexaploid wheat. *Theor. Appl. Genet.*, **91**, 313-319
- VAN CAMPENHOUT, S., R. AERT and G. VOLKAERT, 1998: Orthologous DNA sequence variation among 5S ribosomal RNA gene spacer sequences on homoeologous chromosomes 1B, 1D, and 1R of wheat and rye. *Genome*, **41**, 244-255

## Danksagung

Diese Forschungsarbeit wurde durch das Kultusministerium des Landes Sachsen-Anhalt gefördert.

