

Die Genetik der Fusariumresistenz in europäischem Winterweizen

Jennifer Häberle¹, Josef Holzapfel¹ und Lorenz Hartl^{1*}

Abstract

The analysis of four mapping populations segregating at the *Rht-D1* locus together with previous studies in UK winter wheat revealed that the semi-dwarfing allele *Rht-D1b* seems to be the major source for FHB susceptibility in European winter wheat. Beside this major QTL at the *Rht-D1* locus, FHB resistance in winter wheat is based on a higher number of QTL (4-10) with small to moderate effects depending on the genetic background and environment.

A comparison considering already published results from European winter wheat resulted in 27 regions repeatedly associated with FHB resistance. This indicates that FHB resistance is inherited in a complex manner by partially similar genes with varying effects and that even QTL with smaller effects can be identified reliably. In addition to *Rht-D1*, further important QTL (*Qfhs.lfl-1BL*, *Qfhs.lfl-6AL*, *Qfhs.lfl-7BS*) were identified mapping to clusters of loci involved in FHB resistance. The verification of these QTL in a more homogeneous genetic background revealed a relative reduction of FHB severity between 27% and 42%. Furthermore, their importance for a good FHB resistance level is highlighted by the fact that the most resistant genotypes carried at least one of the mentioned resistance alleles.

Keywords: Fusarium head blight, QTL, resistance, *Triticum aestivum*, wheat

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. Aufgrund der limitierten genetischen Diversität im europäischen Genpool wird angenommen, dass die Fusariumresistenz zumindest teilweise auf denselben Resistenzloci beruht.

Mittels molekularer Markeranalyse kann eine Aussage über die Resistenzen unterschiedlicher Genotypen gemacht werden. Ziele der vorliegenden Studie waren (1) die Positionen von Resistenz-QTL verschiedener Winterweizensorten untereinander und mit bisher publizierten Studien zu vergleichen (2) den Einfluss des Kurzstrohgens *Rht-D1b* auf den Befall mit Ährenfusariosen in vier Kartierungspopulationen zu ermitteln und (3) die Effekte ausgewählter Resistenz-QTL in einem homogeneren genetischen Hintergrund zu überprüfen.

Material und Methoden

Für die Erstellung der vier Kartierungspopulationen wurden jeweils die resistenten Sorten Apache, History, Romanus und Solitär (alle Träger des *Rht-D1a*-Allels) mit den anfälligen halbverzweigten (*Rht-D1b*-Allel) Sorten Biscay, Rubens, Pirat und Travix gekreuzt. Die Populationen bestanden jeweils aus 103-216 RILs und wurden in den Jahren 2005 und 2006 an vier bis fünf Standorten nach Sprühhinokulation mit *F. culmorum* evaluiert. Die Erfassung der phänotypischen Daten, die Genotypisierung sowie die QTL-Analyse für die Merkmale Fusariumbefall, Wuchshöhe und den Zeitpunkt des Ährenschiebens wurden bereits von VOSS et al. (2008) und HOLZAPFEL et al. (2008a und 2008b) beschrieben. Im Falle einer eindeutigen Überlappung der ermittelten 95%-igen Vertrauensintervalle wurde von einer Übereinstimmung der QTL ausgegangen. Zusätzlich wurden alle publizierten QTL für den Vergleich mit einbezogen, deren wahrscheinlichste Position (ermittelt anhand des angegebenen Markerintervalls bzw. der LOD-Kurve) mit den QTL-Konfidenzintervallen in den hier untersuchten Populationen überlappte. Dabei wurden QTL für folgende Merkmale, die mit der Fusariumresistenz in Verbindung stehen, aus den publizierten Studien berücksichtigt: Typ I Eindringungsresistenz, Typ II Ausbreitungsresistenz, kombinierte Typ I+II Resistenz, DON-Resistenz, relatives Ährchengewicht von infizierten gegenüber Kontrollähren, Gehalt an pilzlicher DNA und Blütenöffnungswinkel.

Um die in der Dream/Lynx-Kartierungspopulationen detektierten Resistenz-QTL auf den Chromosomen 6AL und 7BS (SCHMOLKE et al. 2005) zu validieren, wurden Linien mit einem relativ homogenen genetischen Hintergrund mittels Rückkreuzungs- und Selbstungsgenerationen markergestützt entwickelt (HÄBERLE et al. 2007). Resistenzdonoren waren dabei zwei resistente F4-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 an drei Standorten im Feld geprüft wurden, befanden sich in der BC₂S_{2,3}-Generation.

Um den phänotypischen Effekt des von Cansas stammenden Resistenz-QTL *Qfhs.lfl-1BL* in einem homogeneren genetischen Hintergrund abschätzen zu können, wurden Nachkommen von vier F_{4,7}-Linien der ursprünglichen Cansas/Ritmo-Kartierungspopulation (KLAHR et al. 2007) selektiert und vermehrt, die bezüglich dieses Haupt-QTL noch spalteten. Insgesamt wurden 2007 und 2008 90 ausgewählte Linien in 4 Umwelten nach Sprühhinokulation mit *F. culmorum* geprüft. Eine QTL Meta-Analyse für die

¹ Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 8, D-85354 FREISING

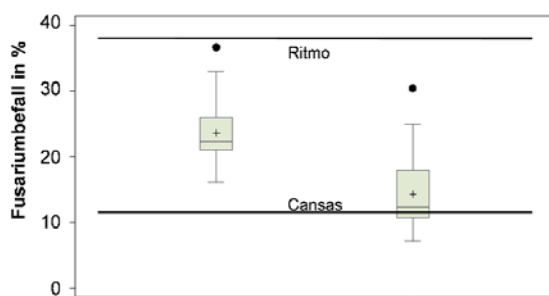
* Ansprechpartner: Dr. Lorenz HARTL, lorenz.hartl@lfl.bayern.de

integrierte Karte von Chromosom 1BL wurde mit dem Programm BioMERCATOR Version 2.1 durchgeführt (ARCADE et al. 2004).

Alle Feldversuche waren als Gitteranlage angelegt, deren Auswertung mit Plabstat Version 2P (Utz 2001) erfolgte. Weitere statistische Analysen wurden mit SAS Version 9.1 (SAS Institut Inc. 2004) durchgeführt.

Ergebnisse und Diskussion

In der Apache/Biscay-Population konnten insgesamt 13 signifikante ($P < 0,001$) Resistenz-QTL gegen Ährenfusarium identifiziert werden, in der History/Rubens-Population 8, in der Romanus/Pirat-Population 14 und in der Solitär/Travix-Population 18 (HOLZAPFEL et al. 2008a und 2008b). Der QTL mit dem größten Effekt wurde in allen vier Populationen beim *Rht-D1*-Locus gefunden. Die Donoren des QTL waren dabei jeweils die Träger des Wildtypallels *Rht-D1a* (Apache, History, Romanus, Solitär). Der QTL führte je nach Population zu einer relativen Befallsreduktion zwischen 14,2% und 31,5% bei gleichzeitiger Verlängerung der Halmlänge um 5,7-17,1 cm. Der negative Effekt des Kurzstrohgens *Rht-D1b* auf die Fusariumresistenz wurde auch schon in anderen Winterweizenpopulationen beobachtet (DRAEGER et al. 2007, SRINIVASACHARY et al. 2008). Auch in den Populationen Dream (*Rht-D1a*)/Lynx (*Rht-D1b*), G16-92 (*Rht-D1a*)/Hussar (*Rht-D1b*) und Cansas (*Rht-D1a*)/Ritmo (*Rht-D1b*) konnte jeweils ein Haupt-QTL am *Rht-D1*-Locus identifiziert werden. Der negative Effekt von *Rht-D1b* auf die Fusariumresistenz könnte auf der gleichzeitigen Vererbung eng gekoppelter „schädlicher“ Gene beruhen oder auf Pleiotropie. Das Protein, das von *Rht-D1* codiert wird, ist ein Ortholog von GAI (Gibberellin Acid Insensitive) aus *A. thaliana* mit einer sogenannten



<i>Qfhs.lfl-1BL</i>	A	R
Fusariumbefall in %	24 ^a	14 ^b
Effekt (rel.) in %	-	42
Wuchshöhe in cm	96	99
Zeitpunkt des Ährenschiebens in Tagen ab 1. Jan	153 ^a	154 ^b
Anzahl Linien	29	61

Abbildung 1: Boxplot-Verteilung der für die QTL-Verifikation selektierten 90 Genotypen nach Sprühinokulation mit *F. culmorum* - aufgeteilt nach den beiden Markerklassen mit dem anfälligen (A) bzw. resistenten (R) Allel von *Qfhs.lfl-1BL*. Die 90 Genotypen gehen zurück auf vier bezüglich *Qfhs.lfl-1BL* heterozygote F_{4,7}-Linien der ursprünglichen Cansas/Ritmo-Kartierungspopulation (KLAHR et al. 2007). Die Daten basieren auf den Mittelwerten über vier Umwelten der Jahre 2007 und 2008. Durchgezogene Linie: Median, +: Mittelwerte. Verschiedene Buchstaben weisen auf signifikante Unterschiede nach einem Scheffé-Test hin ($P < 0,05$).

DELLA-Domäne (HEDDEN 2003). Aufgrund der Eigenschaften dieses Proteins scheinen pleiotrope Effekte von *Rht-D1b* auf die Fusariumresistenz wahrscheinlich.

Der Vergleich von QTL-Positionen der vier Winterweizenpopulationen sowohl untereinander als auch mit bisher publizierten Studien ergab neben der *Rht-D1*-Region 26 weitere Genomregionen, die wiederholt mit Fusariumresistenz assoziiert wurden. Bezieht man in die Vergleiche auch Studien aus dem Sommerweizen mit ein konnten sogar 32 „QTL-Cluster“ identifiziert werden. Trotz variierender QTL-Effekte in verschiedenen Umwelten bzw. Populationen konnte für eine Vielzahl von QTL Übereinstimmungen gefunden werden. Dies zeigt, dass die Fusariumresistenz zwar sehr komplex, aber oft durch gleiche Genomregionen mit variierenden Effekten vererbt wird und dass selbst QTL mit kleineren Effekten zuverlässig detektiert werden können.

Das Konfidenzintervall des Haupt-QTL (jetzt *Qfhs.lfl-1BL*) aus der Cansas/Ritmo-Population (KLAHR et al. 2007) überlappte mit QTL, die auch in den Populationen Apache/Biscay, History/Rubens und Romanus/Pirat identifiziert werden konnten und dort je nach Population und Umwelt zwischen 1% und 14% der phänotypischen Varianz erklärten (HOLZAPFEL et al. 2008a). Der Effekt des QTL kam dabei je nach Kreuzung vom resistenten (Cansas, History) oder vom anfälligen (Biscay, Pirat) Elter. Der AFLP-Markerlocus *XP6451-190* kartierte in allen vier genannten Populationen auf den langen Arm von Chromosom 1BL und lag dabei immer innerhalb des QTL-Vertrauensintervalls. Er zeichnete sich außerdem durch eine gleichbleibende Phase aus: bei Genotypen mit Resistenzallel fehlte das entsprechende Markerfragment. Eine nachfolgende Meta-Analyse mit der integrierten Karte von Chromosom 1BL bestätigte, dass es sich bei dem in den Sorten Biscay, Cansas, History und Pirat identifizierten QTL tatsächlich um denselben QTL handelte.

In den zur QTL-Verifikation erstellten Linien mit homogenerem genetischem Hintergrund führte das Resistenzallel des QTL *Qfhs.lfl-1BL* sogar zu einer relativen Befallsreduktion von 42% im Vergleich zur anfälligen Markerklasse ohne Resistenzallel (Abbildung 1). Dabei hatte der QTL keinen Effekt auf die Wuchshöhe, jedoch verzögerte er den Zeitpunkt des Ährenschiebens signifikant ($P < 0,05$) um einen Tag. Dass es sich hierbei um einen wichtigen Genort für die Fusariumresistenz handelt, zeigte sich auch dadurch, dass alle Linien mit geringem Befallsniveau den QTL aufwiesen (Abbildung 1). Ohne diesen QTL erreichte keine Linie einen Befall unter 15%.

Weitere interessante Genombereiche, die wiederholt mit der Fusariumresistenz assoziiert waren, befanden sich auf den Chromosomen 6AL und 7BS. Auf Chromosom 6AL konnten in den Populationen Dream/Lynx (SCHMOLKE et al. 2005), Apache/Biscay (HOLZAPFEL et al. 2008a), Spark/Rialto (SRINIVASACHARY et al. 2008) und ND2603/Butte86 (ANDERSON et al. 2001) überlappende QTL gefunden werden. In dem QTL-Cluster auf Chromosom 7BS überlappten QTL, die von Dream (SCHMOLKE et al. 2005) und Cansas (KLAHR et al. 2007) sowie den beiden asiatischen Sommerweizen Wangshuibai (JIA et al. 2005) und Ning7840 (GUPTA et al. 2000) stammten.

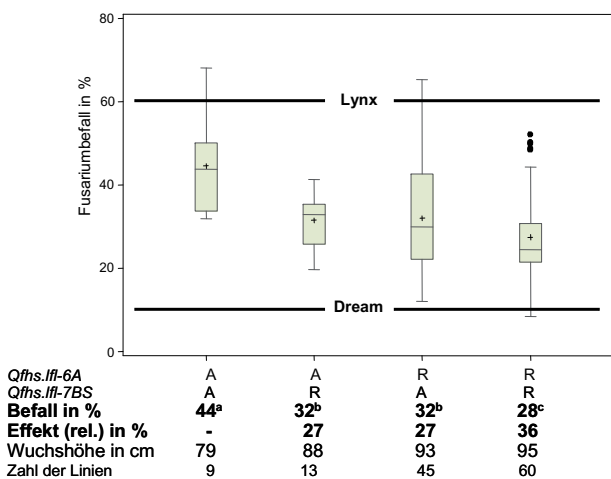


Abbildung 2: Boxplot-Verteilungen der für die QTL-Verifikation erstellten BC₂S_{2,3}-Linien (Dream/Lynx*4) nach Sprühinokulation mit *F. culmorum* - aufgeteilt nach den vier Markerklassen mit den anfälligen (A) und/oder den resistenten (R) Allelen der QTL *Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS*. Die Daten basieren auf den Mittelwerten über drei Umwelten 2005. Durchgezogene Linien: Median, +: Mittelwerte. Verschiedene Buchstaben weisen auf signifikante Unterschiede nach einem Scheffé-Test hin ($P < 0,05$).

Die QTL-Validierung bestätigte die signifikanten Effekte der beiden von Dream kommenden Haupt-QTL auf den Chromosomen 6AL und 7BS in BC₂S_{2,3}-Rückkreuzungslinien (Dream/Lynx*4) (HÄBERLE et al. 2007). *Qfhs.lfl-6AL* und *Qfhs.lfl-7BS* führten jeweils zu einer relativen Befallsreduktion von 27% im Vergleich zur anfälligen Markerklasse ohne Resistenzallele, beide QTL in Kombination reduzierten den relativen Befall um 36% (Abbildung 2). Beide QTL hatten außerdem 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. Bezüglich dem Zeitpunkt des Ährenschiebens konnte kein Unterschied zwischen den vier Markerklassen gefunden werden. Die Ergebnisse der QTL-Validierung im rekurrenten Elter bestätigten 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, obwohl mit diesem bei der Entwicklung der Linien für die QTL-Validierung drei mal gekreuzt wurde.

Literatur

ANDERSON, J.A., R.W. STACK, S. LIU, B.L. WALDRON, A.D. FJELD, C. COYNE, B. MORENO-SEVILLA, J.M. FETCH, Q.J. SONG, P.B. CREGAN and R.C. FROHBERG, 2001: DNA markers for Fusarium

head blight resistance QTLs in two wheat populations. *Theor Appl Genet* 102:1164-1168.

ARCADE, A., A. LABOURDETTE, M. FALQUE, B. MANGIN, F. CHARDON, A. CHARCOSSET and J. JOETS, 2004: BioMercator: integrating genetic maps and QTL towards discovery of candidate genes. *Bioinformatics* 20:2324-2326.

DRAEGER, R., N. GOSMAN, A. STEED, E. CHANDLER, M. THOMSETT, SRINIVASACHARY, J. SCHONDELMAIER, H. BUERSTMAYR, M. LEMMENS, M. SCHMOLKE, A. MESTERHAZY and P. NICHOLSON, 2007: Identification of QTLs for resistance to Fusarium head blight, DON accumulation and associated traits in the winter wheat variety Arina. *Theor Appl Genet* 115:617-625.

GUPTA, A.E., P.E. LIPPS and K.G. CAMPBELL, 2000: Finding quantitative trait locus associated with Fusarium head blight of wheat using simple sequence repeat markers. *Proceedings of the 2000 National Fusarium Head Blight Forum*, Erlanger:28-32.

HÄBERLE, J., M. SCHMOLKE, G. SCHWEIZER, V. KORZUN, E. EBMAYER, G. ZIMMERMANN and L. HARTL, 2007: Effects of two major Fusarium head blight resistance QTL verified in a winter wheat backcross population. *Crop Sci* 47:1823-1831.

HEDDEN, P., 2003: The genes of the Green Revolution. *Trends Genet* 19:5-9.

HOLZAPFEL, J., H.-H. VOSS, T. MIEDANER, V. KORZUN, J. HÄBERLE, G. SCHWEIZER, V. MOHLER, G. ZIMMERMANN and L. HARTL, 2008a: Inheritance of resistance to Fusarium head blight in three European winter wheat populations. *Theor Appl Genet* 117, 1119-1128.

HOLZAPFEL, J., V. MOHLER, J. HÄBERLE, G. SCHWEIZER, T. MIEDANER, H.-H. VOSS, V. KORZUN and L. HARTL, 2008b: Genome distribution of QTL for Fusarium head blight resistance in European wheat germplasm. *The 11th International Wheat Genetics Symposium proceedings in Brisbane, Qld, Australia, 24-29 August*, P140.

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.

KLAAH, A., G. ZIMMERMANN, G. WENZEL and V. MOHLER, 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.

SAS Institute Inc. (2004) SAS OnlineDoc® 9.1.2. SAS Institute Inc., Cary.

SCHMOLKE, M., G. ZIMMERMANN, H. BUERSTMAYR, G. SCHWEIZER, T. MIEDANER, V. KORZUN, E. EBMAYER and L. HARTL, 2005: Molecular mapping of Fusarium head blight resistance in the winter wheat population Dream/Lynx. *Theor Appl Genet* 111:747-756.

SRINIVASACHARY, N. GOSMAN, A. STEED, J. SIMMONDS, M. LEVERINGTON-WAITE, Y. WANG, J. SNAPE and P. NICHOLSON, 2008: Susceptibility to Fusarium head blight is associated with the *Rht-D1b* semi-dwarfing allele in wheat. *Theor Appl Genet* 116:1145-1153.

UTZ, H.F., 2001: PLABSTAT: a computer program for statistical analysis of plant breeding experiments. Version 2P. Institute of Plant Breeding, Seed Science and Population Genetics, University of Hohenheim, Germany.

VOSS, H.-H., J. HOLZAPFEL, L. HARTL, V. KORZUN, F. RABENSTEIN, E. EBMAYER, H. COESTER, H. KEMPF and T. MIEDANER, 2008: Effect of the *Rht-D1* dwarfing locus on Fusarium head blight rating in three segregating populations of winter wheat. *Plant Breed* 127:333-339.

Danksagung

Für die Unterstützung und die Betreuung von Versuchsfeldern möchten wir der DSV (Deutsche Saatveredelung), der KWS Lochow GmbH, der Landessaatzuchtanstalt der Universität Hohenheim, R.A.G.T., der Saatzucht Breun, Saatzucht Schweiger sowie der W.v. Borries-Eckendorf GmbH danken. Für die ausgezeichnete technische Assistenz möchten wir uns insbesondere bei P. GREIM, L. LOGOTHETIS, E. MADGE und S. SCHMIDT bedanken sowie

bei allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppen Genomanalyse und Weizen. Die Projekte wurden vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) und dem EUREKA Konsortium (Projektnr. 2386), dem Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz und der Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e. V. (GFP) (Projektnr. 04HS015), sowie dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) im Rahmen des GABI-Kanada-Projekts (Subprojekt C Nr. 0313711C) gefördert.