

# Abschlussbericht

|   |   |
|---|---|
| <b>Zuwendungsempfänger:</b><br>Technische Universität München   | <b>Förderkennzeichen:</b><br>2814302107 |
| <b>Vorhabenbezeichnung:</b><br>Charakterisierung von Resistenzquellen gegen das Soil-borne cereal mosaic virus - SBCMV und das Wheat spindle streak mosaic virus – WSSMV in genetischen Ressourcen von Roggen sowie deren Nutzung für die Züchtung virusresistenter Sorten<br><br>Teilprojekt 3: Molekulargenetische Identifizierung der Virusresistenz und Erstellung molekularer Marker für die Resistenzzüchtung |   |
| <b>Laufzeit des Vorhabens:</b> 01.04.2008 – 31.07.2011  |   |
| <b>Berichtszeitraum:</b> 01.04.2008 – 31.07.2011  |   |

## I. Kurzdarstellung des Forschungsvorhabens

### 1. Aufgabenstellung

Das Forschungsvorhaben stellte sich das Ziel, vorevaluierte Resistenzquellen in Roggen gegen bodenbürtige Viren (Soil-borne cereal mosaic virus - SBCMV und Wheat spindle streak mosaic virus - WSSMV) im Detail zu charakterisieren und sie für die Entwicklung von Elitematerial zu erschließen. Im Rahmen des Projektes sollten bei den Projektpartnern JKI und KWS LOCHOW GMBH Resistenzprüfmethoden und Virusnachweis unter kontrollierten Bedingungen in den Zuchtbetrieben verbessert und gezielte Materialkreuzungen erstellt werden. Der Wissenschaftspartner vom JKI übernahm die Aufgaben der Evaluierung genetischer Roggenressourcen auf Virusresistenz und die Charakterisierung von Pathogenpopulationen hinsichtlich deren Einflusses auf die Resistenzreaktionen von Roggenformen. Der Wissenschaftspartner von der TUM übernahm die Aufgabe, für die Virusresistenz relevante Genombereiche zu identifizieren und gekoppelte Marker in spaltenden Nachkommenschaften zu kartieren und für die markergestützte Selektion bereitzustellen.

### 2. Voraussetzungen

Resistenzen gegen bodenbürtige Viren waren in den Roggensortimenten und im aktuellen deutschen Zuchtmaterial nicht bekannt. Aus diesem Grund wurden seit 2002 in Zusammenarbeit zwischen dem Institut für Resistenzforschung und Pathogendiagnostik (IRP) der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen (BAZ) und den Zuchtbetrieben HYBRO GmbH und Lochow- Petkus GmbH Untersuchungen zur Epidemiologie an Roggen und zur Entwicklung von Infektions- und Selektionsmethoden für die Evaluierung genetischer Roggenressourcen mit Virusresistenz (InnoPlanta-Projekt FKZ 0310645 A, 01. 10. 2004 bis 30. 06. 2006) durchgeführt. In einem weiteren Projekt zur Identifizierung von Resistenzquellen und zur Untersuchung der Genetik der Resistenz 2 gegen bodenbürtige Viren in Roggen und Triticale (01HS067 bzw. G01/04HS) in aktuellem Zuchtmaterial kooperierten die Projektpartner mit der Arbeitsgruppe Biotechnologie der Landessaatzuchtanstalt der

Universität Hohenheim. Im Rahmen der Kooperation zwischen dem BAZ-IRP und den Zuchtbetrieben Lochow-Petkus GmbH und HYBRO GmbH wurden erstmals Resistenzquellen in Zuchtmaterial und verschiedenen Sammlungspopulationen von Roggenherkünften nachgewiesen. Aus Vollgeschwisterfamilien bzw. aus spaltenden F<sub>2</sub>-Populationen hervorgegangene Nachkommenschaften mit Virusresistenz konnten vermehrt werden, welche für die weitere Resistenzzüchtung und die Ziele des Forschungsvorhabens zur Verfügung standen.

Zu Projektbeginn gab es keine Erkenntnisse zu Majorgenen oder QTL für Virusresistenz in Roggen. Auch der Vererbungsmodus der oben beschriebenen Resistenzquellen war unbekannt. Für die molekularen Analysen standen rund 100 Mikrosatellitenmarker (SSRs) sowie weitere SSRs aus Weizen zur Verfügung, die teilweise öffentlich verfügbar waren oder vom Projektpartner KWS-LOCHOW GMBH zur Verfügung gestellt wurden.

### **3. Planung und Ablauf**

#### *Teilprojekt 3: Molekulargenetische Identifizierung der Virusresistenz und Erstellung molekularer Marker für die Resistenzzüchtung (Projektpartner Technische Universität München)*

Der Projektpartner TUM sollte anhand der phänotypischen Daten aus spaltenden Nachkommenschaften die molekulargenetische Identifizierung der für die Virusresistenz relevanten Genombereiche mit Hilfe der Bulk Segregant Analyse (BSA; Michelmore et al. 1991) durchführen. Für die Markeranalysen standen Mikrosatelliten-Marker aus den Genomen von Roggen und anderen Triticeen (v.a. Weizen) zur Verfügung. Die Analyse der SSR-Marker erfolgte auf DNA-Sequencern, um eine gute Differenzierung der Markerallele zu erreichen. Da einige Genomregionen mit SSR-Markern nicht ausreichend abgedeckt werden konnten wurden zusätzlich AFLP-Analysen durchgeführt. Außerdem stellte der Projektpartner KWS-LOCHOW für zwei Populationen in der F<sub>3</sub> Generation SNP-Markerdaten zur Verfügung. Die statistische Auswertung der Daten erfolgt mit Standardsoftware (Excel) bzw. für die Kartierung mit JoinMap und PlabQTL / MapQTL.

Ziel der Arbeiten war die Erstellung von Kopplungskarten für drei spaltenden Nachkommenschaften in den Generationen F<sub>3</sub> und F<sub>5</sub>. Nach den Analysen der phänotypischen Daten aus den ersten Versuchsjahren zeichnete sich ab, dass die Vererbung der Virusresistenz keinem monogenen Erbgang folgte und daher mit oligo- oder polygener Vererbung auszugehen war. Aus diesem Grund wurde keine BSA durchgeführt, da keine eindeutige Klassifizierung der Nachkommen in resistent und anfällig zur Zusammenstellung phänotypischer Pools möglich war. Dies bedeutete einen größeren Aufwand zur Erstellung von Kopplungskarten für das gesamte Genom in allen Kartierungspopulationen gegenüber der Zeit- und kosteneffizienten BSA-Analyse. Auf die Markeranalysen in der F<sub>4</sub> Generation wurde daher verzichtet. Zusammen mit den phänotypischen Daten, die vom Partner KWS-LOCHOW GMBH zur Verfügung gestellt wurden erfolgte die Kartierung von QTL für Resistenzen gegenüber bodenbürtigen Viren in Roggen in drei Kartierungspopulationen in jeweils zwei Generationen (F<sub>3</sub> und F<sub>5</sub>).

#### **4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde**

Da *Polymyxa graminis* als Vektor bodenbürtiger Getreideviren chemisch nicht bekämpft werden kann, ist der Anbau von Sorten mit Resistenz gegen die Furoviren SBCMV und SBWMV sowie das Bymovirus WSSMV die einzig wirksame Maßnahme zum Schutz der Kulturen (Proeseler und Kastirr 1988). Zum Nachweis und zur Charakterisierung von Resistenzquellen gegen das SBCMV und das WSSMV im Roggen waren bisher international keine Arbeiten publiziert. Detaillierte Studien zur Art der Resistenz in dieser Getreideart und deren Vererbung lagen nicht vor.

In Europa wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen Marker für Resistenzgene gegen bodenbürtige Viren im Weizen identifiziert (Börner et al. 2002; Kanyuka et al. 2004, Bass et al. 2006). Erste Daten wiesen auf die Existenz eines Majorgens auf Chromosom 5DL des Weizens hin. In mehrjährigen Feldversuchen in Vatan (Frankreich) zeigte sich in der DH Population 'Tremie' x 'anfällig Sorten' ein Spaltungsverhältnis von 27r:37s, was auf eine monogene Vererbung hindeutete. Diese Ergebnisse konnten in einjährigen Analysen der 126 DH-Linien umfassenden Population 'Claire' x 'Savannah' bestätigt werden (69r:57s), so dass nach jetzigem Kenntnisstand von einer einfachen Vererbung der SBCMV-Resistenz auszugehen ist. Die 1:1-Aufspaltung in einer DH-Population ließ jedoch keinen Rückschluss auf den Vererbungsmodus (dominant oder rezessiv) der Resistenz zu. Basierend auf diesen phänotypischen Daten wurden unter Verwendung der 'bulk segregant analysis' (BSA) erste mit der SBCMV-Resistenz gekoppelte SSR-Marker identifiziert. Weitergehende Arbeiten zielten auf eine Identifikation enger gekoppelter Marker mittels der AFLP-Technik gefolgt von der Konvertierung in einfach zu handhabende STS-Marker ab, um damit die Voraussetzungen für eine effektive züchterische Nutzung der SBCMV-Resistenz zu schaffen (Perovic et al. 2005, 2006a, 2006b). Für die Identifizierung eines WSSMV-Resistenzgens im Weizen lagen bereits molekulare Marker vor (Khan et al. 2000). In klassischen Züchtungsprogrammen kann die Einlagerung von Resistenzgenen durch den Einsatz molekularer Marker effektiv kontrolliert werden (Ordon et al. 2003).

Erste umfangreiche Testungen von Sortimenten, Zuchtlinien und genetischen Ressourcen von Roggen zeigten, dass die geprüften Sortimente und Zuchtlinien keine Resistenz gegen bodenbürtige Viren besitzen (Kastirr et al. 2002a). Nach weiterer intensiver Evaluierung von genetischen Ressourcen des Roggens und von Zuchtmaterial der beteiligten Firmen wurden jedoch erstmals Resistenzquellen nachgewiesen. Durch Pärchenkreuzung befallsfreier selbstinkompatibler Einzelpflanzen aus Sammlungspopulationen genetischer Roggenressourcen konnten für Virusresistenz spaltende Populationen vermehrt werden, welche für eine nähere wissenschaftliche Charakterisierung und für die Resistenzzüchtung zur Verfügung standen (Kastirr et al. 2006). Weiterhin wurden selbstfertile Resistenzquellen aus den Zuchtprogrammen der Partner zu F2-Populationen und F3-Linien weiterentwickelt. Somit standen auch aus diesem Material spaltende Populationen zur Verfügung. Aus den im Rahmen des GFP-Projektes 01HS067 erstellten Kreuzungen lagen F2-Nachkommenschaften vor, die für das vorgeschlagene Projekt genutzt werden konnten. Eine Verifikation der Resistenz dieses Materials unter Feldbedingungen stand noch aus.

#### **5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen.**

Das Forschungsvorhaben wurde als Verbundprojekt der GFP zwischen den Wissenschaftspartnern des Julius Kühn-Instituts, Bundesforschungsinstitut für

Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik (JKI-EP) Quedlinburg (zu Beginn Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen (BAZ), Institut für Resistenzforschung und Pathogendiagnostik) und der Technischen Universität München (TUM), Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt (WZW), Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung und dem Wirtschaftspartner KWS LOCHOW GMBH durchgeführt.

## II. Eingehende Darstellung

### 1. Verwendung der Zuwendung und erzielte Ergebnisse

Die Zuwendungen für Personalkosten und Verbrauchsmaterialien wurden im Rahmen der Mittelplanung für Untersuchungen der Forschungsschwerpunkte eingesetzt. Die Sachmittel wurden für umfangreiche molekulare Markeranalysen von Kartierungspopulationen verwendet.

#### 1.1 Teilprojekt 3: Molekulargenetische Identifizierung der Virusresistenz und Erstellung molekularer Marker für die Resistenzzüchtung (Projektpartner Technische Universität München)

##### 1.1.1 DNA-Extraktion und Identifizierung polymorpher Marker für die genetische Kartierung

Vom Projektpartner KWS-LOCHOW GMBH wurden von drei Kartierungspopulationen (Pop1, Pop2, Pop3; Tab. 1) und den zugehörigen Eltern Blattproben für die Markeranalysen in gefrorenem Zustand geliefert. Es handelte sich dabei jeweils um Mischproben aus bis zu 10 Einzelpflanzen, die damit jeweils den Genotyp der vorhergehenden Population rekonstituieren. Beispielsweise wird mit 10 F3 Pflanzen der Genotyp der zugrundeliegenden F2-Pflanze dargestellt. Die Proben wurden mit flüssigem Stickstoff gemörsert und nach CTAB-Protokoll wurde DNA extrahiert und einer Qualitätskontrolle auf Agarosegelen unterzogen. Die DNA-Konzentration wurde auf einem BIOTEK EPOCH spektrometrisch bestimmt.

**Tab. 1: Übersicht Kartierungspopulationen**

| Pop. | Elter 1         | Elter 2 | Anzahl F3/F4/F5<br>Nachkommen | Resistenzdonor<br>SBCMV | Resistenzdonor<br>WSSMV |
|------|-----------------|---------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Pop1 | Lo115           | Lo123   | 100                           | Elitelinie Lo123        | -                       |
| Pop2 | VGf* Moorroggen | Lo86    | 100                           | VGf Moorroggen          | Elitelinie Lo86         |
| Pop3 | VGf BA2647      | Lo310   | 100                           | VGf BA2647              | VGf BA2647              |

\* VGf: Vollgeschwisterfamilie

Nach Abschluss der DNA-Extraktion wurde mit dem Screening der Elternlinien auf Polymorphismen für SSR-Marker begonnen. Insgesamt wurden 149 genomweit verteilte SSR-Marker in allen drei Populationen auf Polymorphismus zwischen den Eltern untersucht. Bei

Pop2 ist unklar, warum der Polymorphiegrad im Elternscreening so niedrig lag. In vielen Fällen spalteten Marker, die für die Eltern polymorphe Banden zeigten in der Population nicht auf. Möglicherweise ist dies darauf zurückzuführen, dass der ursprünglich als Kreuzungselter verwendete Gamet nicht mehr zur Verfügung stand und daher eine Mischprobe aus mehreren Einzelpflanzen der Donorpopulation verwendet wurde. Dabei sind verständlicherweise zahlreiche falsch-positive sowie falsch-negative zu erwarten. Der insgesamt vergleichsweise niedrige Polymorphiegrad der SSR-Marker ist damit zu erklären, dass die meisten der verwendeten SSRs aus EST-Sequenzen abgeleitet sind, die in der Regel stärker konserviert sind als genomische SSR-Sequenzen.

Basierend auf den Erkenntnissen zur Kartierung von Resistenzgenen gegen SBCMV und WSSMV in Weizen wurde so weit möglich versucht, die den Weizenchromosomen der homöologen Gruppe 2 und 5 entsprechenden Chromosomen 2R, 5R und 7R gut abzudecken.

Um eine bessere Absättigung des Genoms zu erreichen wurden zusätzlich AFLP-Marker mit der Enzymkombination *PstI/MseI* eingesetzt. Für die Populationen Pop2 und Pop3, für die in der F3 Generation zunächst vergleichsweise wenige Marker zur Verfügung standen wurden vom Projektpartner KWS LOCHOW GMBH zusätzlich nach Projektende 384 an der TUM entwickelte Roggen SNP-Marker (Haseneyer et al. 2011) in einem Illumina VeraCode Assay analysiert und bereitgestellt. Die Gesamtzahl der in den einzelnen Populationen und Generationen verfügbaren Marker ist Tab. 2 dargestellt.

Da der Polymorphiegrad in Pop2 sehr niedrig war wurde im Laufe des Projekts entschieden, diese Population nicht in der F5 Generation zu untersuchen. Ebenfalls nicht mit Markern untersucht wurde in allen Populationen die Generation F4, da durch den gegenüber der ursprünglich geplanten Bulk Segregant Analyse deutlich erhöhten Aufwand für eine Gesamtgenom-Kartierung zeitliche und finanzielle Engpässe entstanden wären.

**Tab. 2: Anzahl auswertbarer Marker in den einzelnen Populationen und Generationen**

| Marker        | Population 1 |            | Population 2 |          | Population 3 |           |
|---------------|--------------|------------|--------------|----------|--------------|-----------|
|               | F3           | F5         | F3           | F5       | F3           | F5        |
| SSR           | 30           | 28         | 7            | -        | 24           | 23        |
| AFLP          | 112          | 117        | 50           | -        | 37           | 41        |
| SNP           | -            | -          | 266          | -        | 223          | -         |
| <b>Gesamt</b> | <b>142</b>   | <b>145</b> | <b>323</b>   | <b>-</b> | <b>284</b>   | <b>64</b> |

### **1.1.2. Erstellung genetischer Kopplungskarten**

Es konnten für alle Populationen unter Verwendung der Software JoinMap 4 (VanOoijen 2006) Kopplungskarten für die F3 bzw. F5 Generation erstellt werden, die das Roggengenom jedoch nicht komplett abdecken (Tab. 3, Abb1., Abb.2, Abb. 3). In den meisten Fällen ist die Zuordnung der Kopplungsgruppen zu den sieben Roggenchromosomen über SSR- bzw. SNP-Marker erfolgt, für die Kartierungsdaten aus anderen Studien vorlagen. Für eine Kopplungsgruppe in Pop3, die ausschließlich aus AFLP-Markern besteht war keine chromosomale Zuordnung möglich. Für einige Chromosomen gibt es darüber hinaus mehrere kleinere, ungekoppelte Kopplungsgruppen (A-E), die in ihrer Lage zueinander jedoch meist zugeordnet werden konnten. Nicht alle ursprünglich als polymorph

eingestuften Marker konnten in die Kopplungskarten integriert werden. Erschwert wurde die Kartierung außerdem durch einen relativ hohen Anteil an Markern mit gestörter Spaltung.

**Tab. 3: Übersicht über die Kopplungskarten der einzelnen Populationen und Generationen. Sofern ein Chromosom durch mehrere Kopplungsgruppen repräsentiert war wurden diese zusammengefasst.**

|  | Population 1 |       | Population 2 |       | Population 3 |  |
|--|--------------|-------|--------------|-------|--------------|--|
|  | F3           | F5    | F3           | F3    | F5           |  |
| <b>Gesamt</b>                            |              |       |              |       |              |  |
| Anzahl Marker                            | 142          | 145   | 475          | 366   | 64           |  |
| Marker mit gestörter Spaltung (%) *      | 16.9         | 56.6  | 80.0         | 61.8  | 62.5         |  |
| Ungekoppelte Marker bei LOD > 2          | 30           | 75    | 194          | 184   | 49           |  |
| Kartenlänge (cM)                         | 596.9        | 397.7 | 531.7        | 585.4 | 135.9        |  |
| Anzahl Marker in finalen Kopplungskarten | 87           | 55    | 76           | 109   | 12           |  |
| Ø Markerabstand (cM)                     | 6.9          | 7.2   | 7.0          | 5.4   | 11.3         |  |
| <b>Chromosom 1R</b>                      |              |       |              |       |              |  |
| Kartenlänge (cM)                         | 123.3        | 70.6  | 69.6         | 79.1  | 37.5         |  |
| Anzahl Marker                            | 16           | 9     | 11           | 11    | 5            |  |
| Ø Markerabstand (cM)                     | 8.3          | 7.8   | 6.3          | 7.2   | 7.5          |  |
| <b>Chromosom 2R</b>                      |              |       |              |       |              |  |
| Kartenlänge (cM)                         | 48.8         | 43.6  | 92.5         | 76.4  | -            |  |
| Anzahl Marker                            | 8            | 4     | 9            | 12    | -            |  |
| Ø Markerabstand (cM)                     | 6.1          | 10.9  | 10.3         | 6.4   | -            |  |
| <b>Chromosom 3R</b>                      |              |       |              |       |              |  |
| Kartenlänge (cM)                         | 12           | -     | 53.7         | 40.2  | -            |  |
| Anzahl Marker                            | 4            | -     | 8            | 10    | -            |  |
| Ø Markerabstand (cM)                     | 3            | -     | 6.71         | 4.0   | -            |  |
| <b>Chromosom 4R</b>                      |              |       |              |       |              |  |
| Kartenlänge (cM)                         | 206.3        | 191.7 | 51.3         | 119.4 | -            |  |
| Anzahl Marker                            | 30           | 27    | 13           | 21    | -            |  |
| Ø Markerabstand (cM)                     | 6.9          | 7.1   | 3.9          | 5.7   | -            |  |
| <b>Chromosom 5R</b>                      |              |       |              |       |              |  |
| Kartenlänge (cM)                         | 98.5         | 62.5  | 121.8        | 129.9 | 44.6         |  |
| Anzahl Marker                            | 11           | 8     | 16           | 26    | 3            |  |
| Ø Markerabstand (cM)                     | 9.0          | 7.8   | 7.6          | 5.0   | 14.9         |  |
| <b>Chromosom 6R</b>                      |              |       |              |       |              |  |
| Kartenlänge (cM)                         | 41.3         | -     | 100.7        | 76.9  | -            |  |
| Anzahl Marker                            | 7            | -     | 14           | 22    | -            |  |
| Ø Markerabstand (cM)                     | 5.9          | -     | 7.19         | 3.5   | -            |  |
| <b>Chromosom 7R</b>                      |              |       |              |       |              |  |
| Kartenlänge (cM)                         | 57.7         | 29.3  | 42.1         | 63.5  | -            |  |
| Anzahl Marker                            | 11           | 7     | 5            | 7     | -            |  |
| Ø Markerabstand (cM)                     | 5.2          | 4.2   | 8.4          | 9.1   | -            |  |

\*  $\chi^2 > 9.21$  (2 df) für kodominante Marker und  $\chi^2 > 6.63$  (1 df) für dominante Marker

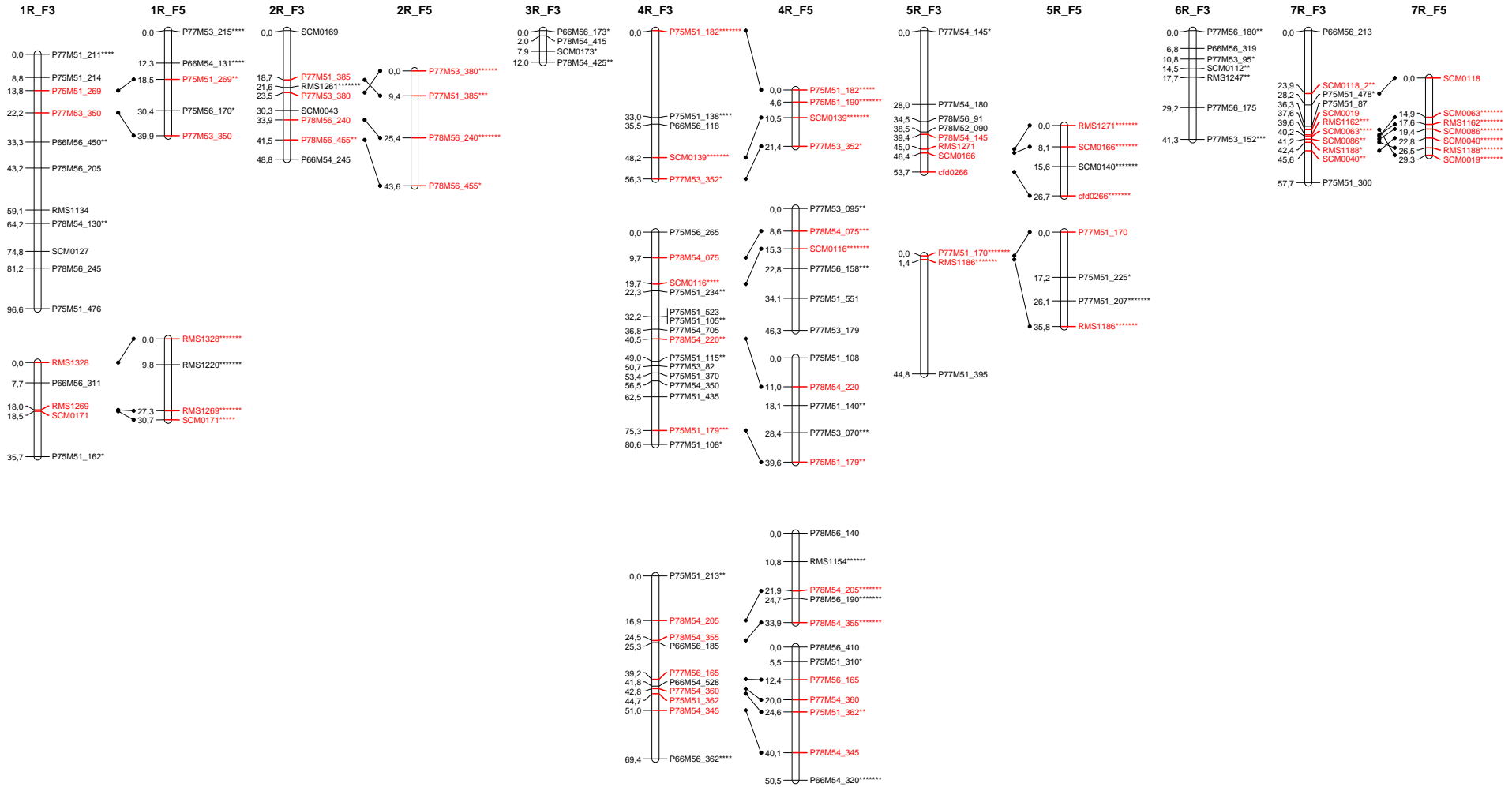


Abb. 1: Kopplungskarten für Population Pop1 (Lo115 x Lo123) in Generation F3 und F5 vergleichend gegenübergestellt. Marker, die in beiden Generationen oder mehreren Populationen kartiert wurden sind rot gekennzeichnet. Das Signifikanzniveau für Marker mit gestörter Spaltung ist jeweils durch Sterne am Ende des Markernamens angegeben (\*: 0.1; \*\*: 0.05; \*\*\*: 0.01; \*\*\*\*: 0.005; \*\*\*\*\*: 0.001; \*\*\*\*\*(0.0005); \*\*\*\*\*(0.0001)). Kumulative Kartendistanzen sind in cM (Haldane) angegeben. Soweit die Orientierung der Chromosomen eindeutig ist, ist der kurze Arm jeweils oben dargestellt. Partielle Kopplungsgruppen, die zum gleichen Chromosom gehören sind untereinander dargestellt und wurden von oben nach unten im folgenden Text mit Großbuchstaben A-E gekennzeichnet.

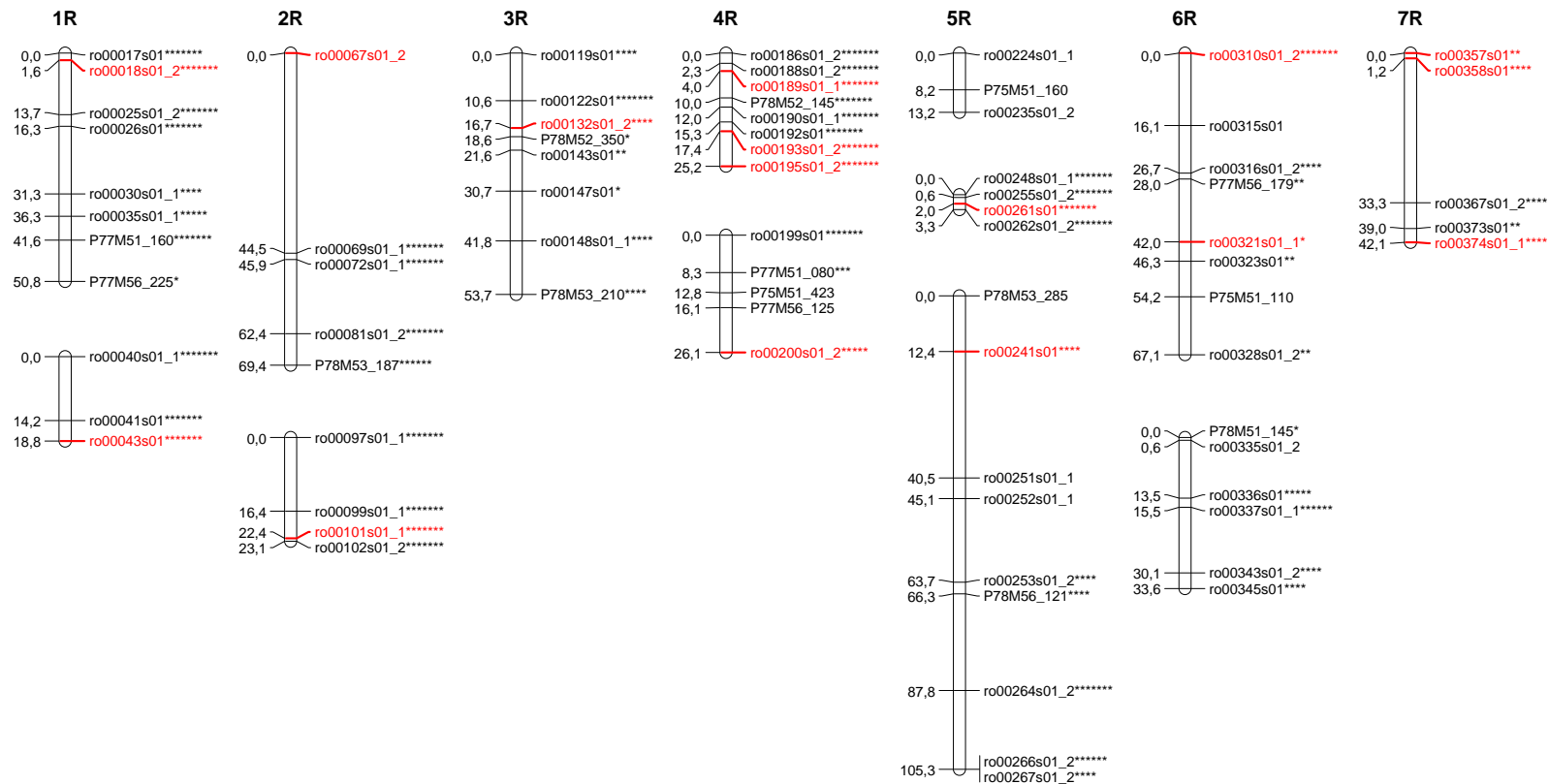


Abb. 2: Kopplungskarten für Population Pop2 (VGF Moorroggen x Lo86) in Generation F3. Marker, die in mehreren Populationen kartiert wurden sind rot gekennzeichnet. Das Signifikanzniveau für Marker mit gestörter Spaltung ist jeweils durch Sterne am Ende des Markernamens angegeben (\*: 0.1; \*\*: 0.05; \*\*\*: 0.01; \*\*\*\*: 0.005; \*\*\*\*\*: 0.001; \*\*\*\*\*: 0.0005; \*\*\*\*\*: 0.0001). Kumulative Kartendistanzen sind in cM (Haldane) angegeben. Soweit die Orientierung der Chromosomen eindeutig ist, ist der kurze Arm jeweils oben dargestellt. Partielle Kopplungsgruppen, die zum gleichen Chromosom gehören sind untereinander dargestellt und wurden von oben nach unten im folgenden Text mit Großbuchstaben A-C gekennzeichnet.



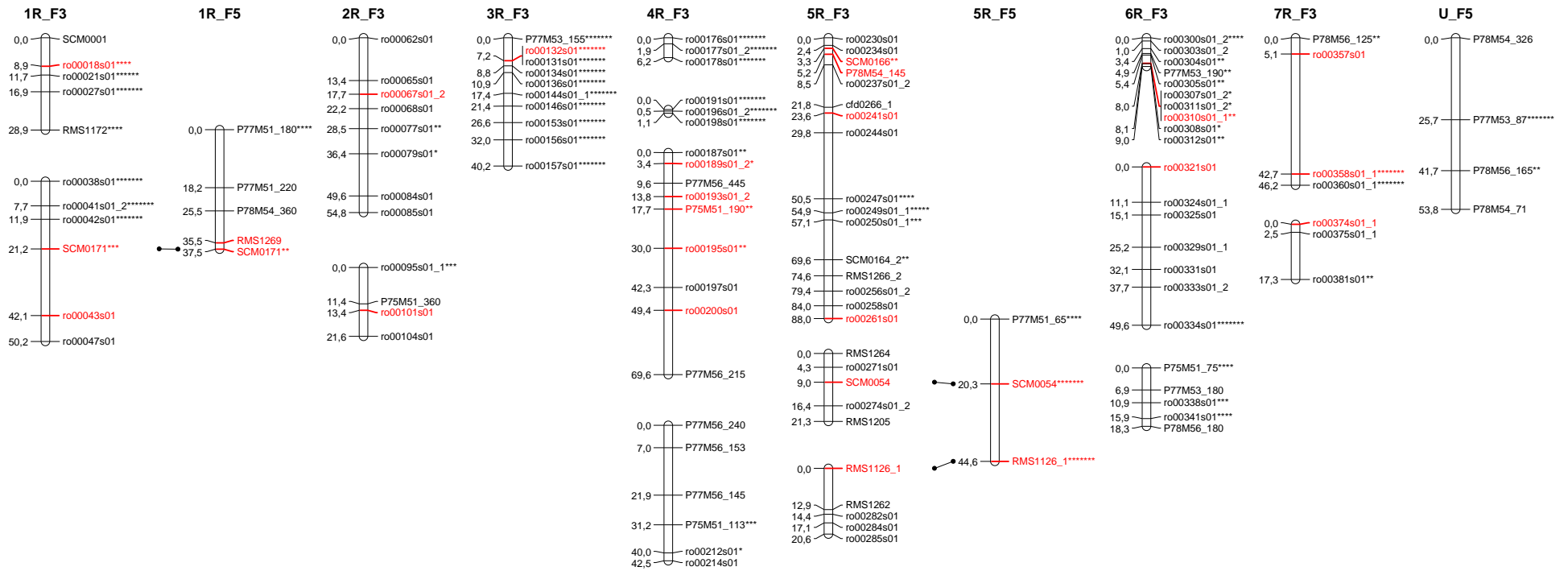


Abb. 3: Kopplungskarten für Population Pop3 (VGF BA2647 x Lo310) in Generation F3 und F5 vergleichend gegenübergestellt. Marker, die in beiden Generationen oder mehreren Populationen kartiert wurden sind rot gekennzeichnet. Das Signifikanzniveau für Marker mit gestörter Spaltung ist jeweils durch Sterne am Ende des Markernamens angegeben (\*: 0.1; \*\*: 0.05; \*\*\*: 0.01; \*\*\*\*: 0.005; \*\*\*\*\*: 0.001; \*\*\*\*\*: 0.0005; \*\*\*\*\*: 0.0001). Kumulative Kartendistanzen sind in cM (Haldane) angegeben. Soweit die Orientierung der Chromosomen eindeutig ist, ist der kurze Arm jeweils oben dargestellt. Die mit U\_F5 gekennzeichnete Kopplungsgruppe konnte keinem Chromosom zugeordnet werden. Partielle Kopplungsgruppen, die zum gleichen Chromosom gehören sind untereinander dargestellt und wurden von oben nach unten im folgenden Text mit Großbuchstaben A-D gekennzeichnet.

### 1.1.3 Identifizierung von Genomregionen für Resistenz gegenüber SBCMV und WSSMV durch QTL-Kartierung

Vom Projektpartner KWS LOCHOW wurden phänotypische Daten für WSSMV- und SBCMV-Befall für verschiedene Ort/Jahr-Kombinationen zur Verfügung gestellt. Die Daten wurden gemeinsam von den Projektpartnern JKI und KWS LOCHOW erhoben. Aus den Rohdaten für die von Partner JKI gemessenen ELISA-Werte wurden vom Projektpartner KWS LOCHOW adjustierte Mittelwerte berechnet, die als Einzelumwelten (Orte / Jahre / Virus) in die QTL-Analyse mit dem Programm PlabQTL eingingen.

Im Lauf des Projektes wurden phänotypische Daten von den in Tab. 4 dargestellten Versuchen erhoben. Aufgrund der Verrechnungen des Projektpartners KWS LOCHOW ergaben sich niedrige Wiederholbarkeiten für bestimmte Einzelumwelten. Kombinationen mit einer Wiederholbarkeit <0,2 wurden von der Verrechnung in PlabQTL ausgenommen (Tab. 5).

**Tab. 4: Übersicht der Versuche mit Angabe zu Ort, Jahr und auftretendem Virustyp.**

| Ort                  | Jahr                   | Boden infestiert mit |
|----------------------|------------------------|----------------------|
| Gödniz (GOD)         | 2008, 2009, 2010, 2011 | SBCMV, WSSMV         |
| Wietze (WIE)         | 2008, 2009, 2011       | SBCMV, WSSMV         |
| Walternienburg (WNB) | 2008, 2009, 2010, 2011 | SBCMV, WSSMV         |
| Schleesen (SCHL)     | 2010, 2011             | WSSMV                |

**Tab. 5: Datensätze mit einer Wiederholbarkeit von >0,2, die in die QTL-Analyse eingingen**

| Jahr | Population 1 |     |       |      | Population 2 |      |       |      | Population 3 |     |       |      |
|------|--------------|-----|-------|------|--------------|------|-------|------|--------------|-----|-------|------|
|      | SBCMV        |     | WSSMV |      | SBCMV        |      | WSSMV |      | SBCMV        |     | WSSMV |      |
| 2008 | _*           | -   | GOD   | WIE  | GOD          | WIE  | GOD   | WIE  | -            | -   | GOD   | WIE  |
|      | WNB          | -   | WNB   | -    | WNB          | -    | -     | -    | -            | -   | WNB   | -    |
| 2009 | GOD          | WIE | -     | -    | GOD          | WIE  | -     | -    | -            | GOD | GOD   | -    |
|      | WNB          | -   | -     | -    | WNB          | -    | WNB   | -    | -            | WNB | WNB   | -    |
| 2010 | GOD          | -   | GOD   | -    | n.a.**       | n.a. | n.a.  | n.a. | -            | GOD | GOD   | -    |
|      | WNB          | -   | WNB   | -    | n.a.         | n.a. | n.a.  | n.a. | -            | -   | WNB   | SCHL |
| 2011 | GOD          | WIE | GOD   | WIE  | n.a.         | n.a. | n.a.  | n.a. | GOD          | WIE | GOD   | WIE  |
|      | WNB          | -   | WNB   | SCHL | n.a.         | n.a. | n.a.  | n.a. | -            | -   | WNB   | SCHL |

\* -: Wiederholbarkeit am Einzelort <0,2. Daten gingen nicht in die QTL-Analyse ein.

\*\* n.a.: Daten nicht erhoben

Im ersten Versuchsjahr 2008 wurde jeweils die F3 Generation im Feld untersucht, in den Folgejahren aufsteigend dann jeweils die Generationen F4 (2009), F5 (2010) und F6 (2011). Für die Verrechnung der phänotypischen Daten der F3 und F4 Generation (2008, 2009) wurden als Basis die Karten der F3 Generation verwendet, für die F5 und F6 Generation (2010, 2011) die Karten der F5 Generation, um den ansteigenden Homozygotiegrad in höheren Populationen zu berücksichtigen.

Die QTL-Analyse wurde unter Verwendung der in Abb. 1-3 dargestellten Karten vorgenommen. Zusätzlich wurden auch Marker, die keine Kopplung zu den vorhandenen Kopplungsgruppen aufwiesen in artifizielle Kopplungsgruppen mit Markerabständen von 50 cM einbezogen, wobei jeweils max. 5 Marker pro Gruppe verwendet wurden. Soweit

bekannt wurden dabei Marker, die auf einem bestimmten Chromosom liegen müssten zusammengefasst und die artifiziiellen Gruppen dann z.B. mit 1UL (für Marker von 1R) oder 5UL (für Marker von 5R) bezeichnet. Dabei handelte es sich meist um SNP-Marker, die teilweise auch in zwei Kopplungsphasen verwendet wurden, wenn eine Zuordnung der Kopplungsphasen aufgrund der heterozygoten Elternpools (Pop2: VGF Moorroggen bzw. Pop3: VGF BA2647) nicht möglich war.

Die QTL-Verrechnung wurde als CIM-Analyse (Composite Interval Mapping) mit Cofaktoren zunächst für die verfügbaren Einzelumwelten durchgeführt. Sofern mehrere Umwelten vorlagen wurde eine Analyse über Umwelten in PlabQTL durchgeführt und in den Ergebnistabellen als CA (combined analysis) gekennzeichnet. Die verwendeten Umwelten sind in Tab. 5 dargestellt. Als Grenzwerte für das Auffinden von QTL wurde ein LOD-Wert von 2,5 gewählt, der allerdings bei 100 Nachkommen lediglich einem Fehlerniveau von ca. 0,25 entspricht. Bei einem Fehlerniveau von 0,05 müsste der Schwellenwert bei einem LOD-Wert von etwa 3,2 angesetzt werden. QTL mit einem LOD-Wert von <3,2 sollten daher unter Vorbehalt betrachtet werden.

Die Ergebnisse für die einzelnen Populationen, Generationen, Viren und Umwelten sind in den Tabellen 6 bis 11 dargestellt. Es sind nur Umwelten aufgeführt, für die QTL detektiert wurden. Die Vorzeichen für die dargestellten additiven Effekte beziehen sich in der Software PlabQTL auf die Annahme, dass jeweils Elter 2 das positive Allel trägt und entsprechend das Vorzeichen eine Erhöhung oder Verringerung der ELISA-Werte und damit des erwarteten Virusbefalls anzeigt.

In Pop1 trägt Elter 2 (Lo123) die Resistenz für SBCMV. So tragen die Loci auf 1BR, 4CR und 7R zu einer Verbesserung der Resistenz durch Elter 2 bei (Tab. 6). Allerdings wurden auch QTL detektiert, für die der Elter 1 (Lo115) die Resistenz verbessert, obwohl für diese Linie keine ausgeprägte Resistenz gegen SBCMV angenommen wurde. In der kombinierten Analyse über Orte wurden in der F3 ein positiver QTL aus Elter 1 auf 3R und in der F5 ein positiver QTL aus Elter 2 auf 7R detektiert. Es konnte allerdings keiner der QTL über mehrere Umwelten oder über beide Generationen hinweg bestätigt werden.

**Tab. 6: Liste der QTL für SBCMV Resistenz in Pop1 F3 und F5 mit den zugehörigen Chromosomen, Markerintervallen, Supportintervallen, LOD-Werten, erklärter phänotypischer Varianz (R<sup>2</sup> %) und additiven Effekten, basierend auf CIM. CA: Analyse über mehrere Umwelten.**

| Genera-tion    | Jahr und Ort | Chr. | Markerintervall         | Support Interval | LOD  | R <sup>2</sup> % | Add. Eff. |
|----------------|--------------|------|-------------------------|------------------|------|------------------|-----------|
| F <sub>3</sub> | CA           | 3R   | P78M54_415 - SCM0173    | 0-8              | 2,80 | 12,1             | -0,162    |
|                | WNB2008      | 3R   | SCM0173 - P78M54_425    | 6-12             | 2,80 | 12,2             | -0,387    |
| F <sub>5</sub> | GOD2010      | 1AR  | P75M56_170 - P77M53_350 | 26-36            | 2,75 | 27,7             | 0,796     |
|                | WIE2011      | 1BR  | RMS1328 – RMS1220       | 0 -10            | 2,50 | 11,0             | 0,448     |
|                | WIE2011      | 1BR  | RMS1269 – SCM0171       | 22-30            | 4,98 | 20,9             | -0,587    |
|                | GOD2010      | 2R   | P77M51_385 – P78M56_240 | 10-22            | 3,67 | 34,4             | 0,905     |
|                | WNB2010      | 4CR  | P77M51_140 – P77M53_070 | 22-30            | 2,61 | 16,4             | -0,514    |
|                | GOD2010      | 5AR  | SCM0166 – SCM0140       | 8-22             | 2,60 | 25,9             | 0,499     |
|                | CA           | 7R   | RMS1162 - SCM0086       | 16-20            | 2,57 | 11,7             | -0,677    |

Obwohl in Population 1 für keinen der Eltern WSSMV Resistenz beschrieben war wurden mehrere QTL detektiert (Tab. 7). In den Fällen mit positivem Vorzeichen für den additiven Effekt stammt das Resistenzallel von Elter 1 (Lo115). Es wurden vor allem Regionen auf 7R für WSSMV Resistenz gefunden. Die meisten dieser QTL zeichnen sich durch hohe LOD-Werte aus und erklären bis zu rund 60% der phänotypischen Varianz. Die QTL-Region auf 7R mit positivem Allel von Elter 1 ließ sich über mehrere Umwelten und auch in der kombinierten Analyse über Umwelten bestätigen.

**Tab. 7: Liste der QTL für WSSMV Resistenz in Pop1 F3 und F5 mit den zugehörigen Chromosomen, Markerintervallen, Supportintervallen, LOD-Werten, erklärter phänotypischer Varianz ( $R^2$  %) und additiven Effekten, basierend auf Composite Intervall Mapping. CA: Analyse über mehrere Umwelten.**

| Gener-<br>ation | Jahr und Ort | Chr. | Markerintervall        | Support Interval | LOD   | $R^2$ % | Add.<br>Eff. |
|-----------------|--------------|------|------------------------|------------------|-------|---------|--------------|
| F <sub>3</sub>  | CA           | 5BR  | RMS1186 - P77M51_395   | 0-30             | 4,03  | 17,2    | 0,21         |
|                 | GOD2008      | 5BR  | RMS1186 - P77M51_395   | 0-28             | 3,69  | 15,9    | 0,316        |
|                 | CA           | 7R   | SCM0019 - RMS1162      | 36-40            | 20,85 | 61,7    | 0,561        |
|                 | GOD2008      | 7R   | P75M51_478 - P75M51_87 | 30-38            | 5,42  | 22,1    | 0,488        |
|                 | WIE2008      | 7R   | P75M51_478 - P75M51_87 | 32-38            | 5,68  | 23,0    | 0,270        |
|                 | WNB2008      | 7R   | SCM0019 - RMS1162      | 36-40            | 17,84 | 56,0    | 0,821        |
| F <sub>5</sub>  | SCHL2011     | 4DR  | P78M56_140 - RMS1154   | 0-8              | 3,21  | 14,4    | -0,249       |
|                 | CA           | 7R   | SCM0063 - RMS1162      | 10-18            | 2,97  | 23,1    | 0,239        |
|                 | WIE2011      | 7R   | SCM0063 - RMS1162      | 12-18            | 4,01  | 29,9    | 0,748        |
|                 | WNB2010      | 7R   | SCM0118 - SCM0063      | 10-18            | 4,16  | 23,3    | 0,396        |
|                 | SCHL2011     | 7R   | SCM0063 - RMS1162      | 14-18            | 3,48  | 15,8    | 0,445        |

In Population 2 war Elter 1 (VGF Moorroggen) als Resistenzdonor für SBCMV beschrieben (Tab. 8). Die meisten beschriebenen QTL mit positivem Vorzeichen für den additiven Effekt stammen daher von diesem Elter, mit Ausnahme des QTL auf 5BR. Bei den QTL auf der Gruppe 5UL (ungekoppelte Marker ro00276s01\_1 und ro00276s01\_2) ist die Kopplungsphase nicht bekannt und daher kann der QTL nicht eindeutig einem Elter zugeordnet werden. Elter 2 (Lo86) trägt einen positiven Effekt auf 5BR bei. Die Kartenpositionen der Marker auf 5R sind jedoch nicht ganz eindeutig, da die Gruppe 5BR aufgrund stark schief spaltender Marker als einzelne Gruppe aus der Kartierung hervorgeht, während die aus anderen Studien bekannten Kartierungspositionen der SNP-Marker eine Verteilung der Marker über die Gruppe 5CR hinweg vermuten lässt. Es ist möglich, dass auf diesem Chromosom positive QTL von beiden Eltern liegen. Die Region auf 5CR mit einem von Elter 1 stammenden Resistenzallel ließ sich über mehrere Umwelten und auch in der kombinierten Analyse über Umwelten bestätigen.

**Tab. 8: Liste der QTL für SBCMV Resistenz in Pop2 F3 mit den zugehörigen Chromosomen, Markerintervallen, Supportintervallen, LOD-Werten, erklärter phänotypischer Varianz (R<sup>2</sup> %) und additiven Effekten, basierend auf Composite Intervall Mapping. CA: Analyse über mehrere Umwelten.**

| Gener-<br>ation | Jahr und Ort | Chr. | Markerintervall             | Support Interval | LOD  | R <sup>2</sup> % | Add.<br>Eff. |
|-----------------|--------------|------|-----------------------------|------------------|------|------------------|--------------|
| F <sub>3</sub>  | WNB2008      | 2BR  | ro00097s01_1 - ro00099s01_1 | 2-18             | 2,83 | 14,1             | 0,702        |
|                 | WIE2008      | 5BR  | ro00248s01_1 - ro00255s01_2 | 0-2              | 5,33 | 24,6             | -0,835       |
|                 | CA           | 5CR  | ro00264s01_2 - ro00266s01_2 | 98-104           | 4,13 | 19,1             | 0,347        |
|                 | GOD2008      | 5CR  | ro00264s01_2 - ro00266s01_2 | 98-104           | 6,61 | 28,7             | 0,654        |
|                 | WIE2008      | 5CR  | ro00264s01_2 - ro00266s01_2 | 100-104          | 8,02 | 34,3             | 0,891        |
|                 | WNB2008      | 5CR  | ro00264s01_2 - ro00266s01_2 | 92-104           | 3,20 | 15,3             | 0,420        |
|                 | WNB2008      | 6AR  | P77M56_179 - ro00321s01_1   | 28-48            | 3,61 | 16,5             | 0,366        |
|                 | WNB2008      | 5UL  | ro00276s01_1 - ro00276s01_2 | 250-270          | 3,96 | 18,0             | 0,474        |
|                 | CA           | 5UL  | ro00276s01_1 - ro00276s01_2 | 250-274          | 3,44 | 15,7             | 0,301        |
|                 | CA           | 5UL  | ro00276s01_1 - ro00276s01_2 | 276-334          | 3,47 | 15,8             | -0,276       |
|                 | WNB2008      | 5UL  | ro00276s01_1 - ro00276s01_2 | 276-302          | 4,89 | 21,7             | -2,335       |

Als Resistenzdonor für WSSMV in Population 2 wurde Elter 2 (Lo86) angenommen (Tab. 9). Die QTL auf 4AR, 5BR und den ungekoppelten Markern der Gruppe 7UL (Marker RMS1187) mit negativem Vorzeichen tragen daher zu einer Verbesserung der Resistenz bei Vorliegen des Allels von Elter 2 bei, wobei der QTL auf 5BR den höchsten Effekt zeigt. Günstige Allele von Elter 1 (VGF Moorroggen) finden sich auf 1BR und ebenfalls 7UL im Bereich des Markers ro00380s01.

**Tab. 9: Liste der QTL für WSSMV Resistenz in Pop2 F3 mit den zugehörigen Chromosomen, Markerintervallen, Supportintervallen, LOD-Werten, erklärter phänotypischer Varianz (R<sup>2</sup> %) und additiven Effekten, basierend auf Composite Intervall Mapping. CA: Analyse über mehrere Umwelten.**

| Gener-<br>ation | Jahr und Ort | Chr. | Markerintervall             | Support Interval | LOD  | R <sup>2</sup> % | Add.<br>Eff. |
|-----------------|--------------|------|-----------------------------|------------------|------|------------------|--------------|
| F <sub>3</sub>  | WNB2009      | 1BR  | ro00041s01 - ro00043s01     | 14-18            | 2,88 | 13,9             | 0,300        |
|                 | WNB2009      | 4AR  | ro00190s01_1 - ro00192s01   | 8-16             | 7,31 | 30,6             | -0,303       |
|                 | GOD2008      | 5BR  | ro00248s01_1 - ro00255s01_2 | 0-2              | 2,66 | 13,2             | -0,713       |
|                 | CA           | 7UL  | ro00380s01 - ro00381s01     | 72-100           | 5,05 | 23,0             | 0,215        |
|                 | GOD2008      | 7UL  | ro00380s01 - ro00381s01     | 74-100           | 5,80 | 26,2             | 0,494        |
|                 | GOD2008      | 7UL  | RMS1187 - ro00380s01        | 0-20             | 3,09 | 15,6             | -0,380       |

In Population 3 ist Elter 1 (VGF BA2647) der Donor für die SBCMV Resistenz (Tab. 10). Hier wurde in der Analyse über Umwelten lediglich ein QTL mit relativ niedrigem LOD-Wert auf 2BR gefunden, der von diesem Elter stammt. Für SBCMV Resistenz lagen allerdings auch nur wenige Datensätze vor (Tab. 5).

**Tab. 10: Liste der QTL für SBCMV Resistenz in Pop3 F3 mit den zugehörigen Chromosomen, Markerintervallen, Supportintervallen, LOD-Werten, erklärter phänotypischer Varianz (R<sup>2</sup> %) und additiven Effekten basierend auf Composite Intervall Mapping. CA: Analyse über mehrere Umwelten.**

| Genera-<br>tion | Jahr und Ort | Chr. | Markerintervall           | Support Interval | LOD  | R <sup>2</sup> % | Add.<br>Eff. |
|-----------------|--------------|------|---------------------------|------------------|------|------------------|--------------|
| F <sub>3</sub>  | CA           | 2BR  | ro00095s01_1 - P75M51_360 | 0-12             | 2,62 | 12,8             | 0,444        |
| F <sub>5</sub>  |              | -    | -                         | -                | -    | -                | -            |

Elter 1 (VGF BA2647) in Population 3 ist ebenfalls Donor der WSSMV-Resistenz (Tab. 11). In der Generation F3 wurde eine Reihe von QTL detektiert, die mit Ausnahme der QTL auf 1BR und 5AR auf diesen Elter zurückgehen. Die meisten der QTL haben relativ hohe LOD-Werte und konnten in mehreren Einzelumwelten bzw. in der kombinierten Analyse über Umwelten bestätigt werden. In Generation F5 wurde nur ein QTL detektiert. Grund hierfür dürfte aber auch die relativ schwache Genomabdeckung in F5 sein. Die Mehrzahl der Marker in F3 waren SNP-Marker, die für die F5 nicht zur Verfügung standen. Zur Validierung der Ergebnisse sollten ausgewählte Marker in interessanten QTL-Regionen wie z.B. 7AR in Generation F5 weiter untersucht werden.

**Tab. 11: Liste der QTL für WSSMV Resistenz in Pop3 F3 und F5 mit den zugehörigen Chromosomen, Markerintervallen, Supportintervallen, LOD-Werten, erklärter phänotypischer Varianz (R<sup>2</sup> %) und additiven Effekten, basierend auf Composite Intervall Mapping. CA: Analyse über mehrere Umwelten.**

| Genera-<br>tion | Jahr und Ort | Chr.                        | Markerintervall             | Support Interval | LOD  | R <sup>2</sup> % | Add.<br>Eff. |
|-----------------|--------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------|------|------------------|--------------|
| F <sub>3</sub>  | WNB2008      | 1BR                         | ro00038s01 - ro00041s01_2   | 0-6              | 2,54 | 13,1             | -0,243       |
|                 | WNB2009      | 2AR                         | ro00077s01 - ro00079s01     | 24-34            | 4,22 | 19,4             | 0,454        |
|                 | WNB2008      | 5AR                         | ro00237s01_2 - cfd0266_1    | 8-24             | 2,59 | 12,4             | 0,241        |
|                 | GOD2009      | 5AR                         | cfd0266_1 - ro00241s01      | 18-24            | 4,20 | 19,0             | 0,025        |
|                 | WIE2008      | 6AR                         | ro00300s01_2 - ro00303s01_2 | 0-2              | 2,62 | 12,5             | 0,115        |
|                 | GOD2008      | 7AR                         | ro00358s01_1 - ro00360s01_1 | 42-46            | 4,18 | 20,3             | -0,567       |
|                 | WIE2008      | 7AR                         | ro00358s01_1 - ro00360s01_1 | 42-46            | 6,66 | 30,3             | -0,150       |
|                 | CA           | 7AR                         | ro00358s01_1 - ro00360s01_1 | 42-46            | 2,70 | 13,6             | -0,18        |
|                 | CA           | 1UL                         | ro00002s02_2 - ro00029s01   | 130-150          | 3,58 | 18,0             | 0,217        |
|                 | GOD2008      | 1UL                         | ro00002s02_2 - ro00029s01   | 130-150          | 2,85 | 14,6             | 0,460        |
|                 | WNB2008      | 1UL                         | ro00002s02_2 - ro00029s01   | 130-150          | 3,66 | 18,4             | 0,376        |
|                 | CA           | 3UL                         | ro00114s01 - ro00118s01     | 72-134           | 4,43 | 20,3             | 0,225        |
|                 | GOD2008      | 3UL                         | ro00113s01_2 - ro00114s01   | 66-130           | 3,98 | 19,0             | 0,554        |
|                 | WNB2008      | 3UL                         | ro00114s01 - ro00118s01     | 86-128           | 5,93 | 26,2             | 0,455        |
| GOD2009         | 7UL          | ro00350s01_1 - ro00350s01_2 | 72-76                       | 4,15             | 19,1 | 0,161            |              |
| F <sub>5</sub>  | GOD2010      | 1R                          | P77M51_180 - P77M51_220     | 6-24             | 4,28 | 18,2             | -0,261       |

Zusammenfassend lässt sich konstatieren, dass für nahezu alle Konstellationen (Population, Generation, Virus) QTL detektiert werden konnten. Aufgrund teilweise nicht ausreichender Markerabdeckung sollten diese Ergebnisse weiter validiert werden. Dies könnte auch durch selektive Phänotypisierung von Zuchtmaterial erfolgen, das mit den flankierenden Markern

genotypisiert und dann für die Phänotypisierung ausgewählt wird. Dabei sollte der Vergleich mit den Allelen der jeweiligen Resistenzdonoren erfolgen um in putativ resistente bzw. anfällige Linien einteilen zu können.

Major-QTL für SBCMV Resistenz wurden in Saatweizen auf den Weizenchromosomen 5DL und 2B identifiziert sowie in Durumweizen auf Chromosomom 2BS. Im Durumweizen wurden weiterhin Minor-QTL auf den Chromosomen 1BL, 3BS, 4AL, 5AS, 5AL, 5BL und 7BL gefunden. Im Roggen wurden ebenfalls QTL auf den zum Weizen homöologen Chromosomen 2R und 7R identifiziert, was möglicherweise ähnliche Resistenzmechanismen in Weizen und Roggen nahelegt. Die genauen Syntäniebeziehungen der Resistenzloci für SBCMV in Roggen und Weizen müssten in weiteren Studien allerdings detaillierter untersucht werden.

Für WSSMV bzw. WYMV wurden im Weizen bisher QTL auf 2DL beschrieben, die im Roggen allerdings nicht nachgewiesen werden konnten. Möglicherweise liegen in Roggen andere Resistenzmechanismen als in Weizen vor. Auch für WSSMV sollten die Ergebnisse wie für SBCMV weiter validiert werden.

## **2. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises**

Den Zwischenberichten und dem Schlussbericht wurden zahlenmäßige Nachweise in tabellarischer Form beigelegt. Durch die Bereitstellung der Sachmittel konnten umfangreiche Markeranalysen mit SSR- und AFLP-Markern in spaltenden Roggenpopulationen durchgeführt werden, die zur Kartierung von QTL für Resistenz gegenüber den bodenbürtigen Viren SBCMV und WSSMV führten.

## **3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit**

Die geleisteten Arbeiten waren für die Erfüllung der gestellten Aufgaben notwendig und angemessen und die Zielstellungen des Forschungsvorhabens wurden erfolgreich erreicht.

## **4. Voraussichtlicher Nutzen**

Die Ergebnisse des Forschungsprojekts stärken die Wettbewerbsfähigkeit der deutschen Roggenzüchtung. Da es mit Ausnahme der Resistenzzüchtung keine erfolgversprechende Bekämpfungsstrategie gegen bodenbürtige Viren gibt, wird durch die Einlagerung spezifischer Resistenz der Anbau dieser Getreidearten nachhaltig gesichert. Im Rahmen des Vorhabens wurden Resistenzdonoren aus genetischen Ressourcen evaluiert, die in den Zuchtprozess Eingang fanden und zur Entwicklung virusresistenter Roggensorten beitragen können. In drei Kartierungspopulationen wurden Resistenzen aus Elitematerial und genetischen Ressourcen charakterisiert und Genomregionen mit Einfluss auf die Virusresistenz lokalisiert. Über molekulare Marker können diese QTL effizient in Zuchtmaterial eingelagert werden.

## **5. Bekanntgabe von durch andere Stellen erzielten Fortschritts auf dem Gebiet des Vorhabens**

Während der Laufzeit des Forschungsvorhabens wurden von dritter Seite keine Ergebnisse zur Kartierung von Virusresistenzgenen in Roggen bekannt, die für die Durchführung des Vorhabens relevant waren.

## **6. Veröffentlichung von Vorhabenergebnissen**

Ergebnisse des Projekts wurden auf verschiedenen nationalen Tagungen in Postern bzw. Vorträgen präsentiert.

U. Kastirr, E. Bauer, B. Schmiedchen und P. Wilde (2010): Applying of multiplex RT-PCR analysis for the Charakterisierung von Resistenzquellen gegen das Soil-borne cereal mosaic virus - SBCMV und das Wheat spindle streak mosaic virus - WSSMV in genetischen Ressourcen des Roggens sowie deren Nutzung für die Züchtung virusresistenter Sorten. BLE Innovationstage, 6. - 7. Oktober 2010, Berlin

Ute Kastirr, Eva Bauer, Brigitta Schmiedchen, Christof Pietsch, Viktor Korzun und Peer Wilde (2011) : Applying of multiplex RT-PCR analysis for the Charakterisierung von Resistenzquellen gegen das Soil-borne cereal mosaic virus - SBCMV und das Wheat spindle streak mosaic virus - WSSMV in genetischen Ressourcen des Roggens sowie deren Nutzung für die Züchtung virusresistenter Sorten. GFP-Jahrestagung 2011, Bonn

Ute Kastirr, Eva Bauer, Brigitta Schmiedchen, Christof Pietsch, Viktor Korzun und Peer Wilde (2011): Resistenz gegen die bodenbürtigen Viren Soil-borne cereal mosaic virus (SBCMV) und Wheat spindle streak mosaic virus (WSSMV) bei Winterroggen. Bericht über die gemeinsamen Vortragstagung der AG Krankheitsbekämpfung und Resistenzzüchtung in Getreide, Hülsenfrüchten und Raps und der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft, „Fortschritte in der Krankheitsbekämpfung und Resistenzzüchtung bei landwirtschaftlichen Kulturpflanzen“ am 05./06. Dezember 2011 in Fulda

Ute Kastirr, Eva Bauer, Brigitta Schmiedchen, Christof Pietsch, Viktor Korzun and Peer Wilde (2012): Rye with resistance to soil-borne viruses. Posterbeitrag, "Breeding crops for sustainable agricultural production", February 28 - March 1, 2012, GPZ-Tagung, Gießen

## **III. Erfolgskontrollbericht**

### **1. Beitrag zu den förderpolitischen Zielen**

Dieses Forschungsvorhaben ist von großer Bedeutung für die Erschließung des Wertschöpfungspotentials in der Agrarwirtschaft durch die Sicherung der Roggenproduktion in den traditionellen Anbaugebieten und fördert die Innovation im Bereich Pflanzenzüchtung. Der Roggen ist Bestandteil abwechslungsreicher Fruchtfolgen und liefert einen wichtigen Beitrag zur heimischen Erzeugung von Lebens- und Futtermitteln. Diese Fruchtart hat ein hohes Potential für die ressourcenschonende Nutzung als nachwachsender Rohstoff und für die Erzeugung von Bioenergie unter Low-Input-Bedingungen. Das Vorhaben leistet einen Beitrag zum Zuchtfortschritt im Rahmen der Schaffung von gesunden Kulturpflanzen im Getreideanbau.

Es wurden Resistenzdonoren evaluiert, die zur Entwicklung von Sorten mit verbesserter Widerstandsfähigkeit gegen bodenbürtige Virose beitragen und somit zur Absicherung der Erträge und der Qualität des Kulturroggens. Durch Bereitstellung von molekularen Markern



für die markergestützte Selektion ist die effiziente Einlagerung der Resistenzen aus genetischen Ressourcen in Elitematerial möglich. Die Erschließung des Merkmals Virusresistenz in dieser Kulturart trägt wesentlich zum Wettbewerbsvorteil der Roggenzüchter auf dem nationalen und internationalen Markt bei. Neben der Stärkung der Wettbewerbsfähigkeit der Projektpartner auf wissenschaftlichem Gebiet und in der züchterischen Praxis wird der Transfer von aktuellem Wissen zur Virusresistenz in den unmittelbaren Zuchtprozess beschleunigt, die Innovationsfähigkeit durch die Bereitstellung neuer Züchtungstechnologien gesteigert und es werden die Marktchancen für die Roggenverwertung verbessert. Die Einbeziehung genetischer Ressourcen des Roggens in die Sortenzüchtung erweitert die genetische Diversität des Zuchtmaterials.

## **2. Wissenschaftlich-technische Ergebnisse**

Für die Lokalisierung von QTL für Resistenz gegenüber SBCMV und WSSMV standen drei Kartierungspopulationen mit jeweils 100 Nachkommen zur Verfügung. Diese Populationen wurden in aufsteigenden Generationen von F3 bis F6 in Feldversuchen in den Jahren 2008 bis 2011 an verschiedenen Standorten phänotypisiert. Für die Generationen F3 und F5 wurden partielle genetische Kopplungskarten erstellt, die Basis für die QTL-Analyse waren.

Zusammenfassend lässt sich konstatieren, dass für nahezu alle Konstellationen (Population, Generation, Virus) QTL detektiert werden konnten. Aufgrund teilweise nicht ausreichender Markerabdeckung sollten diese Ergebnisse weiter validiert werden. Dies könnte auch durch selektive Phänotypisierung von Zuchtmaterial erfolgen, das mit den flankierenden Markern genotypisiert und dann für die Phänotypisierung ausgewählt wird. Umgekehrt können durch selektive Genotypisierung die phänotypischen Extreme aus Feldversuchen (resistent, anfällig) ausgewählt und anschließend mit flankierenden Markern genotypisiert werden, um die hier dargestellten Ergebnisse zu validieren. Dabei sollte der Vergleich mit den Allelen der jeweiligen Resistenzdonoren erfolgen um in putativ resistente bzw. anfällige Linien einteilen zu können.

Detaillierte Ergebnisse sind in Teil II dieses Berichts angegeben. QTL für SBCMV Resistenz wurden in Saatweizen auf den Weizenchromosomen 5DL und 2B identifiziert sowie in Durumweizen auf Chromosom 2BS. Im Durumweizen wurden weiterhin Minor-QTL auf den Chromosomen 1BL, 3BS, 4AL, 5AS, 5AL, 5BL und 7BL gefunden. Im Roggen wurden ebenfalls QTL auf den zum Weizen homöologen Chromosomen 2R und 7R identifiziert, was möglicherweise ähnliche Resistenzmechanismen in Weizen und Roggen nahelegt. Die genauen Syntäniebeziehungen der Resistenzloci für SBCMV in Roggen und Weizen müssten in weiteren Studien allerdings detaillierter untersucht werden.

Für WSSMV bzw. WYMV wurden im Weizen bisher QTL auf 2DL beschrieben, die im Roggen allerdings nicht nachgewiesen werden konnten. Auch für WSSMV sollten die Ergebnisse wie für SBCMV weiter validiert werden.

## **3. Fortschreibung des Verwertungsplans**

Die züchterische Innovation besteht in der Bereitstellung von Ausgangsmaterial mit Resistenz gegen bodenbürtige Viren. Bisher sind keine Sorten mit diesem Merkmal in der beschreibenden Sortenliste eingetragen. Das Projekt stärkt die Wettbewerbsfähigkeit der deutschen Roggenzüchtung. Da es mit Ausnahme der Resistenzzüchtung keine

erfolgsversprechende Bekämpfungsstrategie gegen bodenbürtige Viren gibt, wird durch die Einlagerung spezifischer Resistenz der Anbau dieser Getreidearten nachhaltig gesichert.

Die beiden Forschungsinstitute werden ihre Stellung in der Resistenzforschung und Genomanalyse bei Roggen ausbauen können und durch die Verknüpfung mit molekularen Techniken diese Technologien in die Praxis einführen. Beide Forschungseinrichtungen sind als kompetente Partner für weitere Kooperationen, auch im europäischen Raum, interessant und haben damit bessere Chancen für weitere Anschlussaufträge.

#### **4. Arbeiten, die zu keiner Lösung führten**

Die im Teilprojekt 3 gestellten Ziele wurden mit entsprechenden Lösungsansätzen bearbeitet. Die ursprünglich vorgesehene Bulk Segregant Analyse kam nicht zum Einsatz, da der Vererbungsmodus der Resistenzen dies nicht zuließ. Stattdessen wurde auf einen gesamtgenomischen Ansatz ausgewichen zur Kartierung von QTL für Virusresistenz. Für eine vollständige Genomabdeckung müssten insgesamt noch mehr Marker zum Einsatz kommen.

#### **5. Präsentationsmöglichkeiten**

Nach der Zusammenfassung der Ergebnisse aller drei Teilprojekte sind entsprechende Veröffentlichungen in Fachzeitschriften geplant.

#### **6. Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung**

Die Kosten- und Zeitplanung wurden eingehalten. Durch die dankensweise gewährte Verlängerung der Projektlaufzeit konnten die genetischen Kopplungskarten vervollständigt und damit eine bessere Genomabdeckung erzielt werden. Da im letzten Versuchsjahr von den Projektpartnern JKI und KWS-LOCHOW GMBH weitere phänotypische Daten erhoben wurden konnten auch diese noch in die QTL-Analyse zur Identifizierung von Genomregionen für Resistenz gegenüber bodenbürtigen Viren einbezogen werden.

### **IV. Schlussbestimmungen**

#### *Kurzfassung zum Teilprojekt 3 – Molekulargenetische Identifizierung der Virusresistenz und Erstellung molekularer Marker für die Resistenzzüchtung*

Im Rahmen von Teilprojekt 3 wurden vom Wissenschaftspartner der TUM molekulare Kopplungskarten für drei Kartierungspopulationen mit unterschiedlichen Resistenzdonoren in den Generation F3 bzw. F5 erstellt. Als molekulare Marker wurden sowohl SSR- als auch AFLP- und SNP-Marker eingesetzt. Die genetischen Karten wurden zusammen mit phänotypischen Daten, die von den Partnern JKI und KWS LOCHOW zur Verfügung gestellt wurden für Lokalisierung von QTL für Resistenz gegen SBCMV bzw. WSSMV eingesetzt. Für nahezu alle Konstellationen (Population, Generation, Virus) konnten QTL detektiert werden. Die identifizierten flankierenden Marker können für die Selektion in Zuchtmaterial eingesetzt werden. Aufgrund teilweise nicht ausreichender Markerabdeckung sollten diese Ergebnisse weiter validiert werden. Für SBCMV Resistenz wurde eine gute Übereinstimmung mit Ergebnissen aus Weizen gefunden. Für WSSMV wurden keine Übereinstimmungen

gefunden, was auf unterschiedliche Resistenzmechanismen in Roggen und Weizen hindeuten könnte.

Summary for subproject 3 – Molecular genetic identification of genomic regions conferring virus resistance and identification of markers for resistance breeding

In subproject 3 the academic partner at TUM has generated molecular linkage maps for three mapping populations with different resistance donors in generations F3 and F5. As molecular markers SSR, AFLP and SNP markers were used. The genetic maps were used together with phenotypic data supplied by partners JKI and KWS LOCHOW for identification of QTL for resistance against SBCMV and WSSMV. For almost all combinations (population, generation, virus) QTL could be detected. The flanking markers can now be used for selection in breeding programs. Due to the fact that the genetic maps were only partial maps with sometimes insufficient genome coverage, the results should be validated in further studies. For SBCMV resistance there was a good agreement with results from wheat. For WSSMV no agreement with wheat was found, which could indicate different resistance mechanisms in rye and wheat.

**Literatur:**

- Bass C, Hendley R, Adams MJ, Hammond-Kosack KE, Kanyuka K (2006) The *Sbm1* locus conferring resistance to Soil-borne cereal mosaic virus maps to a gene-rich region on 5DL in wheat. *Genome* 49:1140-1148
- Börner A, Freytag U, Cöster H: Genetische Ressourcen und Prebreeding, Vortr. Pflanzenzüchtung 53, 2002, 96-99
- Haseneyer G, Schmutzer T, Seidel M, Zhou R, Mascher M, Schon C-C, Taudien S, Scholz U, Stein N, Mayer K, Bauer E (2011) From RNA-seq to large-scale genotyping - genomics resources for rye (*Secale cereale* L.). *BMC Plant Biology* 11:131
- Kanyuka K, Lovell D, Mitrofanova OP, Hammond-Kosack K, Adams MJ: A controlled environment test for resistance to Soil-borne cereal mosaic virus and its use to determine the mode of inheritance of the resistance in the UK wheat variety Cadenza, and to screen diverse *Triticum monococcum* genotypes for potential sources of improved disease resistance. *Plant Pathology* 53: 2004, 154-160
- Kastirr U, Rabenstein F, Kühne T: Evaluierung von Roggen und Weizen auf Resistenz gegen das Soil-borne cereal mosaic virus (SBCMV) unter kontrollierten Bedingungen. Vortr. Pflanzenzüchtung 54, 2002a, 263–266
- Kastirr U, Wortmann H, Schmiedchen B, Rabenstein F, Kühne T: Occurrence of soil-borne viruses in rye and prospects for the improving of resistance to these viruses. 8th International EUCARPIA Symposium on Rye Breeding and Genetics, Groß Lüsewitz, Germany, Book of Abstracts, 2006, p. 34
- Khan AA, Bergstrom GC, Nelson JC, Sorrells ME: Identification of RFLP markers for resistance to wheat spindle streak mosaic virus (WSSMV) disease. *Genome* 43, 2000, 477–482
- Michelmore RW, Paran I, Kesseli RV (1991) Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using bulked segregant analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88:9828-9832
- Perovic D, Weyen J, Schondelmaier J, Förster J, Devaux P, Hariri D, Feuerhelm D, Stein N, Graner A, Ordon F: Linkage mapping and transcriptional profiling of resistance to soil-borne viruses in hexaploid wheat (*Triticum vulgare* sp. *aestivum*) *Parasitic* 61 (1), 2005, 79-83

- Perovic D, Förster J, Schondelmaier J, Devaux P, Hariri D, Guilleroux M, Kastirr , Ordon F: Aufklärung der Genetik und molekulare Kartierung der Resistenz des Weizens gegen Soil-borne cereal mosaic virus (SBCMV) Votr. Pflanzenzüchtung 68, 2006a, P 12
- Perovic D, Weyen J, Schondelmaier J, Förster J, Devaux P, Hariri D, Guilleroux M, Feuerhelm D, Sholz U, Röder M, Kastirr, Ordon F: Mapping and comparative analysis with rice and barley of Soil-borne cereal mosaic virus (SBCMV) resistance locus in hexaploid wheat. Plant Genetic Conference, Kiel, Germany, 2006b
- Proeseler G, Kastirr U: Untersuchungen zur Wirkung von Fungiziden gegen Polymyxa graminis Led. als Vektor des Gerstengelbmosaik-Virus, Nachrichtenbl. Pflanzenschutz DDR 42, 1988 (6), 116–117
- VanOoijen JW (2006) JoinMap<sup>®</sup> 4, Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations. Kyazma B.V., Wageningen, Netherlands

## Berichtsblatt

|   |   |
|---|---|
| 1. ISBN oder ISSN<br>-  | 2. Berichtsart<br>Schlussbericht  |
| 3a. Titel des Berichts<br>Charakterisierung von Resistenzquellen gegen das Soil-borne cereal mosaic virus - SBCMV und das Wheat spindle streak mosaic virus – WSSMV in genetischen Ressourcen von Roggen sowie deren Nutzung für die Züchtung virusresistenter Sorten<br>Teilprojekt 3: Molekulargenetische Identifizierung der Virusresistenz und Erstellung molekularer Marker für die Resistenzzüchtung  |   |
| 3b. Titel der Publikation<br>-  |   |
| 4a. Autoren des Berichts (Name, Vorname(n))<br>Dr. Bauer, Eva   | 5. Abschlussdatum des Vorhabens<br>31.07.2011   |
|   | 6. Veröffentlichungsdatum<br>März 2012  |
| 4b. Autoren der Publikation (Name, Vorname(n))<br>-   | 7. Form der Publikation<br>Bericht  |
|   | 8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse)<br><br>Technische Universität München<br>Wissenschaftszentrum Weihenstephan<br>Pflanzenzüchtung<br>Emil-Ramann-Str. 4<br>85354 Freising<br><br>Weitere Projektpartner:<br>Julius Kühn-Institut Quedlinburg, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik<br>KWS LOCHOW GMBH, Bergen |
| 13. Fördernde Institution (Name, Adresse)<br><br>Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz<br>Wilhelmstr. 54<br>10117 Berlin  | 9. Ber.Nr. Durchführende Institution<br>-   |
|   | 10. Förderkennzeichen *)<br><b>2814302107</b>   |
|   | 11a. Seitenzahl Bericht<br>20   |
|   | 11b. Seitenzahl Publikation<br>-  |
|   | 12. Literaturangaben<br>13  |
| 16. Zusätzliche Angaben<br>-  | 14. Tabellen<br>11  |
|   | 15. Abbildungen<br>3  |
| 17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)<br>-  |   |
| 18. Kurzfassung<br>Im Rahmen von Teilprojekt 3 wurden vom Wissenschaftspartner der TUM molekulare Kopplungskarten für drei Kartierungspopulationen mit unterschiedlichen Resistenzdonoren in den Generation F3 bzw. F5 erstellt. Als molekulare Marker wurden sowohl SSR- als auch AFLP- und SNP-Marker eingesetzt. Die genetischen Karten wurden zusammen mit phänotypischen Daten, die von Partner KWS LOCHOW zur Verfügung gestellt wurden für Lokalisierung von QTL für Resistenz gegen SBCMV bzw. WSSMV eingesetzt. Für nahezu alle Konstellationen (Population, Generation, Virus) konnten QTL detektiert werden. Aufgrund teilweise nicht ausreichender Markerabdeckung sollten diese Ergebnisse weiter validiert werden. Für SBCMV Resistenz wurde eine gute Übereinstimmung mit Ergebnissen aus Weizen gefunden. Für WSSMV wurden keine Übereinstimmungen gefunden, was auf unterschiedliche Resistenzmechanismen in Roggen und Weizen hindeuten könnte. |   |
| 19. Schlagwörter<br>Roggen, Resistenz, bodenbürtige Viren, SBCMV, WSSMV, QTL-Kartierung   |   |
| 20. Verlag<br>-   | 21. Preis<br>-  |

\*) Auf das Förderkennzeichen des BMELV soll auch in der Veröffentlichung hingewiesen werden.

## Document Control Sheet

|   |  |  |
|---|--|--|
| 1. ISBN or ISSN<br>-  | 2. type of document (e.g. report, publication)<br>Final report |  |
| 3. title<br>Characterization of resistance against soil-born cereal mosaic virus (SBCMV) and wheat spindle streak virus (WSSMV) in genetic resources of rye and their use for breeding of virus resistant varieties<br>Subproject 3: Molecular genetic identification of genomic regions conferring virus resistance and identification of markers for resistance breeding  |  |  |
| 4. author(s) (family name, first name(s))<br>Dr. Bauer, Eva   | 5. end of project<br>31.07.2011                                |  |
|   | 6. publication date<br>March 2012                              |  |
|   | 7. form of publication<br>Report                               |  |
| 8. performing organization(s) (name, address)<br><br>Technische Universität München (TUM)<br>Wissenschaftszentrum Weihenstephan<br>Pflanzenzüchtung<br>Emil-Ramann-Str. 4<br>85354 Freising<br><br>Other project partners:<br>Julius Kühn-Institut Quedlinburg, Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik<br>KWS LOCHOW GMBH, Bergen  | 9. originator's report no.<br>-                                |  |
|   | 10. reference no.<br><b>2814302107</b>                         |  |
|   | 11. no. of pages<br>20   |  |
| 13. sponsoring agency (name, address)<br><br>Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz<br>Wilhelmstr. 54<br>10117 Berlin  | 12. no. of references<br>13                                    |  |
|   | 14. no. of tables<br>11  |  |
|   | 15. no. of figures<br>3  |  |
| 16. supplementary notes<br>-  |  |  |
| 17. presented at (title, place, date)<br>-  |  |  |
| 18. abstract<br>In subproject 3 the academic partner at TUM has generated molecular linkage maps for three mapping populations with different resistance donors in generations F3 and F5. As molecular markers SSR, AFLP and SNP markers were used. The genetic maps were used together with phenotypic data supplied by partner KWS LOCHOW for identification of QTL for resistance against SBCMV and WSSMV. For almost all combinations (population, generation, virus) QTL could be detected. Due to the fact that the genetic maps were only partial maps with sometimes insufficient genome coverage, the results should be validated in further studies. For SBCMV resistance there was a good agreement with results from wheat. For WSSMV no agreement with wheat was found, which could indicate different resistance mechanisms in rye and wheat. |  |  |
| 19. keywords<br>Rye, resistance, soil-born viruses, SBCMV, WSSMV, QTL mapping   |  |  |
| 20. publisher<br>-  | 21. price<br>-   |  |