

Quantifizierung des Befalls von *Oculimacula acuformis* und *O. yallundae* als Grundlage zur Entwicklung molekularer Marker für Resistenzgene gegenüber der Halmbruchkrankheit bei *Triticum aestivum*

N. MEYER, P. KARLOVSKY, M. ZAHN, V. LIND, I. KRÄMER und F. ORDON

Der parasitäre Halmbruch, hervorgerufen durch den Erreger *Oculimacula yallundae* (syn. *Tapesia yallundae*, anamorph: *Pseudocercospora herpotrichoides* var. *herpotrichoides*) (PHH) und *O. acuformis* (syn. *T. acuformis*, anamorph: *P. herpotrichoides* var. *acuformis*) (PHA) (CROUS et al., 2003), führt zu erheblichen Ertragsverlusten im Weizenanbau. Aufgrund enger Fruchtfolgen und dem Trend zu reduzierter Bodenbearbeitung und frühen Herbstsaaten ist von einer weiteren Ausbreitung dieser Krankheit auszugehen, so dass der Züchtung resistenter Sorten eine besondere Bedeutung zukommt. Im Rahmen dieser Resistenzzüchtung wird momentan im wesentlichen das Resistenzgen *Pch1* genutzt, da andere Resistenzgene wie z.B. *Pch2*, *Pch3* und eine Resistenz aus *Ae. kotschyi* phänotypisch nur schwer nachweisbar sind. Die Entwicklung geeigneter molekularer Marker zur gezielten Pyramidisierung dieser Resistenzgene wäre von erheblichem Vorteil. Grundlage der Markerentwicklung ist eine eindeutige Phänotypisierung der resistenten und anfälligen Pflanzen. Da der Erreger *Oculimacula* durch die Blattscheiden bis in die Halmbasis vordringt, kann der Quotient aus Pilz-DNA zur Gesamt-DNA im Pflanzenmaterial der Stängelbasis als geeignetes Maß für die Befallsstärke dienen.

Unter Verwendung spezifischer Primer (NICHOLSON et al. 1997) wurden zunächst verschiedene am Institut vorhandene *Oculimacula*-Isolate identifiziert und der Art *O. yallundae* (PHH) bzw. *O. acuformis* (PHA) zugeordnet.

Basierend auf diesen Daten wurden als Standard-Isolate für die Quantifizierung mittels Real-Time PCR die Isolate PHH28 und PHA68 ausgewählt. Die DNA dieser Isolate wurde aus Myzel von PDA-Kulturen eine Woche nach der Beimpfung mit einer modifizierten CTAB-Methode extrahiert und ihre Konzentration densitometrisch bestimmt. Als Basis für die Entwicklung von artspezifischen Primern zur Pathogendifferenzierung und -quantifizierung diente die ITS1-Sequenz (POUPARD et al. 1993; NCBI-Nr.: AY713294). Die Untersuchungen wurden im 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems) bzw. mit dem iCycler System (BioRad) unter Verwendung von SybrGreen durchgeführt.

Nach den bisherigen Ergebnissen kann die Nachweisgrenze beider Assays auf 10^{-13} g festgelegt werden. Beide Assays sind nicht isolat- sondern artspezifisch. Es liegen keine Kreuzreaktionen oberhalb der Nachweisgrenze mit gängigen Erregern im Weizen (*Rhizoctonia cerealis*, *Microdochium nivale* var. *nivale*,

Drechslera sorokiniana, u.a.) vor. Weiterhin zeigten beide Assays eine hohe Reproduzierbarkeit. Nachdem somit ein Verfahren zur schnellen und sicheren Quantifizierung von *O. yallundae* und *O. acuformis* vorliegt, gilt es zu prüfen in wie fern die mittels Real-Time PCR erzielten Ergebnisse mit visuellen Boniturergebnissen übereinstimmen.

Basierend auf diesem Verfahren werden in einem nächsten Schritt DH-Linien aus Kreuzungen von Resistenzträgern (*Pch2*, *Ae. kotschyi*) mit einem anfälligen Elter phänotypisiert und unter Verwendung der BSA (Bulked Segregant Analysis) die gezielte Suche nach geeigneten Markern für die Resistenzgene *Pch2* und *Ae. kotschyi* begonnen.

Literatur

- CROUS, P.W., J.Z. GROENEWALD and W. GAMS, 2003: Eyespot of cereals revisited: ITS phylogeny reveals new species relationships. *Phytopathology* 85: 918-927.
- POUPARD, P., P. SIMONET, N. CAVELIER and R. BARDIN, 1993: Molecular characterisation of *Pseudocercospora herpotrichoides* isolates by amplification of ribosomal DNA internal transcribed spacers. *Plant Pathology* 42: 873-881.
- NICHOLSON, P., H.N. REZANOOR, D.R. SIMPSON and D. JOYCE 1997: Differentiation and quantification of the cereal eyespot fungi *Tapesia yallundae* and *Tapesia acuformis* using a PCR assay. *Plant Pathology* 46: 842-856.

Autoren: M.Sc. Nina MEYER, Dr. Marc ZAHN, Dr. Volker LIND, Dr. Ilona KRÄMER und Dir. Prof. PD Dr. Frank ORDON, Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Resistenzressourcen, Erwin-Baur-Straße 27, D-06484 QUEDLINBURG; Prof. Dr. Petr KARLOVSKY, Abteilung Molekulare Phytopathologie und Mykotoxinforschung, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Georg-August-Universität Göttingen, Grisebachstraße 6, D-37077 GÖTTINGEN, www.gwdg.de/~instphyt/karloovsky

